МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ О. О. БОГОМОЛЬЦЯ
ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ
КАФЕДРА АНАЛІТИЧНОЇ, ФІЗИЧНОЇ ТА КОЛОЇДНОЇ ХІМІЇ

ВИПУСКНА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

На тему «Спектрофотометричне визначення атенололу в лікарських формах із використанням 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону».

Виконала: здобувачка вищої освіти 5-го курсу, групи 118Ф1А напряму підготовки 226 Фармація, промислова фармація

Бабій Богдана Сергіївна

Керівник: доцент кафедри аналітичної, фізичної та колоїдної хімії , кандидат хімічних наук, Гождзінський С.М.

Рецензент: Доцентка кафедри хімії ліків та лікарської токсикології, к.фарм.н., Нароха Віолета Петрівна

Київ – 2026

ЗМІСТ

Перелік умовних позначень, символів, скорочень і термінів. 4

Вступ. 5

ОСНОВНА ЧАСТИНА. Розділ 1. Атенолол, синтез, фізико-хімічні властивості, методи ідентифікації та кількісного визначення. 8

1.1. Фізико-хімічні властивості атенололу. 8

1.2. Механізм дії та метаболізм атенололу. 10

1.3. Кольоровий реагент 2,3-дихлор-1,4-нафтохінон у спектрофотометрії. 11

Розділ 2. Експериментальна частина. 13

2.1. Матеріали та методи. 13

2.1.1. Мета дослідження. 13

2.1.2. Об’єкти дослідження. 13

2.1.3. Посуд, прилади та реактиви. 14

2.1.4. Приготування розчинів. 15

2.1.4.1. Для спектрофотометричного визначення. 15

2.1.4.2. Для ацидиметричного визначення (згідно ДФУ). 16

2.1.5. Методики. 17

2.1.5.1 Спектрофотометричне визначення атенололу у видимій області. 17

2.1.5.2.Ацидиметричне потенціометричне визначення 18

атенололу.

Розділ 3. Результати роботи та їх обговорення. 19

3.1. Аналіз спектра поглинання розчину атенололу з кольоровим реагентом. 19

3.2. Градуювальний графік. 20

3.3. Результати кількісного спектрофотометричного визначення у видимій області атенололу у Зразках. 23

3.4. Кількісне визначення атенололу у Зразках ацидиметрією з наступним визначенням кінця реакції потенціометрією. 27

Висновки. 29

Список використаних джерел. 30

Додатки. 34

Анотація (Summary). 38

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

β –АВ – β-адреноблокатори

ССЗ – серцево-судинні захворювання

АГ – артеріальна гіпертензія

ІХС – ішемічна хвороба серця

ВКР – випускна кваліфікаційна робота

ФСЗ – фармакопейний стандартний зразок

ЛЗ – лікарські засоби

ТШХ – тонкошарова хроматографія

ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія

РХ- рідинна хроматографія

ГГ – градуювальний графік

ДФУ – державна фармакопея України

Ph.Eur. – European Pharmacopoeia

ДМФА – N,N-диметилформамід

г – грам

мл – мілілітр

мг- міліграм

мкг-мікрограм

нм – нанометр

АФІ – активний фармацевтичний інградієнт

ВСТУП

Сучасну клінічну кардіологію у сучасній практиці неможливо уявити без препаратів групи β – адреноблокаторів (β –АВ) [1]. Ця група лікарських засобів займає переможні позиції при лікуванні серцевих патологій (ССЗ, ІХС, АГ тощо) оскільки здатна знижувати ризик серцево-судинних захворювань:

