

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

Кафедра аналітичної, фізичної та колоїдної хімії

ВИПУСКНА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему **«ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ МЕТОДІВ ІДЕНТИФІКАЦІЇ
КОМБІНАЦІЇ АМБРОКСОЛУ ГІДРОХЛОГІДУ ТА N-
АЦЕТИЛЦИСТЕЇНУ У ТВЕРДИХ ЛІКАРСЬКИХ ФОРМАХ»**

Виконала: здобувачка вищої освіти 5 курсу,
групи 118В1А

напряму підготовки 22 «Охорона здоров'я»
спеціальності 226 «Фармація, промислова
фармація»

освітньої програми «Фармація»

Дорожинська Інна Петрівна

Керівники: завідувачка кафедри,

кандидатка хімічних наук,

доцентка Зайцева Галина Миколаївна

Рецензент: докторка біологічних наук,

професорка Мінарченко Валентина Миколаївна

Київ – 2026

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ ТА СКОРОЧЕНЬ.....	3
ВСТУП	4
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	7
1.1. Фармацевтичне обґрунтування застосування муколітичних засобів та їх комбінацій у твердих лікарських формах	7
1.2. Особливості та вимоги до аналітичного контролю комбінованих твердих лікарських засобів	15
1.3. Аналітичні методи, що застосовуються для аналізу комбінованих твердих лікарських форм	18
РОЗДІЛ 2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	21
2.1. Вибір об'єкту дослідження	21
2.2. Матеріали та методи дослідження	23
2.3. Методики дослідження.....	25
2.3.1. Методи ідентифікації амброксолу гідрохлориду.....	25
2.3.2. Методи ідентифікації N-ацетилцистеїну	27
2.3.3. Методи ідентифікації комбінації амброксолу гідрохлориду та N-ацетилцистеїну	29
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ.....	36
3.1 Порівняльний аналіз валідаційних характеристик методик одночасної ідентифікації амброксолу гідрохлориду та N-ацетилцистеїну у твердих лікарських формах	37
3.2 Порівняльний аналіз методів одночасної ідентифікації амброксолу гідрохлориду та N-ацетилцистеїну у твердих лікарських формах	38
3.3. Переваги та обмеження методів одночасної ідентифікації амброксолу гідрохлориду та N-ацетилцистеїну у таблетованих формах.....	41
ВИСНОВКИ.....	44
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	45
ДОДАТОК	49
SUMMARY	50

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ ТА СКОРОЧЕНЬ

АФІ – активний фармацевтичний інгредієнт

ДФУ – Державна фармакопея України

ТШХ – тонкошарова хроматографія

ВЕРХ (HPLC) – високоефективна рідина хроматографія

RSD – коефіцієнт варіації

ICH – міжнародна рада з питань гармонізації технічних вимог до реєстрації лікарських засобів для людини

ВСТУП

Актуальність теми. Захворювання дихальної системи, зокрема пневмонія та інші бронхолегеневі патології, залишаються одними з найпоширеніших причин звернення населення за фармацевтичною допомогою в Україні та світі. Висока захворюваність і частота ускладнень зумовлюють значний попит на ефективні лікарські засоби, зокрема муколітичні препарати, що застосовуються як складова комплексної фармакотерапії.

З огляду на багатофакторний характер патогенезу респіраторних захворювань (інфекційний, запальний, оксидативний, секреторний), застосування монотерапії не завжди забезпечує належний терапевтичний ефект. Це зумовлює фармацевтичну доцільність створення та впровадження комбінованих лікарських засобів, які містять декілька активних фармацевтичних інгредієнтів із взаємодоповнювальними механізмами дії.

Комбінація амброксолу гідрохлориду та N-ацетилцистеїну є прикладом раціонального поєднання двох мукоактивних речовин, що забезпечують синергічний муколітичний, мукокінетичний, антиоксидантний і протизапальний ефекти. Широке застосування таких комбінованих препаратів у формі твердих лікарських форм актуалізує питання фармацевтичного аналізу та контролю якості, зокрема розробки й порівняльної оцінки методів ідентифікації кожного активного компонента у складі комбінованого лікарського засобу.

У зв'язку з цим дослідження, спрямовані на порівняльний аналіз методів ідентифікації амброксолу гідрохлориду та N-ацетилцистеїну у твердих лікарських формах, є актуальними та мають важливе значення для забезпечення належної якості, безпеки й ефективності лікарських засобів відповідно до вимог Державної фармакопеї України.

Мета роботи: проведення аналітичного дослідження та порівняльного аналізу існуючих методів ідентифікації комбінації амброксолу гідрохлориду та N-ацетилцистеїну з метою визначення найбільш оптимального підходу, придатного

для використання у фармацевтичній аналітиці, зокрема для контролю якості лікарських засобів у твердих формах.

Завдання:

1) Провести аналіз монографій, наведених у Державній Фармакопеї України, а також сучасних наукових публікацій, присвячених методам ідентифікації амброксолу гідрохлориду та N-ацетилцистеїну, з метою узагальнення існуючих підходів до контролю якості цих речовин.

2) Здійснити порівняльне дослідження рекомендованих методик ідентифікації, визначивши їхні переваги, обмеження та аналітичну ефективність при одночасному визначенні амброксолу гідрохлориду та N-ацетилцистеїну в таблетованих лікарських формах.

3) На основі аналізу літературних даних та фармакопейних вимог обґрунтувати вибір і встановити оптимальний метод для одночасної ідентифікації амброксолу гідрохлориду та N-ацетилцистеїну у твердих лікарських формах, придатний для впровадження у практику фармацевтичного аналізу.

Методи дослідження: бібліографічний аналіз, метод узагальнення, аналітико-порівняльний метод та логічний аналіз.

Новизна та значення одержаних результатів полягає у проведенні системного аналізу та порівнянні сучасних методів ідентифікації комбінації амброксолу гідрохлориду та N-ацетилцистеїну, спрямованого на визначення оптимального аналітичного підходу, який може бути використаний у подальшій практиці рутинного контролю якості у центральних лабораторіях та науково-дослідних установах.

Апробація результатів дослідження: : за результатами роботи було опубліковано 1 тезу у збірнику 12-тої Міжнародної науково-практичної конференції “Global trends in science and education”, 15-17 грудня 2025 року, Київ, Україна (Додаток 1).

Публікації: : Дорожинська І. П., Зайцева Г. М. Порівняльний аналіз методів ідентифікації комбінації амброксолу гідрохлогу та N-ацетилцистеїну у твердих лікарських формах // Тези доповідей 12-тої Міжнародної науково-практичної конференції “Global trends in science and education”, 15-17 грудня 2025 року, Київ, Україна. С.274-277.

Структура роботи: кваліфікаційна робота викладена на 51 сторінці друкованого тексту, містить 4 рисунки, 3 таблиці і складається з вступу, трьох розділів, списку використаних джерел (36 джерел), 1 додатку та анотації.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Фармацевтичне обґрунтування застосування муколітичних засобів та їх комбінацій у твердих лікарських формах

Захворювання дихальної системи як об'єкт фармацевтичного забезпечення. Захворювання дихальної системи, зокрема пневмонія, залишаються одними з найпоширеніших патологій у світі та в Україні. Вони характеризуються високою захворюваністю, ризиком ускладнень, зниженням якості життя пацієнтів та значним соціально-економічним тягарем.

Оскільки респіраторні захворювання мають багатофакторний характер (інфекційний, запальний, оксидативний, секреторний), монотерапія часто є недостатньо ефективною.

Комбінації препаратів забезпечують синергічну дію – поєднання муколітичного, антиоксидантного, протизапального та відхаркувального ефектів.

Основні підходи до фармакотерапії пневмонії. Основним методом лікування пневмонії є застосування антибіотиків, вибір яких здійснює лікар. Пацієнти, що мають алергію або раніше переносили небажані реакції на антибактеріальні препарати, обов'язково повинні повідомити про це свого лікаря. При лікуванні в домашніх умовах, зазвичай антибіотики призначаються перорально, за винятком окремих тяжких випадків.

У стаціонарі спосіб введення препарату (перорально, внутрішньовенно чи внутрішньом'язово) визначається станом хворого. Стандартна тривалість антибактеріальної терапії становить близько 7 днів, однак за підозри на інфікування атипovими мікроорганізмами або при тяжкому перебігу захворювання курс лікування може бути продовжений до 14-21 дня.

Антибіотики необхідно приймати строго за призначенням лікаря, дотримуючись однакових інтервалів між дозами, бажано в один і той самий час доби. Інформацію щодо прийому препарату – до, під час чи після їжі – слід

перевіряти в інструкції, оскільки ці рекомендації залежать від конкретного лікарського засобу.

Оскільки антибіотики можуть порушувати природну мікрофлору кишечника, під час лікування доцільно приймати пробіотичні препарати, які допомагають відновити баланс корисних бактерій.

Найпоширенішими побічними реакціями антибіотиків є розлади шлунково-кишкового тракту: діарея, біль у животі, нудота чи блювання. Також можливі алергічні прояви у вигляді висипу. При появі побічних ефектів необхідно звернутися до лікаря, який оцінить ситуацію і, за потреби, скоригує лікування. Якщо ж виникають небезпечні симптоми – різка задишка, запаморочення, втрата свідомості, набряк, слабкість або утруднене дихання, – слід негайно викликати швидку допомогу, оскільки це можуть бути ознаки тяжкої алергічної реакції [1].

У зв'язку з цим важливе значення має допоміжна фармакотерапія, зокрема застосування муколітичних лікарських засобів.

Роль муколітичної терапії в комплексному лікуванні захворювань дихальних шляхів. У разі наявності густого, важковідокремлюваного мокротиння доцільно призначати муколітичні засоби (ацетилцистеїн, карбоцистеїн, амброксол) перорально, а також проводити інгаляції препаратів, що зменшують в'язкість мокротиння та полегшують його відходження (3% гіпертонічний розчин натрію хлориду, розчин натрію гідрокарбонату). При наявності бронхообструкції можливе застосування бронходилататорів у небулайзерній формі. Для окремих пацієнтів ефективними можуть бути постуральний дренаж і стимулювальна спірометрія (періодичне виконання глибоких вдихів) [2].

Фармацевтична характеристика муколітичних активних фармацевтичних інгредієнтів.

Карбоцистеїн: механізм дії та обмеження застосування. Карбоцистеїн проявляє як мукорегулюючу, так і муколітичну дію. Його ефект зумовлений активацією сілової трансферази – ферменту келихоподібних клітин слизової

оболонки бронхів, що бере участь у формуванні складу бронхіального секрету. Препарат нормалізує співвідношення між кислими та нейтральними сіаломуцинами, зменшуючи вміст нейтральних глікопептидів і збільшуючи кількість гідроксисіалоглікопептидів. Це сприяє відновленню оптимальної в'язкості й еластичності слизу.

Під дією карбоцистеїну активізується регенерація слизової оболонки бронхів, відновлюється її структура, нормалізується кількість келихоподібних клітин, що призводить до зменшення утворення слизу. Препарат знижує в'язкість бронхіального секрету й виділень із придаткових пазух носа, полегшує відкашлювання мокротиння, зменшує кашель і покращує мукоциліарний кліренс завдяки стимуляції рухливості війчастих клітин. Крім того, він відновлює місцевий імунний захист шляхом підвищення секреції імуноглобуліну А.

Дія карбоцистеїну поширюється на всі відділи дихальних шляхів – як верхні, так і нижні, а також на придаткові пазухи носа, евстахієву трубу та середнє вухо. Водночас препарат може провокувати бронхоспазм, тому його не рекомендують пацієнтам із кашлем, що супроводжується бронхообструкцією. Крім того, він малоефективний при аерозольному застосуванні та може подразнювати слизову оболонку шлунка через високу кислотність ($\text{pH} \approx 3,0$), що потребує врахування під час вибору лікарської форми.

Карбоцистеїн не слід поєднувати з препаратами, які знижують секрецію бронхіального слизу, у випадках недостатнього утворення мокротиння, а також у пацієнтів, схильних до закрєпів [3, 4].

Амброксолу гідрохлорид як активний фармацевтичний інгредієнт. Амброксол є «золотим стандартом» муколітичної терапії у світовій практиці завдяки комплексному механізму дії та широкому спектру фармакологічних ефектів. Це муколітик нового покоління – активний метаболіт бромгексину, який забезпечує виражений відхаркувальний ефект. Його дія базується на розрідженні бронхіального секрету через розщеплення кислих мукополісахаридів і ДНК, а

також активації руху війок миготливого епітелію, що сприяє відновленню мукоциліарного транспорту.

Амброксол нормалізує роботу серозних і слизових залоз бронхів, зменшує кількість кіст, підвищує продукцію серозного компоненту секрету, тим самим покращуючи його якість. Він стимулює активність війчастого епітелію, відновлюючи ефективність биття війок, порушену прозапальними цитокінами, такими як TNF та інтерферон-гамма.

Препарат проявляє протизапальні властивості, зменшуючи продукцію цитокінів IL-1 і TNF у дозозалежний спосіб, що робить його ефект подібним до дії глюкокортикоїдів. Амброксол пригнічує активність фосфоліпази A2 – одного з ключових ферментів запалення, а також підвищує опсонізацію, сприяючи ефективнішому фагоцитозу в легенях.

Важливою особливістю є здатність амброксолу стимулювати синтез і секрецію сурфактанту в альвеолоцитах II типу, що підтримує стабільність альвеол, покращує газообмін і зменшує набряк. При вірусних інфекціях препарат підвищує продукцію сурфактанту майже вдвічі, що сприяє зниженню вірусного навантаження.

Крім того, амброксол має імуномодулюючі властивості: підвищує секрецію IgA та IgM, активує тканинні макрофаги, зменшує продукцію прозапальних медіаторів, тим самим підтримуючи місцевий імунітет дихальних шляхів. Завдяки антиоксидантній дії препарат нейтралізує вільні радикали, захищаючи клітини дихальної системи від ушкодження.

Поєднання амброксолу з антибіотиками підсилює проникнення останніх у слизову бронхів і бронхіальний секрет, підвищуючи ефективність антибактеріальної терапії. Важливо, що амброксол не викликає бронхообструкції, а навпаки – сприяє покращенню функції зовнішнього дихання та зниженню гіпоксемії у пацієнтів із обструктивними захворюваннями легень [3, 5, 6].

N-ацетилцистеїн як активний фармацевтичний інгредієнт. Ацетилцистеїн належить до групи муколітичних засобів прямої дії, механізм яких полягає у розщепленні молекулярних зв'язків слизу. Сульфгідрильні групи в структурі сполуки руйнують дисульфідні містки між ланцюгами кислих мукополісахаридів, що призводить до деполімеризації макромолекул. У результаті зменшується в'язкість і адгезивність мокротиння, полегшується його евакуація під час кашлю. Очищення бронхіального дерева сприяє відновленню мукоциліарного кліренсу та зниженню запальних проявів у слизовій оболонці бронхів.

Додатково ацетилцистеїн стимулює секреторну активність мукозних клітин, виділення яких здатне до розчинення гною, фібрину та кров'яних згустків, що забезпечує розрідження секрету незалежно від його характеру – слизового чи гнійного. Це особливо важливо при бактеріальних інфекціях, коли необхідно швидко зменшити густоту мокротиння з гнійними включеннями, запобігаючи поширенню інфекції.

Препарат також виявляє антиоксидантні властивості, зумовлені здатністю його сульфгідрильних груп зв'язувати та нейтралізувати вільні радикали. Такий ефект забезпечує додатковий захист клітин дихальної системи від токсичного впливу продуктів запалення, ендогенних і екзогенних оксидантів. Крім того, ацетилцистеїн стимулює синтез глутатіону, який є ключовим компонентом антиоксидантної системи та бере участь у процесах хімічної детоксикації. Завдяки цій властивості препарат застосовують не лише при захворюваннях органів дихання, а й у випадках гострих отруєнь парацетамолом, фенолами чи альдегідами.

Важливим аспектом є здатність *N*-ацетилцистеїну руйнувати бактеріальні біоплівки, знижувати адгезію мікроорганізмів до слизової та порушувати синтез позаклітинних полісахаридів, що формують структуру біоплівок. Поєднання ацетилцистеїну з антибіотиками підвищує їх ефективність, сприяючи гальмуванню росту мікробних спільнот уже через 24-72 години терапії.

Дослідження також показують, що під впливом препарату зменшується кількість апоптотичних клітин, що може мати цитопротекторне значення.

У педіатричній практиці описано ризик збільшення об'єму бронхіального секрету при використанні муколітиків, що теоретично може призвести до розвитку так званого «синдрому заболочування» – застою мокротиння з порушенням дренажної функції легень і вторинним інфікуванням. Проте для ацетилцистеїну така ймовірність є мінімальною, оскільки збільшення кількості мокротиння зазвичай незначне.

Згідно з Кокранівським систематичним оглядом (2013 р.), який аналізував клінічні дослідження ефективності ацетилцистеїну та карбоцистеїну у дітей із гострими респіраторними інфекціями без хронічної патології легень, було доведено скорочення тривалості кашлю та покращення самопочуття пацієнтів. Аналіз понад 30 досліджень за участю понад 2000 дітей підтвердив високий профіль безпеки препаратів. Використання муколітиків із підвищеною обережністю рекомендують лише у дітей віком до двох років, через недосконалість кашльового рефлексу та підвищений ризик застійних явищ у бронхах.

Щоб запобігти розвитку ускладнень, лікар має суворо дотримуватися інструкції, правильно підбирати дозу, режим прийому та поєднувати терапію з постуральним дренажем і дихальною гімнастикою. У дорослих пацієнтів розвиток «заболочування» легень є вкрай рідкісним і зазвичай пов'язаний з первинними порушеннями мукоциліарного кліренсу або нераціональним застосуванням відхаркувальних засобів.

Слід також враховувати, що у пацієнтів з бронхіальною астмою можливий ризик бронхоспазму під дією ацетилцистеїну, особливо за наявності бронхіальної гіперреактивності, тому препарат призначають з обережністю [3, 7, 8].

Комбіновані муколітичні засоби. Особливої уваги заслуговує використання комбінованих муколітичних засобів, які нині представлені широким спектром

лікарських форм. Такі препарати можуть містити не лише кілька мукоактивних компонентів, а й бронхолітики, деконгестанти, антигістамінні, протикашльові, жарознижувальні або антисептичні речовини – як рослинного, так і синтетичного чи мінерального походження. Крім того, на ринку присутні гомеопатичні та фітотерапевтичні засоби, що впливають на бронхіальну секрецію.

На фармацевтичному ринку України з'явився комбінований препарат, що містить ацетилцистеїн та амброксол гідрохлорид – унікальну комбінацію двох мукоактивних речовин із взаємодоповнювальною дією. Кожен компонент підсилює муколітичний і мукокінетичний ефекти іншого, забезпечуючи більш виражений терапевтичний результат.

Фармацевтичне обґрунтування комбінації амброксолу гідрохлориду та N-ацетилцистеїну. Цей препарат має низку плейотропних властивостей: антиоксидантну (нейтралізує вільні радикали), дезінтоксикаційну (підвищує синтез глутатіону), сурфактантзберігаючу (стимулює утворення сурфактанту) та протизапальну (знижує секрецію медіаторів запалення).

Завдяки такому комплексному механізму дії поєднання амброксолу та ацетилцистеїну є патогенетично обґрунтованим у лікуванні гострих і хронічних захворювань дихальних шляхів, що супроводжуються порушенням секреції та евакуації мокротиння. Його застосовують при гострому та хронічному бронхіті, ХОЗЛ, пневмонії, бронхоектатичній хворобі, бронхіальній астмі, муковісцидозі, ларингіті, трахеїті та інших патологіях, пов'язаних із розладами мукоциліарного кліренсу та кашлем [3, 9, 10, 11].

Якщо до порушення мукоциліарного кліренсу приєднується алергічний компонент, тобто виникає поєднання вірусно-бактеріального й алергічного запалення, доцільним є застосування комбінації амброксолу гідрохлориду та лоратадину.

Амброксол гідрохлорид забезпечує муколітичну, мукокінетичну, сурфактантзберігаючу та протизапальну дію, тоді як лоратадин — селективний

блокатор периферичних H1-гістамінових рецепторів тривалої дії, який не має седативного ефекту й не блокує холінорецептори – проявляє виражені протиалергічні властивості.

Таке поєднання ефективно при гострих і хронічних захворюваннях дихальних шляхів, що супроводжуються спастичним або алергічним компонентом, зокрема при гострому та хронічному бронхіті, ХОЗЛ, пневмонії та станах із підвищеною бронхіальною реактивністю.

У оториноларингологічній практиці комбінацію амброксолу з лоратадином застосовують для розрідження секрету та зменшення набряку слизової при риніті (у тому числі алергічному), а також у комплексній терапії синуситів і отитів [3, 12, 13].

Отже, антибіотикотерапія є основним методом лікування пневмонії, однак для досягнення максимальної ефективності лікування її необхідно поєднувати з допоміжною терапією, зокрема із застосуванням муколітичних засобів. Муколітики сприяють розрідженню і виведенню мокротиння, покращують мукоциліарний кліренс, зменшують запалення та забезпечують кращу проникність антибіотиків у бронхіальний секрет.

Особливе значення мають комбіновані муколітичні препарати, які поєднують кілька активних компонентів із взаємодоповнювальною дією. Такі засоби, як комбінації амброксолу з ацетилцистеїном або амброксолу з лоратадином, забезпечують комплексний вплив — муколітичний, протизапальний, антиоксидантний і протиалергічний. Їх використання сприяє швидшому відновленню прохідності дихальних шляхів, зменшенню вираженості кашлю та підвищенню ефективності антибактеріальної терапії.

Таким чином, поєднання антибіотикотерапії з раціональним застосуванням сучасних муколітичних комбінованих препаратів, є патогенетично обґрунтованим підходом, що забезпечує більш швидке одужання та попереджає хронізацію запального процесу.

У зв'язку з цим дослідження, спрямовані на порівняльний аналіз методів ідентифікації амброксолу гідрохлориду та N-ацетилцистеїну у твердих лікарських формах, є актуальними та мають важливе значення для забезпечення належної якості, безпеки й ефективності лікарських засобів відповідно до вимог Державної фармакопеї України.