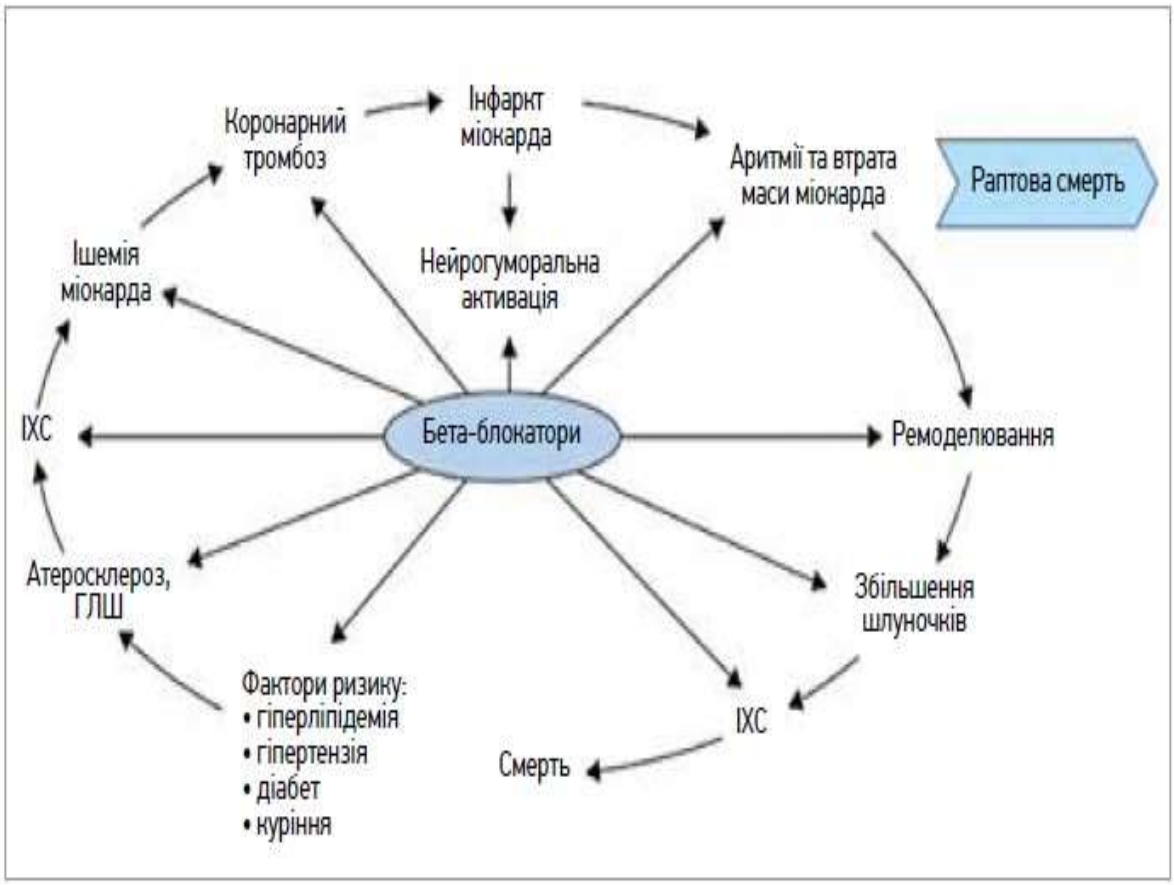


Рисунок 1. Застосування β – андреноблокаторів [1].

Фото з Сайту https://health-ua.com/cardiology/arterialna-gipertenziia/76209-blokatori-yakpersha-lnya-lkuvannya-arteralno-gpertenz

Концепцію «опосередкована дія ЛЗ через адренорецептори тканин різних органів» була розроблена та запропонована у 1905 році Н. Лендлі, з

часом концепція була покращена. Станом на зараз, у залежності від локалізації характеру фізико-біологічних властивостей, виділяють три типи адренорецепторів (α-адренорецептори, β-адренорецептори та допамінові адренорецептори).

У свою чергу β-адренорецептори класифікують на три групи, а саме:

- β_1-адренорецептори. Місце розташування – серце. Через них опосередкують стимулюючі впливи катехоламіни;
- β_2-адренорецептори. Місце розташування – бронхи, м'язи судинної стінки, підшлункова залоза, стимуляція β_2-адренорецепторів визиває релаксацію м'язів і секрецію інсуліну;
- β_3- адренорецептори. Місце розташування – мембрани адипоцитів. Приймають участь у термогенезі і ліполізі.

Ідея використання β –адреноблокаторів як кардіопротекторів належить Нобелевському лауреату Дж. Блеку, сьогодні у Світі синтезовано більше 100 β –адреноблокаторів, але у терапії використовують не більше 30 препаратів [1]. Класифікують β –адреноблокатори за нижченаведеними властивостями:

- по ліпогідрофільності та ліпогідрофобності;
- по наявності внутрішньої симпатичної активності;
- по наявності мембраностабілізуючої активності;
- по силі блокади специфічних рецепторів;
- по стабільності і тривалості дії.