1.2. Особливості та вимоги до аналітичного контролю комбінованих твердих лікарських засобів

Аналітичний контроль комбінованих твердих лікарських засобів є одним із найбільш складних і водночас критично важливих етапів забезпечення якості фармацевтичної продукції. Складність такого контролю зумовлена одночасною присутністю в одній лікарській формі кількох активних фармацевтичних інгредієнтів, які можуть суттєво відрізнятися за фізико-хімічними властивостями, дозуванням, розчинністю та стабільністю, а також значною часткою допоміжних речовин, характерних саме для твердих форм. У сукупності ці фактори ускладнюють як етап пробопідготовки, так і безпосереднє аналітичне визначення компонентів.

Пробопідготовка для аналізу комбінованих твердих лікарських засобів є ключовим і водночас найбільш уразливим етапом аналітичного процесу. Неоднорідність таблетки або капсули, можливе нерівномірне розподілення активних речовин у масі, а також наявність багатоконпонентної матриці створюють ризик систематичних похибок ще до початку вимірювань. Подрібнення зразка, екстракція активних інгредієнтів, вибір розчинника та режимів ультразвукової чи механічної обробки повинні бути ретельно оптимізовані для забезпечення повного та відтворюваного вилучення кожного компонента без їх деградації чи взаємної інтерференції. Особливої уваги потребують комбінації, у яких активні речовини присутні у значно різних концентраціях, оскільки це

ускладнює одночасне кількісне визначення та підвищує вимоги до чутливості методу [14].

Допоміжні речовини, що застосовуються у твердих лікарських засобах, виконують різні технологічні функції — наповнювачів, зв'язувальних агентів, ковзних речовин, дезінтегрантів, стабілізаторів, барвників і плівкоутворювачів. Лактоза, мікрокристалічна целюлоза, крохмаль, повідон, стеарат магнію, кремнію діоксид та полімерні покриття можуть по-різному взаємодіяти з активними речовинами та розчинниками, впливаючи на ефективність екстракції й чистоту аналітичного сигналу. У процесі пробопідготовки такі компоненти здатні утворювати колоїдні системи, сорбувати АФІ на своїй поверхні або спричиняти підвищену в'язкість розчинів, що ускладнює фільтрацію та призводить до втрат аналітів [15].

Особливої складності набуває аналіз комбінованих твердих лікарських засобів з модифікованим або пролонгованим вивільненням, де використовуються полімерні матриці та багатошарові покриття. Такі допоміжні системи можуть неповністю руйнуватися під час стандартної пробопідготовки, що потребує застосування спеціальних умов екстракції, включно з підбором органічних розчинників, контролем рН, температури та часу обробки. У разі недостатньої оптимізації цих параметрів зростає ризик неповного вилучення активних компонентів або їх деградації, що безпосередньо впливає на точність і відтворюваність результатів аналізу.

Крім того, допоміжні речовини можуть створювати значний фоновий сигнал або викликати матричні ефекти, які знижують селективність і чутливість аналітичних методів. У хроматографічному аналізі це проявляється у вигляді перекриття піків, зміни часу утримування або погіршення симетрії хроматографічних зон. У спектрофотометричних методах допоміжні компоненти можуть поглинати в тій самій ділянці спектра, що й активні речовини,

унеможливлуючи пряме кількісне визначення без додаткових етапів очищення або використання похідних методів аналізу.

Додатковим викликом аналітичного контролю твердих комбінованих лікарських форм є необхідність диференціювати сигнали активних речовин від впливу допоміжних компонентів і можливих продуктів деградації. Це вимагає застосування методів з високою селективністю та роздільною здатністю, а також чіткого підтвердження специфічності методики в умовах реальної матриці препарату. У цьому контексті особливого значення набуває вибір адекватного аналітичного підходу, здатного забезпечити достовірну ідентифікацію та точне кількісне визначення кожного інгредієнта [16].

Вимоги до аналітичного контролю комбінованих твердих лікарських засобів чітко регламентуються міжнародними настановами ІСН (міжнародна рада з питань гармонізації технічних вимог до реєстрації лікарських засобів для людини), зокрема ІСН Q2. Згідно з цими документами, методи аналізу повинні бути валідовані за низкою ключових характеристик, серед яких провідне місце займає специфічність – здатність методу однозначно визначати кожен активний компонент у присутності інших інгредієнтів, домішок та продуктів розкладання. Окрім специфічності, обов'язковими є підтвердження лінійності, точності, прецизійності, меж виявлення та кількісного визначення, а також робастності методики до незначних змін умов аналізу [17].

Таким чином, аналітичний контроль комбінованих твердих лікарських засобів потребує комплексного підходу, що поєднує раціонально спроектовану пробопідготовку, застосування високоселективних методів аналізу та суворе дотримання вимог ІСН. Саме така стратегія дозволяє забезпечити достовірність результатів, відтворюваність аналітичних даних і відповідність готової продукції сучасним міжнародним стандартам якості, що є особливо важливим у контексті зростаючої частки комбінованих препаратів у фармакотерапії.

1.3. Аналітичні методи, що застосовуються для аналізу комбінованих твердих лікарських форм

Комбіновані тверді лікарські форми є складними об'єктами фармацевтичного аналізу, оскільки містять декілька активних фармацевтичних інгредієнтів (АФІ) у поєднанні з великою кількістю допоміжних речовин, які можуть суттєво впливати на перебіг аналітичного процесу. У зв'язку з цим вибір аналітичного методу та, передусім, коректна організація пробопідготовки мають вирішальне значення для отримання достовірних і відтворюваних результатів.

Пробопідготовка твердих лікарських форм є найбільш критичним етапом аналізу, оскільки саме на цьому етапі здійснюється переведення багатокомпонентної твердої матриці у розчин, придатний для подальшого кількісного визначення. Вона, як правило, включає подрібнення зразка, точне зважування, екстракцію АФІ з використанням відповідних розчинників, фільтрацію або центрифугування та, за необхідності, додаткове очищення екстракту. Помилки або недостатня оптимізація цих операцій можуть призводити до неповного вилучення активних речовин, їх деградації або матричних ефектів, що знижує точність аналізу [15, 16].

Найбільш поширеним методом аналізу комбінованих твердих лікарських форм є високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ). Її перевага полягає у високій селективності, здатності розділяти компоненти зі схожими фізико-хімічними властивостями та можливості аналізу складних матриць після відносно простого етапу пробопідготовки. Однак навіть для ВЕРХ необхідним є ретельний підбір умов екстракції, оскільки допоміжні речовини можуть сорбувати АФІ або змінювати склад екстракту, впливаючи на форму піків і відтворюваність результатів [14].

У рутинній практиці також застосовують УФ-спектрофотометрію, яка характеризується простотою виконання та економічною доступністю. Проте для комбінованих твердих лікарських форм її використання значною мірою

ускладнюється перекриттям спектрів поглинання окремих АФІ та впливом допоміжних речовин, що потребує застосування математичних методів обробки даних або попереднього хроматографічного розділення. У таких випадках саме якість пробопідготовки визначає можливість коректного використання спектрофотометричного методу [17].

Тонкошарова хроматографія (ТШХ), у тому числі з денситометричним детектуванням, може використовуватися для ідентифікації та напівкількісного визначення компонентів комбінованих твердих лікарських форм. Водночас пробопідготовка для ТШХ часто потребує додаткового очищення екстрактів, оскільки надлишок допоміжних речовин може погіршувати роздільну здатність та ускладнювати інтерпретацію результатів [16].

Неруйнівні аналітичні методи, що поєднують хемометричні підходи з вібраційною спектроскопією та спектроскопічною візуалізацією, набувають дедалі більшого значення у фармацевтичному аналізі твердих лікарських форм у їх інтактному вигляді. Основною перевагою таких методів є можливість отримання аналітичної інформації без порушення цілісності зразка, що робить їх особливо привабливими як для фармацевтичного контролю якості, так і для експертних та судово-хімічних досліджень.

Для вилучення хімічної інформації про склад і властивості лікарських засобів широко застосовують багатовимірні статистичні моделі, які обробляють дані, отримані за допомогою методів вібраційної спектроскопії, зокрема середньоінфрачервоної, ближньоінфрачервоної та раманівської спектроскопії, а також спектроскопічної візуалізації, відомої як гіперспектральна візуалізація. Поєднання цих підходів дозволяє одночасно аналізувати як хімічний склад, так і просторовий розподіл компонентів у твердих лікарських формах [18].

Таким чином, ефективний аналіз комбінованих твердих лікарських форм можливий лише за умови поєднання сучасних селективних аналітичних методів із

науково обґрунтованою та валідованою пробопідготовкою, адаптованою до складу конкретного лікарського засобу.

РОЗДІЛ 2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

2.1. Вибір об'єкту дослідження

Серед сучасних комбінацій муколітичних препаратів найефективнішою та найпоширенішою вважається комбінація амброксолу гідрохлориду з N-ацетилцистеїном.

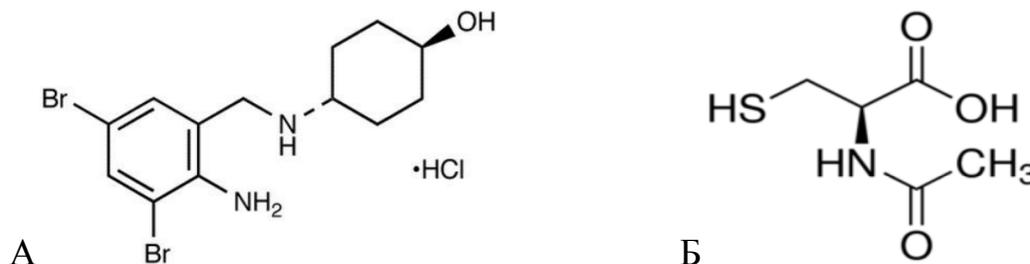


Рис. 2.1. Хімічні формули амброксолу гідрохлориду (А) та N-ацетилцистеїном (Б)

Амброксолу гідрохлорид – відхаркувальний і муколітичний, засіб, що стимулює серозні клітини слизової бронхів, підвищує секрецію серозного компоненту та нормалізує в'язкість мокротиння. Муколітичний ефект препарату зумовлений деполімеризацією та розрідженням мукопротеїнових і мукополісахаридних структур мокротиння. Він також стимулює синтез сурфактанту, що сприяє полегшенню виведення слизу з дихальних шляхів [5, 19].

Для дорослих амброксол у таблетованій формі призначають у дозі 30 мг по 1 таблетці 2–3 рази на добу (загальна добова доза – 60-90 мг). Після покращення стану добову дозу можна зменшити до 1 таблетки 2 рази на добу (60 мг/добу). Тривалість курсу лікування становить зазвичай 5-10 днів при гострих захворюваннях, при хронічних – за рекомендацією лікаря [5].

Амброксол гідрохлорид – це АФІ синтетичного походження. Має вигляд білого або жовтуватого кристалічного порошку, помірно розчинний у воді, розчинний в метанолі, практично нерозчинний в метиленхлориді [19].