Лікарські засоби, до складу яких входить атенолол [2], відносять до кардіоселективних препаратів без внутрішньої симптоматичної активності.

Актуальність теми: Отже, розробка методик кількісного визначення діючих речовин у кардіоселективних препаратах є актуальною.

Мета: Розробити, апробувати та виконати часткову валідацію методики кількісного визначення атенололу, який входить до складу твердих лікарських форм.

Завдання дослідження:

1. Проаналізувати фізико-хімічні, фармакологічні властивості атенололу у таблетках, механізм дії діючої речовини атенолол, метаболізм та токсичність;
2. Проаналізувати методики ідентифікації та кількісного визначення атенололу у таблетках;
3. Розробити методику кількісного спектрофотометричного визначення атенололу у таблетках, виконати її апробацію та часткову валідацію;
4. Спираючись на статті ДФУ та Європейської фармакопеї, виконати кількісне визначення атенололу у лікарських засобах потенціометричним титруванням, оцінити статистично результати визначення.

Методи дослідження: Бібліосемантичний**,** спектрофотометрія у видимій області, ацидиметрія, потенціометрія.

Апробація результатів дослідження. Результати роботи були представлені на VI Науково-практичній конференції з міжнародною участю « Planta+. Наука, практика та освіта». Київ, Україна, 23 січня 2026 р.

Структура роботи. Робота представлена на 40 сторинках, додатків - 1, рисунків- 8, таблиць- 5.

ОСНОВНА ЧАСТИНА. Розділ 1. Атенолол, синтез, фізико-хімічні властивості, методи ідентифікації та кількісного визначення.

1.1. Фізико-хімічні властивості атенололу.

Хімічна назва атенололу (RS)-4-[2-(гідрокси-3-ізопропіламіно-пропокси)феніл]ацетамід [2], за агрегатним станом це біла кристалічна речовина з поганою розчинністю у воді, ефірі та метиленхлориді. Атенолол добре розчиняється у етанолі, метанолі, існує у вигляді двох енантіомерів [4-11], Рисунок 2:

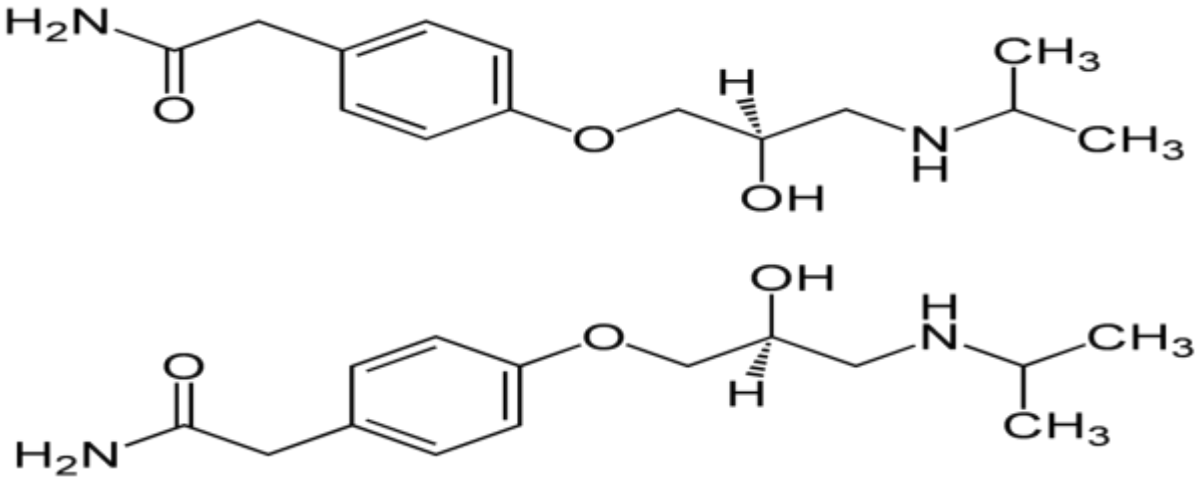
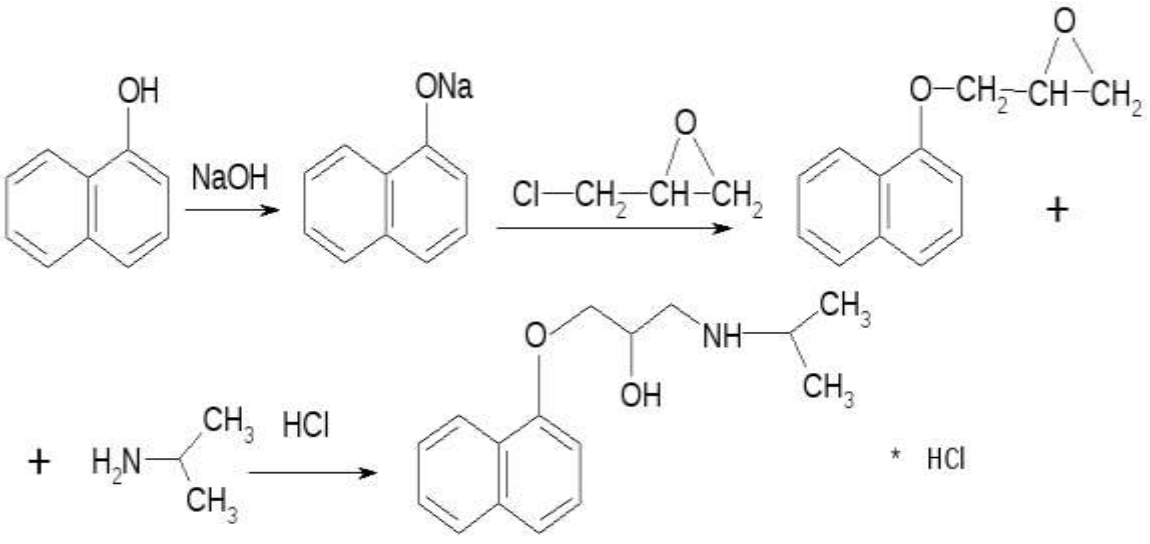


Рисунок 2. Структурні ізомери атенололу [2].

З хімічної точки зору, атенолол є похідним гідроксипропанаміну, тому, сполуку можна отримати за нижченаведеною схемою [3]:



Ідентифікацію (згідно ДФУ та Європейської фармакопеї, Додаток 1 та Додаток 2, [12-13]) проводять фізико-хімічними методами, а саме:

- За температурою плавлення (152^0C);
- Абсорбційною УФ – спектрофотометрією за нижченаведеною методикою:

0,1 г субстанції розчиняють у 100 мл метанолу Р, струшують та розводять розчин у 10 разів. Дослідження спектрів проводять у області 230-350 нм.

- Методом ТШХ за нижченаведеною методикою:

10 мг субстанції розчиняють у 1 мл метанолу Р. На пластинку з тонким шаром силікагелю F_{254}Р поміщають приготований розчин. Рухомою фазою у цьому методі є суміш концентрованого амоніаку та метанолу у співвідношенні 1:99.

Пляму висушують на повітрі та переглядають при 254 нм.

- Враховуючи наявність у молекулі сполуки групи -$CONH_2$, можна спрогнозувати, що атенолол вступає у реакції донорно-акцепторної взаємодії, де Нітроген виконує роль донора електронної густини.

Кількісно (Додаток 1 та Додаток 2) атенолол визначають методом неводного ацидиметричного титрування з наступним визначення кінця реакції потенціометрією за нижченаведеною методикою:

0,2 г наважки розчиняють у 80 мл концентрованої етанової кислоти (CH_3COOH) та титрують 0,1 М розчином перхлоратної кислоти ($HClO_4$), 1 мл розчину 0,1М $HClO_4$ відповідає 26,63 мг атенололу.

Молярна маса атенололу 266,3 г/моль, брутоформула $C_{14}H_{22}N_2O_3$.

1.2. Механізм дії та метаболізм атенололу.

Атенолол проявляє антиангінальний, антигіпертензивний та антиаритмічний ефекти, має здатність зменшувати автоматизм синусового вузла, гальмує атріовентикулярну провідність,знижує скоротливість міокарду та його потребу у кисні [4-11]. Проявляє негативну хроно-, дромо-, батмо- та ізотропну дію. Препарати з атенололом приймають внутрішньо, максимальна концентрація у крові спостерігається через 3-4 години, період напіввиведення становить до 7 годин, метаболізація відбувається у печінці, препарат має низьку проникність крізь гематоенцефалічний і плацентарний бар'єри. Лікарські засоби з атенололом використовують при лікуванні:

- Артеріальної гіпертензії;
- Стенокардії;
- Аритмії;
- Інфаркті міокарду [4-11].