N-Ацетилцистеїн – муколітичний і відхаркувальний засіб, який завдяки вільній сульфгідрильній групі розриває бісульфідні зв'язки мукополісахаридів,

знижуючи в'язкість бронхіального секрету та покращуючи мукоциліарний кліренс. Розріджуючи мокротиння та збільшуючи його об'єм, полегшує його виділення, сприяє відхаркуванню, зменшує прояви запалення [7, 20].

Для дорослих ацетилцистеїн у таблетках (шипучих або звичайних) призначають у таких дозах: по 200 мг 2-3 рази на добу або 600 мг 1 раз на добу. Добова доза складає від 400 до 600 мг. Тривалість лікування становить при гострих захворюваннях – 5-7 днів, при хронічних захворюваннях дихальних шляхів – триваліше, за рекомендацією лікаря [7].

N-Ацетилцистеїн – це АФІ природного та синтетичного походження. Має вигляд білого кристалічного порошку або безбарвних кристалів зі слабким специфічним запахом, легкорозчинний у воді і спирті, малорозчинний в ефірі, практично нерозчинний у метиленхлориді [20].

Комбінацію амброксолу гідрохлориду та ацетилцистеїну в таблетках дорослим зазвичай призначають у таких дозах: по 1 таблетці (амброксол 30 мг + ацетилцистеїн 200 мг) 2-3 рази на добу. Тривалість лікування становить зазвичай 5-7 днів при гострих захворюваннях, при хронічних — курс може бути довшим за рекомендацією лікаря [9].

Використання комбінованого препарату амброксолу гідрохлориду та ацетилцистеїну має низку суттєвих переваг порівняно з окремим застосуванням кожного з компонентів.

- Синергічна дія компонентів. Амброксол і ацетилцистеїн посилюють ефект один одного: ацетилцистеїн розриває дисульфідні зв'язки в слизу, знижуючи його в'язкість, тоді як амброксол стимулює секрецію серозного компоненту й активізує мукоциліарний кліренс. Це забезпечує більш ефективне очищення бронхів.

- Подвійний муколітичний та мукокінетичний ефект. Завдяки різним механізмам дії препарату досягається швидке розрідження мокротиння і

покращення його відходження, що сприяє відновленню дренажної функції дихальних шляхів.

- Антиоксидантний та протизапальний ефекти. Ацетилцистеїн нейтралізує вільні радикали і підвищує рівень глутатіону, а амброксол пригнічує вивільнення медіаторів запалення. Це сприяє зменшенню запального процесу в бронхах і покращенню загального самопочуття.

- Підтримка синтезу сурфактанту. Амброксол стимулює утворення сурфактанту, що запобігає спадінню альвеол і покращує газообмін у легенях.

- Зручність і підвищена прихильність до лікування. Поєднання двох активних речовин в одній таблетці зменшує кількість прийомів ліків, що полегшує дотримання схеми лікування пацієнтом [3].

Отже, комбінований препарат амброксолу та ацетилцистеїну забезпечує багатонаправлену терапевтичну дію, поєднуючи муколітичний, антиоксидантний, протизапальний і сурфактантзберігаючий ефекти, що робить його високоефективним засобом у комплексному лікуванні захворювань дихальних шляхів.

2.2. Матеріали та методи дослідження

У процесі виконання дослідження, присвяченого порівняльному аналізу методів ідентифікації комбінації амброксолу гідрохлориду та ацетилцистеїну, було застосовано низку теоретичних методів наукового пізнання, зокрема: бібліографічний аналіз, аналітико-порівняльний метод, метод узагальнення та логічний аналіз. Застосування цих методів забезпечує комплексний і системний підхід до вивчення досліджуваної проблеми, дозволяє глибоко проаналізувати наявні наукові джерела, оцінити ефективність різних підходів і сформулювати обґрунтовані наукові висновки.

Бібліографічний метод полягає у цілеспрямованому пошуку, доборі, критичному аналізі та систематизації наукових джерел, що стосуються теми

дослідження. Його застосування дає змогу узагальнити наявні теоретичні та практичні знання з питань ідентифікації комбінованих лікарських засобів, спираючись на наукові публікації, монографії, нормативно-правові документи, фармакопейні статті та аналітичні звіти [21].

Аналітико-порівняльний метод дозволяє провести зіставлення характеристик і принципів різних методів аналізу комбінації амброксолу гідрохлориду та ацетилцистеїну. Завдяки цьому можна визначити переваги, недоліки та межі застосування кожного з підходів, що сприяє вибору оптимальних методик для подальшого використання у фармацевтичній практиці [22].

Метод узагальнення застосовується для систематизації отриманих результатів, об'єднання окремих фактів та висновків у цілісну теоретичну концепцію. Це дозволяє виявити спільні закономірності й тенденції у розвитку сучасних аналітичних методів, а також сформулювати наукові положення, що мають практичне значення для фармацевтичного аналізу [23].

Метод логічного аналізу забезпечує глибоке вивчення взаємозв'язків між окремими теоретичними положеннями, дозволяє виявити закономірності, узгодженість і можливі суперечності в існуючих наукових підходах. Застосування цього методу сприяє обґрунтуванню вибору найбільш ефективних методів ідентифікації та оцінки якості комбінованих лікарських засобів [24].

Отже, використання комплексу теоретичних методів забезпечує наукову цілісність і достовірність проведеного дослідження. Їх поєднання дозволяє не лише систематизувати сучасні дані щодо аналітичних методів, але й створити міцне теоретичне підґрунтя для подальших експериментальних та практичних досліджень у галузі фармацевтичного аналізу комбінованих препаратів.

2.3. Методики дослідження

2.3.1. Методи ідентифікації амброксолу гідрохлориду

Для ідентифікації амброксолу гідрохлориду можуть бути використані такі методи, як спектрофотометрія, колориметрія, високоефективна рідинна хроматографія, високоефективна тонкошарова хроматографія.

За фармакопеею України ідентифікація амброксолу гідрохлориду визначається декількома методами:

1) УФ-спектрофотометрія. Ультрафіолетовий спектр поглинання випробованого розчину в області від 200 нм до 350 нм повинен мати два максимуми – за довжин хвиль 245 нм і 310 нм. Відношення оптичної густини в максимумі за довжини хвилі 245 нм до оптичної густини в максимумі за довжини хвилі 310 нм має бути від 3,2 до 3,4.

2) Тонкошарова хроматографія. Використовується ТШХ пластина покрита шаром силікагелю F₂₅₄. Рухома фаза: розчин аміаку концентрований- 1-пропанол- етилацетат- гексан (1:10:20:70). Об'єм проби: 10 мкл (100 мкг) випробовуваного розчину та 10 мкл (100 мкг) розчину порівняння. Відстань, що має пройти рухома фаза: 2/3 довжини пластини. Висушують пластину на повітрі. Виявлення відбувається у УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм. На хроматограмі випробовуваного розчину має виявлятися основна пляма на рівні основної плями на хроматограмі розчину порівняння, відповідній за розміром [25].

У науковій літературі описано розробку простої, селективної, точної методики високоефективної тонкошарової хроматографії для аналізу амброксолу гідрохлориду як у вигляді субстанції, так і у складі лікарських форм. У дослідженні використано алюмінієві пластинки, попередньо покриті силікагелем 60 F₂₅₄, як стаціонарну фазу. Рухому фазу становила суміш метанолу та триетиламіну у співвідношенні 4:6. За таких умов отримано чітку, компактну хроматографічну пляму амброксолу гідрохлориду з $R_f = 0,53 \pm 0,02$.

Денситометричне визначення проводили в абсорбційному режимі при довжині хвилі 254 нм [26].

Також було описано розробку методу проточної інжекційної УФ-спектрофотометрії для ідентифікації амброксолу гідрохлориду у таблетованих лікарських формах. Визначення амброксолу проводили при довжині хвилі 245 нм. У ході роботи встановлено оптимальні параметри системи: швидкість потоку – 15 мл/хв, об'єм петлі інжектора – 193 мкл, кількість ін'єкцій – близько 100 на годину [27].

Індійськими вченими було розроблено простий колориметричний метод ідентифікації амброксолу гідрохлориду, який ґрунтується на хімічній реакції аміногрупи молекули з вуглецюсульфідом із утворенням дитіокарбамінової кислоти. Подальша взаємодія цього проміжного продукту з хлоридом міді(II) призводить до утворення кольорового хелатного комплексу міді, що має жовтогаряче забарвлення та максимум поглинання при довжині хвилі 448 нм.

Статистичне опрацювання результатів та дослідження відновлення підтвердили високу точність, відтворюваність і селективність методики. Розроблений підхід визнано придатним для рутинного контролю якості амброксолу гідрохлориду у таблетованих лікарських формах [28].

Також для ідентифікації амброксолу гідрохлориду у лікарських формах вченими було описано розробку простого, чутливого і точного спектрофотометричного методу визначення. Методика ґрунтується на реакції діазотування амброксолу за допомогою нітриту натрію в кислому середовищі оцтової кислоти, після чого утворений діазосполучник піддається реакції сполучення з катехолом, резорцином або β -нафтолом в лужному середовищі. У результаті утворюються стійкі забарвлені хромофорні комплекси, які мають максимуми поглинання при 425 нм.

Метод був статистично валідований, що підтвердило їх точність, відтворюваність і придатність до кількісного аналізу. Низькі значення

стандартного відхилення та коефіцієнта варіації (RSD) свідчать про високу прецизійність і стабільність результатів [29].

2.3.2. Методи ідентифікації N-ацетилцистеїну

Для ідентифікації N-ацетилцистеїну можуть бути використані такі методи, як спектрофотометрія, рідинна хроматографія, електрохімічні методи.

За фармакопеею України ідентифікація N -ацетилцистеїну визначається декількома методами:

1) Температура плавлення має становити від 104°C до 110 °C.
2) Питоме оптичне обертання має становити від +21.00 до + 27.00, у перерахунку на суху речовину.

3) Рідинна хроматографія. Аналіз проводять на рідинному хроматографі з УФ-детектором за таких умов: колонка з нержавіючої сталі розміром 0,25 м x 4 мм, заповнена силікагелем октадецилсилільним для хроматографії з розміром часток 5 мкм. Рухома фаза: ацетонітрил- вода (3:97). рН одержаної суміші доводять до 3 кислотою фосфорною концентрованою. Швидкість рухомої фази 1,0 мл/хв. Детектування здійснюється за довжини хвилі світла 220 нм. При хроматографуванні за зазначених умов час утримування ацетилцистеїну має становити 6,4 хв [30].

У науковій літературі описано новий метод мікрочіп-електрофорезу для швидкої та високоточної ідентифікації N-ацетилцистеїну. Розділення проводили методом ізотахофорезу при рН 6,0 на мікрочіпі з провідниковим детектуванням, що забезпечує високу роздільну здатність та чутливість аналізу.

Метод продемонстрував високу відтворюваність та точність при аналізі низки муколітичних препаратів. Відносне стандартне відхилення не перевищувало 0,7%, а відносна похибка – 1,9%, що свідчить про стабільність і надійність методу. Діапазон відновлення 99-101% підтверджує високу аналітичну точність визначення N-ацетилцистеїну у готових лікарських формах[31].

У сучасних дослідженнях представлено електрохімічний метод ідентифікації N-ацетилцистеїну, заснований на використанні модифікованого електрода з пасти вуглецевих нанотрубок, до складу якого було введено 2-хлорбензоїлфероцен як електроактивний модифікатор.

На поверхні цього електрода вивчали процес електроокиснення N-ацетилцистеїну, що продемонстрував високу чутливість та аналітичну ефективність методу. Запропонований модифікований електрод забезпечив чітке розділення вольтамперометричних піків N-ацетилцистеїну та фолієвої кислоти, що дозволяє одночасно визначати обидві сполуки у реальних зразках без взаємних інтерференцій.

Таким чином, використання 2-хлорбензоїлфероценового модифікованого електрода на основі вуглецевих нанотрубок відкриває нові можливості для високочутливого, вибіркового та селективного визначення N-ацетилцистеїну навіть у складних матрицях, що робить цей метод перспективним для подальшого застосування у фармацевтичному аналізі [32].

У ході одного з досліджень було розроблено та валідовано точний і відтворюваний УФ-спектрофотометричний метод ідентифікації N-ацетилцистеїну у таблетованих лікарських формах із використанням 0,1 N розчину NaOH як розчинника. Максимум поглинання спостерігався при 235 нм, що є характерним для N-ацетилцистеїну.

У процесі дослідження оцінювали такі аналітичні параметри методу, як лінійність, точність, специфічність, межі виявлення та кількісного визначення, а також робастність. Результати аналізу показали середній відсоток відновлення 100,17% та вміст активної речовини 100,27%, із показниками прецизійності 0,60% і 0,57%, відповідно. Отримані значення свідчать про високу точність і надійність розробленої методики [33].

2.3.3. Методи ідентифікації комбінації амброксолу гідрохлориду та N-ацетилцистеїну

У науковій літературі представлено значну кількість досліджень, присвячених розробці та вдосконаленню методів ідентифікації амброксолу гідрохлориду та N-ацетилцистеїну окремо. Водночас, методи одночасної ідентифікації цих речовин залишаються малодослідженими.

Незважаючи на широке клінічне застосування комбінованих лікарських засобів, які містять амброксол гідрохлорид та N-ацетилцистеїн, а також на їхню присутність на фармацевтичному ринку України, в офіційних фармакопейних монографіях відсутні затверджені методики одночасної ідентифікації цих діючих речовин.

Переважає більшість наявних досліджень зосереджується на застосуванні хроматографічних методів аналізу, зокрема методів високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ), які забезпечують високу точність і селективність під час розділення та ідентифікації суміші амброксолу гідрохлориду та ацетилцистеїну.

Метод високоефективної рідинної хроматографії для одночасної ідентифікації амброксолу гідрохлориду та N-ацетилцистеїну у твердих лікарських формах

Матеріали. Метанол HPLC чистоти, калій дигідрофосфат аналітичної чистоти, триетиламін аналітичної чистоти, фосфорна кислота аналітичної чистоти, вода HPLC чистоти, стандарти порівняння амброксолу гідрохлориду та N-ацетилцистеїну.

Обладнання. Для хроматографічного розділення використовували систему HPLC Thermo Fischer Ultimate 3000. Колонка – C18, 250 × 4,6 мм, 5 мкм, Cosmosil. Детектор – діодний масив DAD-300. Автоінжектор – автоматичний подавач зразків (Auto sampler). Температура колонки підтримувалася на рівні 40 °C у термостатованому модулі. Режим елюції – ізократичний [34].

Додаткове обладнання: електронні ваги LCGC, сонікатор Spectra Physics, рН-метр Digisun AS220/X. Для збору та обробки даних використовували програмне забезпечення Chromeleon.

Приготування розчинів

Мобільна фаза

Для приготування мобільної фази змішали 700 мл буферного розчину та 300 мл метанолу (загальний об'єм – 1000 мл). Суміш фільтрували через скляний фільтр (0,45 мкм) та дегазували.

Буферний розчин

1,36 г дигідрофосфату калію розчиняли в 900 мл води, додавали 2 мл тріетиламіну, рН регулювали до $3,0 \pm 0,05$ розведеною фосфорною кислотою та доводили об'єм до 1000 мл водою. Розчин фільтрували через фільтр 0,45 мкм.

Приготування стандартних розчинів

Стандартний розчин амброксолу гідрохлориду

Концентрація: 0,3 мг/мл. Точно зважили 30 мг робочого стандарту амброксолу гідрохлориду, перенесли у 100 мл мірну колбу. Додали 60 мл мобільної фази, розчинили повністю та довели об'єм до позначки мобільною фазою. Розчин ретельно перемішали.

Стандартний розчин N-ацетилцистеїну

Концентрація: 1,0 мг/мл. Точно зважили 50 мг N-ацетилцистеїну, перенесли у 50 мл мірну колбу, додали 30 мл мобільної фази, повністю розчинили та довели об'єм до мітки мобільною фазою. Розчин ретельно перемішали.

Стандартний робочий розчин

Концентрація: 30 мкг/мл амброксолу гідрохлориду та 200 мкг/мл N-ацетилцистеїну. У 50 мл мірну колбу перенесли 5 мл стандартного розчину амброксолу гідрохлориду та 10 мл стандартного розчину N -ацетилцистеїну, довели об'єм до мітки розчинником і перемішали [34].

Приготування розчину зразка

Концентрація: 30 мкг/мл амброксолу гідрохлориду та 200 мкг/мл N-ацетилцистеїну. Двадцять таблеток подрібнили у ступці до отримання однорідного порошку. Точно зважену порцію порошку, що містить 30 мг амброксолу гідрохлориду, перенесли у 100 мл мірну колбу, додали близько 60 мл розчинника та обробляли ультразвуком 15 хвилин до повного розчинення. Розчин охолодили до кімнатної температури, довели об'єм до мітки розчинником і перемішали. Розчин фільтрували через фільтр 0,45 мкм, перші кілька мілілітрів фільтрату відкидали. Далі 5 мл фільтрату розвели до 50 мл розчинником і ретельно перемішали.

Хроматографічні умови. Для аналізу використовували колонку Cosmosil C18 (250 мм × 4,6 мм × 5 мкм) при температурі 40 °С. Мобільна фаза складалася з буферного розчину та метанолу у співвідношенні 70:30, фільтрована через скляний фільтр (0,45 мкм) та дегазована. Швидкість потоку становила 1,0 мл/хв, елюювання відстежували при 230 нм. Об'єм ін'єкції становив 20 мкл, тривалість аналізу – 30 хвилин.

Час утримання N-ацетилцистеїну та амброксолу гідрохлориду становив приблизно 3,4 та 22,3 хвилини відповідно. Піки були добре розділені, з чіткою формою та симетрією [34].

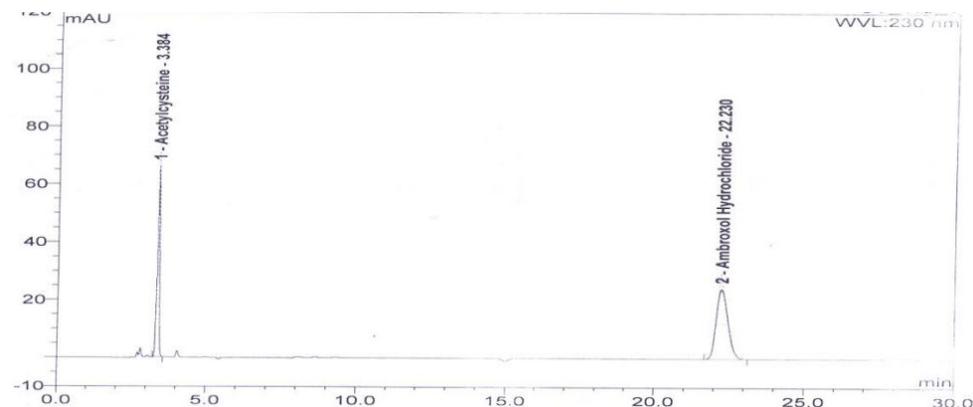


Рис.2.2. Хроматограма амброксолу гідрохлориду та N-ацетилцистеїну і відповідний час утримання з детекцією при 230 нм

Метод зворотно-фазової високоефективної рідинної хроматографії для одночасної ідентифікації амброксолу гідрохлориду та N-ацетилцистеїну у твердих лікарських формах

Матеріали. Ацетонітрил HPLC чистоти, калій дигідрофосфат аналітичної чистоти, ортофосфорна кислота аналітичної чистоти, вода HPLC чистоти, стандарти порівняння амброксолу гідрохлориду та N-ацетилцистеїну, таблетована лікарська форма комбінованого препарату, що містить 30 мг амброксолу гідрохлорид та 200 мг N-ацетилцистеїну.

Обладнання. Для хроматографічного розділення використовували систему HPLC Shimadzu з колонкою Hypersil (C18), електронні ваги CA 123, сонікатор Ехро Ні-Tech, рН-метр PCI analytics. Для збору та обробки даних використовували програмне забезпечення Spinchrom [35].

Приготування розчинів

Приготування мобільної фази

Фосфатний буфер (рН 3,5) був підготовлений із дигідрофосфату калію з додаванням ортофосфорної кислоти. Розчин обробляли ультразвуком та фільтрували через мембранний фільтр 0,45 мкм. Мобільна фаза складалася із суміші фосфатного буфера (рН 3,5) та ацетонітрилу у співвідношенні 70:30.

Приготування розчинника (дилюенту): Мобільна фаза використовувалась як дилюент.

Приготування стандартного розчину

Точно відважені наважки 100 мг N-ацетилцистеїну та 15 мг амброксолу переносили в 100 мл мірну колбу, розчин обробляли ультразвуком до повного розчинення, після чого доводили об'єм дилюентом та фільтрували через мембранний фільтр 0,45 мкм. Далі 1 мл приготованого розчину переносили в 100 мл мірну колбу, доводили об'єм дилюентом та фільтрували через мембранний фільтр 0,45 мкм.

Приготування розчину зразка

Визначали середню масу 10 таблеток та переносили їх у 200 мл мірну колбу. Додавали 100 мл дилуенту та обробляли ультразвуком з періодичним перемішуванням протягом 20 хвилин. Об'єм доводили дилуентом. Далі 1 мл отриманого розчину переносили у 100 мл мірну колбу та доводили об'єм дилуентом [35].

Хроматографічні умови. За умовами проведеного ВЕРХ-аналізу розділення компонентів комбінації N-ацетилцистеїну та амброксолу гідрохлориду відбувалося на колонці Нуперсіл С18 із використанням суміші фосфатного буфера (рН 3,5) та ацетонітрилу (70:30) як мобільної фази та силікагель, модифікований алкільними групами як нерухома фаза. Потік мобільної фази становив 1,0 мл/хв, а детекція здійснювалася при довжині хвилі 220 нм. Ін'єкція проби виконувалася у об'ємі 20 мкл, а тривалість аналізу склала 8 хвилин.