Препарати з атенололом мають низку протипоказань, при певних патологічних станах лікарські засоби з атенололом не рекомендовано приймати (при гострій серцевій недостатності, синусовій брадикардії, кардіогенному шоці, бронхіальній астмі, метаболічному ацидозі, пізніх стадіях порушення периферичного кровообігу, нирковій недостатності тощо).

Взаємодія з іншими лікарськими засобами.

Одночасний прийом ЛЗ з атенололом:

Інсуліну. Посилює дію інсуліну, симптоми гіпоглікемії можуть маскуватися або зникати.

Антидепресантів трициклічної будови. Посилює гіпотензивний ефект.

Ніфедипіну. Приводить до посилення гіпотензивного ефекту.

Верапамілу. Призводить до підвищення розвитку брадикардії.

Серцевих глікозидів. Уповільнює частоту серцевих скорочень.

Індометацину, наркотиків, антисептиків. Знижує антигіпертензивний ефект атенололу.

Еуфіліну. Гальмується терапевтичний ефект обох препаратів.

Лідокаїну. Підвищується токсична дія обох препаратів.

Периферичних міорелаксантів. Приводить до виникнення нервово-м'язової блокади.

Снодійних. Збільшується седативний ефект.

Празозину. Атенолол посилює антигіпертензивну дію [4-11].

Симптоми передозування атенололом.

Як правило, це порушення з боку ЦНС (втома, порушення сну, головний біль, депресія, психози тощо).

При передозуванні може порушуватися зір, виникати сухість, нудота, блювання, запор, холестаз, стани гіпоглікемії, утруднене сечовипускання, бронхоспазм, пурпура, свербіж, алергічні висипання, алопеція, реакція гіперчутливості тощо [4-11].

1.3. Кольоровий реагент 2,3-дихлор-1,4-нафтохінон у спектрофотометрії.

Оптичні методи дослідження, зокрема, спектрофотометрія, найбільш залучені у кількісному аналізі при проведенні визначень у фармацевтичній практиці. Це можна пояснити точністю методів, простотою методик та низькою вартістю аналізів. Вимірювання аналітичного сигналу (оптичної густини А) відбувається в УФ – видимій та ІЧ – області спектра. Якщо дослідження проводять у видимій та ІЧ – області, вимірюванням аналітичного сигналу передує фотометрична реакція (взаємодія досліджуваної речовини з певним кольоровим реагентом, яка приводить до утворення забарвленого комплексу /асоціату).

Кольоровими реагентами для проведення фотометричних реакцій є багато речовин органічної та неорганічної природи, сполука 2,3-дихлор-1,4-нафтохінон широко використовується у фармацевтичній хімії завдяки можливості утворювати кольорові комплекси зі сполуками, до складу яких входить Нітроген [14]. Синтез 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону можна провести декількома способами (найбільш відомий - через стадію хлорування нафтолової кислоти при присутності концентрованої сульфатної кислоти, хлоруванням α-нафтолу або 1,4-нафтохінону) так як сполуку широко використовують як фунгіцид. Сполука погано розчиняється у воді, її розчини готують у органічних розчинниках. Речовина є стійкою по відношенню до дії кислот, але руйнується лугами. Відноситься до класу речовин з невисокою токсичністю. У фармацевтичній хімії є методики, що дозволяють кількісно визначати амінокислоти у присутності 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону [14].

Розділ 2. Експериментальна частина.

Експериментальна частина ВКР була виконана на кафедрі аналітичної, фізичної та колоїдної хімії НМУ імені О.О. Богомольця.

2.1. Матеріали та методи.

2.1.1. Мета дослідження.

Метою роботи була розробка, апробація та часткова валідація методики кількісного визначення атенололу у таблетованих формах вітчизняного виробника спектрофотометрією у видимій області.

2.1.2. Об`єкти дослідження.

Об’єктами у нашому дослідженні (Рисунок 3) ми лікарські засоби (таблетки), які виробляються на фармацевтичних підприємствах України, та до складу яких входить атенолол у кількості 50 мг. Нижче наведено допоміжні речовини, які входять до складу однієї таблетки кожного зразка:

Зразок 1.