Під час аналізу піки N-ацетилцистеїну та амброксолу гідрохлориду були добре розділені, з чіткою формою та симетрією, що дозволяє однозначно ідентифікувати та кількісно визначати кожний компонент. Час утримування N-ацетилцистеїну становив 2,9 хв, а амброксолу гідрохлориду – 5,6 хв, що забезпечує ефективне та відтворюване розділення у досліджуваних таблетованих препаратах [35].

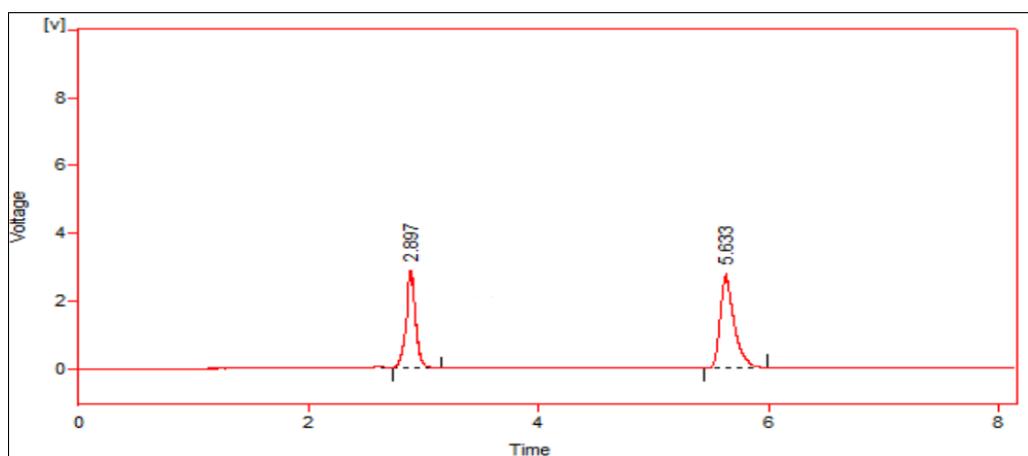


Рис.2.3. Хроматограма амброксолу гідрохлориду та N-ацетилцистеїну і відповідний час утримання з детекцією при 220 нм

Метод спектрофотометрії для одночасної ідентифікації амброксолу гідрохлориду та N-ацетилцистеїну у твердих лікарських формах

Матеріали. Стандарти порівняння амброксолу гідрохлориду та N-ацетилцистеїну, дистильована вода, таблетована лікарська форма комбінованого препарату, що містить 30 мг амброксолу гідрохлорид та 200 мг N-ацетилцистеїну.

Обладнання. Експериментальні дослідження проводилися з використанням двопробного УФ-видимого спектрофотометра Shimadzu UV-1800, оснащеного парою кварцових кювет із товщиною шару 10 мм. Для обробки спектрофотометричних даних використовувалося програмне забезпечення UV Probe, що забезпечує точність вимірювань та контроль параметрів аналізу. Для виконання аналітичних процедур застосовувалася лабораторна скляна посудина класу «А», яку попередньо ретельно очищали, промивали дистильованою водою та висушували у сушильній шафі [36].

Приготування стандартного розчину

Точно зважували 100 мг N-ацетилцистеїну та 15 мг амброксолу гідрохлориду і переносили у мірну колбу об'ємом 100 мл. Обидві речовини розчиняли у дистильованій воді з використанням ультразвукової обробки до повного розчинення. Після цього об'єм розчину доводили до мітки дистильованою водою. У результаті отримували стандартний матковий розчин із концентраціями 1000 мкг/мл для N-ацетилцистеїну та 150 мкг/мл для амброксолу гідрохлориду. Стандартний матковий розчин N-ацетилцистеїну було розведено до концентрації 100 мкг/мл, а амброксолу гідрохлориду до 15 мкг/мл. Як бланк використовували дистильовану воду.

Приготування розчину зразка

Визначали середню масу 20 таблеток, після чого їх подрібнювали у ступці до однорідного порошку. Порошок, що відповідав 100 мг N-ацетилцистеїну, точно зважували та переносили у мірну колбу об'ємом 100 мл. Додавали невелику

кількість дистильованої води та розчиняли за допомогою сонікації протягом 20 хвилин, після чого доводили об'єм до мітки тим самим розчинником.

Отриманий розчин фільтрували через фільтр 0.45 мкм із використанням вакуумного насосу. З одержаного фільтрату проводили подальші розведення для отримання концентрацій 100 мкг/мл N -ацетилцистеїну та 15 мкг/мл амброксолу гідрохлориду. Вимірювали абсорбцію при вибраних довжинах хвиль, після чого розраховували концентрації обох компонентів у зразках таблеток [36].

Спектрометричні умови. Під час аналізу спектрів встановлено, що при довжині хвилі 244 нм істотне поглинання спостерігається лише для амброксолу, тоді як при 220 нм виражене поглинання виявляється для обох речовин – амброксолу гідрохлориду та N -ацетилцистеїну. Це дало змогу проводити кількісне визначення амброксолу при 244 нм без впливу N -ацетилцистеїну, оскільки останній не має поглинання на цій довжині хвилі. Визначення концентрації N -ацетилцистеїну здійснювали при 220 нм шляхом віднімання величини поглинання амброксолу гідрохлориду від сумарного значення для суміші, отримуючи скориговане значення поглинання для N -ацетилцистеїну [36].

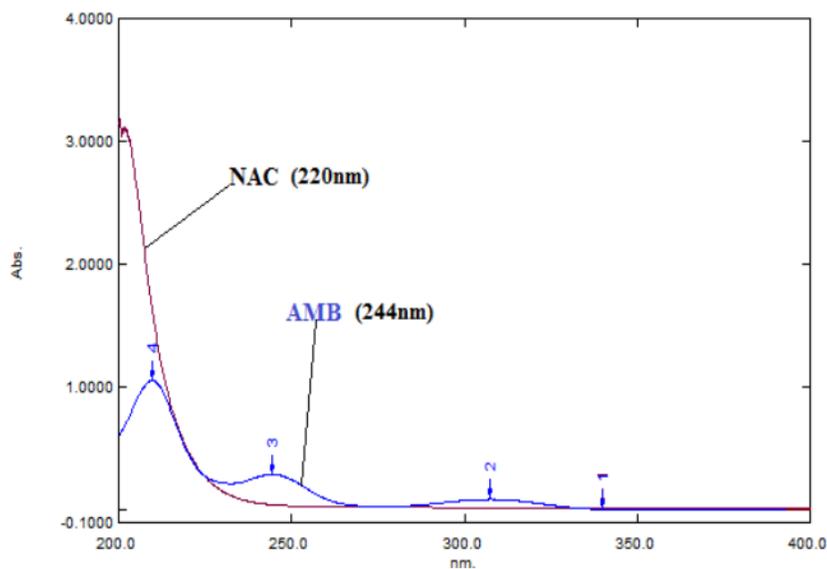


Рис.2.4. Спектр амброксолу гідрохлориду та N-ацетилцистеїну

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Одночасна ідентифікація амброксолу гідрохлориду та ацетилцистеїну в комбінованих лікарських формах має суттєві переваги як з практичної, так і з аналітичної точки зору. Такий підхід забезпечує ефективну організацію лабораторного процесу та підвищує якість контролю готової продукції.

Насамперед, економія часу та ресурсів досягається завдяки проведенню одного аналітичного циклу для обох компонентів, що значно скорочує тривалість аналізу та зменшує витрати реактивів. Крім того, зменшується обсяг необхідних зразків і розчинників, що робить процедуру більш раціональною та екологічно безпечною.

Важливою перевагою є уніфікація методики контролю якості, яка дозволяє застосовувати єдиний підхід для аналізу комбінованих препаратів, спрощуючи документаційні процедури та підвищуючи узгодженість між лабораторними вимірюваннями. Одночасна ідентифікація також сприяє зменшенню аналітичних похибок, оскільки визначення обох речовин у межах однієї проби мінімізує міжсерійні варіації та похибки підготовки.

З практичної точки зору, така методика забезпечує зростання продуктивності лабораторій, дозволяючи обробляти більшу кількість зразків за одиницю часу, що особливо важливо для фармацевтичних виробництв із високою інтенсивністю контролю.

Крім того, метод відповідає сучасним міжнародним вимогам до аналітичного контролю комбінованих лікарських засобів, які передбачають одночасне визначення активних фармацевтичних інгредієнтів для підвищення точності та повноти оцінки якості.

Окремої уваги заслуговує можливість паралельного контролю стабільності та домішок, що дає змогу відстежувати зміни у вмісті обох речовин під час зберігання та виявляти потенційні продукти їх взаємодії.

Отже, застосування методів одночасної ідентифікації амброксолу гідрохлориду та ацетилцистеїну є оптимальним рішенням для сучасних аналітичних лабораторій, оскільки забезпечує високу точність, надійність, економічність та відповідність міжнародним стандартам контролю якості.

3.1 Порівняльний аналіз валідаційних характеристик методик одночасної ідентифікації амброксолу гідрохлориду та N-ацетилцистеїну у твердих лікарських формах

Для перевірки усіх методів були визначені наступні валідаційні параметри: лінійність, прецизійність, точність, специфічність, робастність. Валідаційні випробування проводилися відповідно до настанов ІСН та наведені у табл. 3.1.

Таблиця 3.1 Результати валідації методик одночасної ідентифікації амброксолу гідрохлориду та N-ацетилцистеїну

Параметр валідації	ВЕРХ	Зворотно-фазова ВЕРХ	УФ-спектрофотометрія
Специфічність	Відсутня взаємна інтерференція	Відсутня взаємна інтерференція	Відсутність взаємного накладання спектрів
Точність	Амброксол: 99,80% Ацетилцистеїн: 98,44%	Амброксол: 99,37% Ацетилцистеїн: 98,68%	Амброксол: 100,50–101,10% Ацетилцистеїн: 99,85–100,20%
Прецизійність	%RSD < 2%	%RSD < 1%	Інтра- та інтердень: Амброксол: 0,29–0,85% Ацетилцистеїн: 0,35–0,82%
Лінійність	$R^2 = 0.999$	$R^2 = 0.999$	$R^2 = 0.999$
Лінійний діапазон	Амброксол: 3–18 мг/мл Ацетилцистеїн: 20–120 мг/мл	Амброксол: 49,91–149,30 мг/мл Ацетилцистеїн: 49,81–147,11 мг/мл	Амброксол: 3–18 мг/мл Ацетилцистеїн: 20–120 мг/мл
Робастність	Стійкість при зміні рН ± 0.1 , температури ± 5 °С, потоку $\pm 10\%$	Незначні варіації потоку, температури та складу фази не впливають на результат	Метод відтворюваний при зміні аналітика/приладу

Хроматографічні методи, зокрема ВЕРХ та зворотно-фазова ВЕРХ, продемонстрували високу специфічність, що проявлялась у повній відсутності інтерференцій з боку допоміжних речовин та компонентів матриці.

Параметри точності та прецизійності для всіх трьох методів перебувають у межах нормативних значень, проте зворотно-фазова ВЕРХ демонструє найнижчі значення відносного стандартного відхилення (<1%), що свідчить про його високу відтворюваність. УФ-спектрофотометричний метод, попри простоту та економічність, також продемонстрував задовільну точність та низькі значення %RSD, що дозволяє використовувати його для оперативного контролю якості.

Лінійність усіх трьох методів характеризується високими коефіцієнтами кореляції ($R^2 \approx 0.999$), що свідчить про коректний характер концентраційної залежності сигналу аналіту.

Робастність методів засвідчила їхню стійкість до незначних змін умов аналізу: температури, швидкості потоку, характеристик обладнання чи роботи різних аналітиків. Найвищу стабільність показав метод зворотно-фазової ВЕРХ, здатний забезпечувати практично незмінні результати за широкого спектра експериментальних варіацій.

Узагальнюючи отримані результати, можна стверджувати, що всі три методи є валідованими та аналітично придатними для ідентифікації амброксолу гідрохлориду й ацетилцистеїну у комбінованих лікарських формах. Проте найвищу селективність, точність, відтворюваність і робастність демонструє саме зворотно-фазова ВЕРХ, що робить його оптимальним вибором для рутинного контролю якості та регуляторного аналізу.

3.2 Порівняльний аналіз методів одночасної ідентифікації амброксолу гідрохлориду та N-ацетилцистеїну у твердих лікарських формах

У процесі дослідження було розглянуто три різні методики аналітичного визначення амброксолу гідрохлориду та ацетилцистеїну у комбінованих твердих

лікарських формах — ВЕРХ, зворотно-фазову ВЕРХ та УФ-спектрофотометричний метод, порівняльний аналіз яких представлений у табл.3.2.

Таблиця 3.2. Порівняльний аналіз методів одночасної ідентифікації амброксолу гідрохлориду та N-ацетилцистеїну

Критерій	ВЕРХ	Зворотно-фазова ВЕРХ	УФ-спектрофотометрія
Обладнання	Thermo Fischer Ultimate 3000, DAD-детектор	Shimadzu HPLC, UV-детектор	Shimadzu UV-1800
Колонка / Кювета	C18 Cosmosil (250×4.6 мм, 5 мкм)	Hypersil C18	Кварцова кювета 10мм
Мобільна фаза / Розчинник	Буфер (рН 3.0): метанол = 30:70	Фосфатний буфер (рН 3.5): ацетонітрил = 70:30	Дистильована вода
Довжина хвилі детекції	230 нм	220 нм	220 нм (Ацетилцистеїн), 244 нм (Амброксол)
Швидкість потоку	1,0 мл/хв	1,0 мл/хв	—
Тривалість аналізу	30 хв	8 хв	~5 хв
Час утримання Ацетилцистеїн / Амброксол	3,4 хв / 22,3 хв	2,9 хв / 5,6 хв	—
Діапазон концентрацій	20–200 мкг/мл (Ацетилцистеїн) 3–30 мкг/мл (Амброксол)	20–200 мкг/мл (Ацетилцистеїн) 3–18 мкг/мл (Амброксол)	20–120 мкг/мл (Ацетилцистеїн) 3–18 мкг/мл (Амброксол)

Метод ВЕРХ базується на принципі розділення компонентів суміші в нерухомій фазі (хроматографічній колонці) під дією мобільної фази постійного складу. Аналіз проводили на системі Thermo Fischer Ultimate 3000 з детектором діодного масиву (DAD-300) та колонкою C18 Cosmosil (250×4.6 мм, 5 мкм). Мобільна фаза складалася з метанолу та буферного розчину (рН 3.0 ± 0.05) у співвідношенні 70:30. Детекцію здійснювали при 230 нм. Метод забезпечує високу точність, відтворюваність і стабільність результатів, проте потребує значного часу на проведення аналізу (до 30 хвилин) та витрат мобільної фази.

Зворотно-фазова ВЕРХ є модифікацією класичної ВЕРХ, у якій нерухома фаза є неполярною (С18), а мобільна — полярною. Це дозволяє ефективно розділяти сполуки з різною полярністю. Дослідження проводили на приладі Shimadzu HPLC з колонкою Hypersil C18 і УФ-детектором. Як рухомих фаз використовували суміш фосфатного буфера (рН 3.5) та ацетонітрилу (70:30), при швидкості потоку 1,0 мл/хв. Детекцію здійснювали при 220 нм. Метод характеризується швидкістю (тривалість аналізу близько 8 хв), високою роздільною здатністю піків та придатністю до рутинного контролю якості комбінованих препаратів.

УФ-спектрофотометричний метод базується на вимірюванні поглинання ультрафіолетового випромінювання молекулами речовин при певних довжинах хвиль. Для амброксолу гідрохлориду максимальне поглинання спостерігається при 244 нм, а для N-ацетилцистеїну — при 220 нм. Вимірювання проводили на двопроменевому спектрофотометрі Shimadzu UV-1800 з використанням кварцових кювет довжиною 1 см. Метод є простим у виконанні, не потребує складного обладнання чи дорогих реактивів, однак має нижчу селективність у порівнянні з хроматографічними методами через можливі накладання спектрів поглинання.

Порівняльний аналіз виявив, що:

- 1) За швидкістю аналізу перевага за УФ-спектрофотометрією (5 хв загального часу аналізу);
- 2) За простотою реалізації та вартістю обладнання лідирує також УФ-спектрофотометрія;
- 3) Найвищу селективність і чутливість демонструє зворотно-фазова ВЕРХ.

3.3. Переваги та обмеження методів одночасної ідентифікації амброксолу гідрохлориду та N-ацетилцистеїну у таблетованих формах

Порівняння трьох аналітичних підходів до одночасної ідентифікації амброксолу гідрохлориду та N-ацетилцистеїну у таблетованих формах, що представлено у табл. 3.3, показало, що кожна з методик має свої технічні особливості, аналітичні можливості, рівень точності та вимоги до лабораторних умов.

Таблиця 3.3 Переваги та обмеження методів одночасної ідентифікації амброксолу гідрохлориду та N-ацетилцистеїну у таблетованих формах

Метод	Переваги	Обмеження
ВЕРХ	<ul style="list-style-type: none"> – Висока точність та селективність; – Відтворюваність результатів; – Сумісність із різними типами детекторів (УФ, DAD, MS). 	<ul style="list-style-type: none"> – Висока вартість обладнання та обслуговування; – Потреба у високій чистоті реагентів і ретельній підготовці проб; – Тривалість аналізу може бути значною (до 30 хв).
Зворотно-фазова ВЕРХ	<ul style="list-style-type: none"> – Короткий час аналізу (до 8 хв); – Ефективне розділення навіть близьких за структурою сполук; – Менше споживання органічних розчинників порівняно з класичною ВЕРХ; – Добра сумісність із водними матрицями. 	<ul style="list-style-type: none"> – Потребує оптимізації рН і складу мобільної фази для стабільності речовин; – Обмежена застосовність для надто гідрофобних або летких сполук; – Необхідність контролю температури колонки.
УФ-спектрофотометрія	<ul style="list-style-type: none"> – Простота виконання та низька вартість; – Не потребує дорогого обладнання; 	<ul style="list-style-type: none"> – Низька селективність у сумішах з компонентами, що мають схожі спектри поглинання;

Метод	Переваги	Обмеження
	<ul style="list-style-type: none"> – Швидкість аналізу; – Мінімальні витрати розчинників. 	<ul style="list-style-type: none"> – Висока ймовірність впливу домішок на результати; – Не придатна для зразків зі складною матрицею.

Метод УФ-спектрофотометрії характеризується простотою, швидкістю та низькими експлуатаційними витратами, тому є доцільним для первинного контролю якості або скринінгових досліджень. Проте його застосування обмежується у випадках, коли у складі лікарських засобів присутні домішки або допоміжні речовини з подібними спектрами поглинання, що унеможлиблює точне визначення окремих компонентів.

Метод високоефективної рідинної хроматографії залишається «золотим стандартом» у фармацевтичному аналізі завдяки високій точності, селективності та можливості одночасного визначення кількох компонентів у складних матрицях. Його недоліком є висока вартість, довготривалість і потреба в спеціалізованому обладнанні, що обмежує застосування в рутинному контролі якості невеликих лабораторій.

Зворотно-фазова ВЕРХ є вдосконаленою варіацією класичної ВЕРХ, що забезпечує швидше розділення при меншій витраті розчинників і кращій відтворюваності. Оптимізація параметрів дозволяє досягати високої ефективності для одночасної ідентифікації амброксолу гідрохлориду та N-ацетилцистеїну, що робить цю методику найбільш збалансованою за критеріями точності, часу та вартості аналізу.

Таким чином проведений аналіз свідчить, що для ідентифікації амброксолу гідрохлориду та N-ацетилцистеїну у комбінованих твердих лікарських формах можуть бути ефективно використані такі аналітичні підходи, як: високоефективна рідинна хроматографія, зворотно-фазова ВЕРХ та УФ-спектрофотометрія. Відсутність офіційної фармакопейної монографії у Державній фармакопеї

України для цієї комбінації діючих речовин, попри наявність відповідних препаратів на вітчизняному ринку, зумовлює актуальність використання зазначених методик у практиці фармацевтичного аналізу. Застосування цих методів забезпечує достовірний контроль якості, відтворюваність результатів та відповідність готових лікарських форм встановленим нормативним вимогам. УФ-спектрофотометрія може бути рекомендована як допоміжний або експрес-метод для попереднього контролю якості, тоді як метод зворотно-фазова ВЕРХ є оптимальним компромісом між точністю, швидкістю та економічністю і може бути рекомендований для рутинного контролю комбінованих лікарських форм, що містять амброксол гідрохлорид і N-ацетилцистеїн.

ВИСНОВКИ

1. У ході проведеного аналізу встановлено, що на сьогодні відсутня офіційна фармакопейна монографія, яка б регламентувала аналіз комбінованої лікарської форми амброксолу гідрохлориду та N-ацетилцистеїну. Водночас з'ясовано, що для їх одночасного визначення у твердих лікарських формах у науковій та аналітичній практиці можуть застосовуватись такі методи, як високоефективна рідинна хроматографія, зворотно-фазова високоефективна рідинна хроматографія та УФ-спектрофотометрія.

2. Проведений порівняльний аналіз методів одночасної ідентифікації амброксолу гідрохлориду та N-ацетилцистеїну за такими ключовими критеріями, як чутливість, роздільна здатність і селективність, відповідність валідаційним вимогам, складність виконання та необхідне матеріально-технічне забезпечення, дозволив встановити, що кожен із методів має певні переваги та обмеження щодо застосування.