Крохмаль картопляний, магнію карбонат, целлюлоза, повідон, кальцію стеарат, тальк, натрію кроскармелоза.

Зразок 2.

Крохмаль картопляний, магнію карбонат, целлюлоза, повідон, кальцію стеарат.

Зразок 1 Зразок 2

Рисунок 3. Об'єкти дослідження, фото з сайту https://tabletki.ua.

2.1.3. Посуд, прилади та реактиви.

1. Хімічний лабораторний посуд класу А.
2. Терези лабораторні ТВЕ-0,21-0,001-а-2.
3. Порцелянова ступка з товкачиком.
4. Спектрофотометр SPECORD 200-222 U 214.
5. Водяна баня.
6. Іономір лабораторний «И-130» та гальванічна пара, яка складається з хлоридосрібного електроду та платинового електроду ЕПВ -1.
7. Магнітний змішувач.
8. Фармакопейний стандартний зразок Атенолол, реєстраційний номер 29122-68-7, каталожний номер А0042.
9. Розчинник ДМФА.
10. Кольоровий реагент 2,3-дихлор-1,4-нафтохінон приблизної концентрації 5,0 %.
11. Кислота $HClO_4$, концентрації 0,1М.

2.1.4. Приготування розчинів.

2.1.4.1. Для спектрофотометричного визначення.

Приготування розчину кольорового реагенту приблизної концентрації 5,0 %.

Зважували 5,0 г кристалічного 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону та вміщували у мірну колбу на 100 мл, розчиняли у ДМФА.

Приготування розчину ФСЗ атенололу концентрації 50 мг/100 мл.

50 мг ФСЗ атенололу вміщували у мірну колбу на 100 мл, поступово розчиняли у ДМФА на водяній бані (при 90^0С).

Приготування розчинів Зразків концентрації 15 мг/100 мл.

Одну таблетку (кожного Зразка окремо) розтирали у порцеляновій ступці, розтерту масу вміщували у мірну колбу на 100 мл, поступово розчиняли у ДМФА на водяній бані (при 90^0С). Відбирали 15 мл приготованого розчину, вміщували у мірну колбу на 50 мл, доводили ДМФА до позначки.

Приготування розведених розчинів ФСЗ концентрації 10,0-20,0 мг/100 мл для побудови градуювального графіка.

Для побудови градуювального графіка готували серію розведених стандартних розчинів загальновідомими методиками.

Нижче наведені аліквоти розчину ФСЗ атенололу концентрації 50,0 мг/100 мл (Таблиця 1) вміщували у мірні колби на 100 мл, доводили до позначки ДМФА:

Таблиця 1. Приготування розведених ФСЗ атенололу для градуювального графіка.

№	Аліквоти розчину ФСЗ концентрації 50,0 мг/100 мл, мл	Концентрація розведених стандартних розчинів, мг/100 мл
1	20,00	10,00
2	24,00	12,00
3	28,00	14,00
4	32,00	16,00
5	36,00	18,00
6	40,00	20,00

2.1.4.2. Для ацидиметричного визначення (згідно ДФУ).

Приготування титранту (0,1 М $HClO_4$).

Змішували у співвідношенні 900 мл та 8,5 мл концентровані кислоти (етанатну та перхлоратну). Перемішували. До суміші додавали 30 мл етанатного ангідриду. Перемішували, відстоювали приготований розчин добу, стандартизацію проводили за сіллю калій гідрофталат.

Приготування розчинів Зразків.

Дві таблетки (кожного Зразка окремо) розтирали у порцеляновій ступці, розтерту масу вміщували у мірну колбу на 100 мл, розчиняли у ДМФА на водяній бані 10 хвилин, фільтрували через фільтр «синя стрічка».

2.1.5. Методики.

2.1.5.1 Спектрофотометричне визначення атенололу у видимій області.