3. Оптимальним для комплексного контролю якості комбінованих препаратів амброксолу гідрохлориду та N-ацетилцистеїну визначено метод зворотно-фазової високоефективної рідинної хроматографії, який забезпечує найвищу селективність і точність аналізу. У свою чергу, для оперативного та рутинного контролю якості лікарських засобів можуть ефективно застосовуватися методи високоефективної рідинної хроматографії та УФ-спектрофотометрії завдяки їх доступності, швидкості виконання та достатній аналітичній надійності.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Пневмонія: веб-сайт. URL: <https://empendium.com/ua/chapter/B27.1368.16>.
2. Візір В. А., Деміденко О. В., Садомов А. С., Приходько І. Б. Пневмонії: етіологія, патогенез, класифікація, діагностика, лікування та профілактика : навч. посіб. до практ. занять з внутрішньої медицини для студентів 5 курсу мед. ф-тів спец. 222 «Медицина», 228 «Педіатрія» – Запоріжжя : ЗДМФУ, 2023. – 92 с.
3. Хімюн Л.В., Ященко О.Б., Данилюк С.В., Ситюк Т.О. Симптоматичне лікування кашлю у дорослих. Здоров'я України. 2016. Т. 374, №1. С. 3-5.
4. БРОНХОБОС®. Карбоцистеїн. Ліки контроль: веб-сайт. URL: [https://likicontrol.com.ua/%D1%96%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80%D1%83%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F/?\[45762\]](https://likicontrol.com.ua/%D1%96%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80%D1%83%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F/?[45762])
5. АБРОЛ® SR. Амброксол. Ліки контроль: веб-сайт. URL: [https://likicontrol.com.ua/%D1%96%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80%D1%83%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F/?\[35072\]](https://likicontrol.com.ua/%D1%96%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80%D1%83%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F/?[35072])
6. Wang D., Sun Sh.; Hu S. The therapeutic efficacy of high-dose ambroxol and the nursing effects in the treatment of severe pneumonia. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2019, V. 32, P. 1409
7. АЦЕТИЛЦИСТЕЇН. Ліки контроль: веб-сайт. URL: [https://likicontrol.com.ua/%D1%96%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80%D1%83%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F/?\[36357\]](https://likicontrol.com.ua/%D1%96%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80%D1%83%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F/?[36357])
8. Qianwen Z., Yuanrong J., Yan M., Tao W. N-acetylcysteine improves oxidative stress and inflammatory response in patients with community acquired pneumonia. *Medicine*. 2018, V. 45, №97, doi: 10.1097/MD.0000000000013087.
9. ПУЛЬМОБРИЗ. Амброксол у комбінації з ацетилцистеїном. Ліки контроль: веб-сайт. URL:

[https://likicontrol.com.ua/%D1%96%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80%D1%83%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F/?\[31186\]](https://likicontrol.com.ua/%D1%96%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80%D1%83%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F/?[31186]).

10. Hongbo L., Wenxiao W., Xingjuan G., Comparison of the efficacy of ambroxol hydrochloride and N-acetylcysteine in the treatment of children with bronchopneumonia and their influence on prognosis. *Experimental and therapeutic medicine*. 2020, V. 20, № 130, doi: 10.3892/etm.2020.9260.

11. Xue A., Zhang H., Song Sh., Yu X. Effects of N-Acetylcysteine combined with Ambroxol Hydrochloride on clinical symptoms, CRP, and PCT in children with pneumonia. *Clinics*. 2024, V.79, doi: 10.1016/j.clinsp.2024.100476.

12. ПУЛЬМОЛОГ. Амброксол у комбінації з лоратадином. Ліки контроль: веб-сайт. URL: [https://likicontrol.com.ua/%D1%96%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80%D1%83%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F/?\[31189\]](https://likicontrol.com.ua/%D1%96%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80%D1%83%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F/?[31189]).

13. Villacampa J., Alcántar F., Rodriguez J. M., Morales J. M., Herrera J., Rosete R. Pharmacokinetic properties of single-dose loratadine and ambroxol alone and combined in tablet formulations in healthy men. *Clinical Therapeutics*. 2003, V.25, №8, P. 2225-2232.

14. Snyder L.R., Kirkland J.J., Dolan J.W. *Introduction to Modern Liquid Chromatography*. 3rd ed. Wiley, 2010.

15. Aulton M. E., Taylor K. *Aulton's Pharmaceutics: The Design and Manufacture of Medicines*. – 5th ed. – London: Elsevier, 2018.

16. Watson D.G. *Pharmaceutical Analysis: A Textbook for Pharmacy Students and Pharmaceutical Chemists*. 4th ed. Elsevier, 2012.

17. Beckett A. H., Stenlake J. B. *Practical Pharmaceutical Chemistry*. – 4th ed. – London: Athlone Press, 2002.

18. Mazivila S. J., Olivieri A. C. Chemometrics coupled to vibrational spectroscopy and spectroscopic imaging for the analysis of solid-phase pharmaceutical

products: A brief review on non-destructive analytical methods. *Trends in Analytical Chemistry*. 2018, V. 108, P. 74-87.

19. АМБРОКСОЛУ ГІДРОХЛОРИД. Фармацевтична енциклопедія: веб-сайт. URL: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/2732/ambroksolu-gidroxlorid>.

20. АЦЕТИЛЦИСТЕЇН. Фармацевтична енциклопедія: веб-сайт. URL: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/2940/acetilcistein>.

21. Сидоренко А. В., Петренко Н. М. Методи наукового пізнання: бібліографічний, аналітико-порівняльний, узагальнення, логічний аналіз. *Фармацевтичний журнал*. 2021. №3. С. 45–52.

22. Коваленко В. М., Корж О. М. Основи наукової роботи: методи теоретичного та емпіричного дослідження. – Харків: Основа, 2022. – 196 с.

23. Степаненко В. С. Теоретичні основи узагальнення в науковому пізнанні. *Вісник фармації*. 2021. №2. С. 15–20.

24. Гуменюк Л. І., Соловей С. М. Системний підхід і логічний аналіз у фармацевтичних дослідженнях. *Наукові праці НФаУ*. 2022. Т. 28, №2. С. 58–64.

25. Державна фармакопея України / Держ. служба України з лік. засобів, Укр. наук. фармакоп. центр якості лік. засобів. - 1-ше вид. – Доповнення 2 - Харків: Укр. наук. фармакоп. центр якості лік. засобів, 2008. 620 с.

26. Jain P.S. Stability-Indicating HPTLC Determination of Ambroxol Hydrochloride in Bulk Drug and Pharmaceutical Dosage Form. *Journal of Chromatographic Science*. 2010, V. 48, № 1, P. 45–48.

27. Satana E., Basan H., Goğer N.G. Determination of ambroxol hydrochloride in tablets using flow-injection UV spectrophotometry and HPLC. *Journal of Analytical Chemistry*. 2008, V. 63, P. 451–454.

28. Pai P., Lalitha N., Balakrishna B., Rao G. Determination of ambroxol hydrochloride using dithiocarbamic acid colorimetric method. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2006, V.68, №4.

29. Rele R. V., Gurav P. J. Simple Spectrophotometric Methods For Determination Of Ambroxol Hydrochloride From Pharmaceutical Formulation. *International Journal of PharmTech Research*. 2012, V.4, №3, P. 994-998.
30. Державна фармакопея України / Держ. служба України з лік. засобів, Укр. наук. фармакоп. центр якості лік. засобів. - 1-ше вид. - Харків: Укр. наук. фармакоп. центр якості лік. засобів, 2001. 526 с.
31. Rudašová M., Masár M. Precise determination of N-acetylcysteine in pharmaceuticals by microchip electrophoresis. *Journal of separation science*. 2016, V.39, №2, P. 433-439.
32. Foroughi M.M., Beitollahi H., Tajik S., Akbari A., Hosseinzadeh R. Electrochemical Determination of N-acetylcysteine and Folic Acid in Pharmaceutical and Biological Samples Using a Modified Carbon Nanotube Paste Electrode. *International Journal of Electrochemical Science*. 2014, V.9, №12, P. 8407-8421.
33. Ramarao N., Madamanchi M., Venkata S.R., Mandava J., Venkata S., Siva P.M. Development and Verification Of UV Spectrophotometric Technique for Determining N-Acetylcysteine in tablet formulations. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2024, V.16, №10, P. 30-35.
34. Shanbhag S.V. and Bachute M.T. Simultaneous Estimation of N-Acetylcysteine and Ambroxol Hydrochloride from Tablet Dosage Form by HPLC Method. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 2017, V.6, №13, P.964-976.
35. Kinjawadekar V., Boddu S., Ghadge O. A Novel Stability Indicating RP-HPLC Method For The Simultaneous Estimation Of N-Acetylcysteine And Ambroxol In Combined Tablet Dosage Form. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2017, V. 8, №5, P. 1000-1006.
36. Vedang K et al.: Absorption correction method for the simultaneous estimation of N-Acetyl-L-Cysteine and Ambroxol Hydrochloride in bulk and in combined tablet dosage form. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2016; V. 8, №5, P. 191-195.



SUMMARY

Dorozhynska Inna

Topic: “Comparative analysis of methods for identifying the combination of ambroxol hydrochloride and N-acetylcysteine in solid dosage forms”

Department of analytical, physical and colloid chemistry

Scientific supervisor: Zaitseva Galyna

Keywords: respiratory diseases, pneumonia, mucolytics, ambroxol hydrochloride, N-acetylcysteine, HPLC, RP-HPLC

Introduction. Respiratory diseases, particularly pneumonia, remain among the most widespread pathologies both globally and in Ukraine. They are characterized by high morbidity, a significant risk of complications, reduced quality of life for patients, and a substantial socio-economic burden. Because respiratory diseases have a multifactorial nature (infectious, inflammatory, oxidative, and secretory components), monotherapy is often insufficiently effective.

Combination therapies, such as ambroxol and acetylcysteine, provide a synergistic effect by uniting mucolytic, antioxidant, anti-inflammatory, and expectorant actions.

Materials and methods. Bibliographic analysis, generalization method, analytical-comparative method and logical analysis using to study methods for simultaneous identifying of ambroxol hydrochloride and N-acetylcysteine in solid dosage forms.

Results. The conducted analysis demonstrates that for the identification of ambroxol hydrochloride and N-acetylcysteine in combined solid dosage forms, analytical approaches such as high-performance liquid chromatography, reverse-phase HPLC, and UV-spectrophotometry can be effectively employed. The absence of an official pharmacopoeial monograph for this combination of active substances in the State Pharmacopoeia of Ukraine—despite the presence of such medicinal products on

the national market—highlights the relevance of using these methods in pharmaceutical analysis practice.

The UV-spectrophotometric method is characterized by its simplicity, rapidity, and low operational cost, making it suitable for preliminary quality control or screening studies. However, its application is limited in cases where pharmaceutical formulations contain impurities or excipients with overlapping absorption spectra, which prevents accurate quantitative determination of individual components.

The high-performance liquid chromatography (HPLC) method remains the “gold standard” in pharmaceutical analysis due to its high precision, selectivity, and ability to simultaneously determine multiple components in complex matrices. Its main disadvantages include high cost, longer analysis time, and the need for specialized equipment, which restrict its use in routine quality control in smaller laboratories.

Reverse-phase HPLC (RP-HPLC) is an advanced modification of classical HPLC that offers faster separation, reduced solvent consumption, and improved reproducibility. Optimization of analytical parameters ensures high efficiency for the simultaneous determination of ambroxol hydrochloride and N-acetylcysteine, making this technique the most balanced in terms of accuracy, analysis time, and cost.

Conclusions. The application of these analytical techniques ensures reliable quality control, reproducible results, and compliance of finished dosage forms with established regulatory requirements. UV-spectrophotometry may be recommended as an auxiliary or rapid method for preliminary quality assessment, whereas reverse-phase HPLC represents the optimal compromise among accuracy, efficiency, and cost-effectiveness and can be recommended for routine analysis of combined formulations containing ambroxol hydrochloride and N-acetylcysteine.