До 10 мл розчину атенололу (стандартного або досліджуваного) додавали 1 мл розчину кольорового реагенту (2,3-дихлор-1,4-нафтохінону концентрації 5%). Струшували та нагрівали на водяній бані 15 хвилин при температурі 90^0С. Охолоджували. Величину абсорбції (оптичну густину А) вимірювали при довжині хвилі λ = 493 нм на спектрофотометрі SPECORD 200-222 U 214, Рисунок 4 . Кювети стандартні (10 мм):

Рисунок 4. Спектрофотометр SPECORD 200-222 U 214, фото з сайту https://img.ua/novini/tehnologiya-specord-60-rokiv.

Концентрацію аналізованої речовини атенолол у розчинах встановлювали за градуювальним графіком загальновідомими методиками [15-16].

2.1.5.2. Ацидиметричне потенціометричне визначення атенололу.

Згідно ДФУ (Додаток 1) 1 мл розчину 0,1М $HClO_4$ відповідає 26,63 мг атенололу.

Отже, 10 мл приготованого розчину (кожного Зразка окремо) вміщували у контактну колбу, занурювали у колбу гальванічну пару (хлоридосрібний та платиновий електроди) та проводили ацидиметричне потенціометричне титрування. Кінець реакції (точку еквівалентності) встановлювали за допомогою зміни функції E = f (V). Після визначення обєму титранту у точці еквівалентності, масу (концентрацію) атенололу встановлювали стандартними співвідношеннями, які є у обємних методах аналізу. Принципова схема ацидиметричного потенціометричного титрування наведена на Рисунку 5:

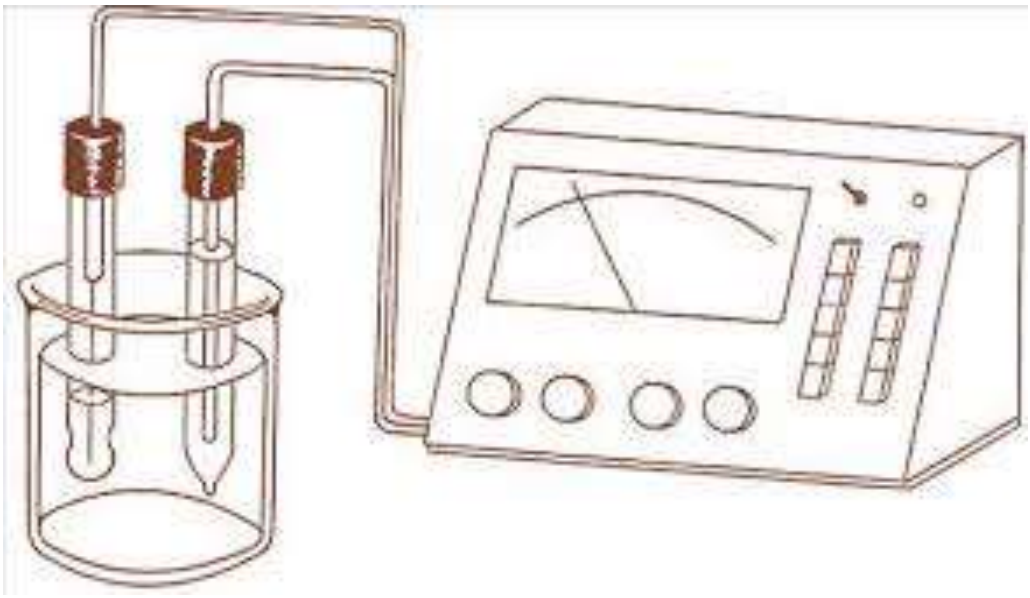


Рисунок 5. Принципова схема проведення ацидиметричного потенціометричного титрування.

Розділ 3. Результати роботи та їх обговорення.

При проведенні бібліосемантичного аналізу щодо кількісного визначення атенололу у субстанції та лікарських засобах нами було встановлено, що на сьогодні [17-22] відомими та апробованими методиками є методики визначення цієї діючої речовини методом ВЕРХ та спектрофотометрією у видимій та УФ – області. При розробці представленої у цієї роботі методики спектрофотометричного визначення у видимій області ми спиралися на наукові результати, методику та умовиводи українських науковців [22] оскільки вважаємо представлену методику найбільш оптимальною завдяки високій чутливості, простоті виконання та низькій собівартості. Враховуючи вищезазначене, першим кроком при розробці методики було визначення найоптимальнішої довжини хвилі дослідження, при якій доцільно було б проводити вимірювання величини абсорбції.

3.1. **Аналіз спектра поглинання розчину атенололу з кольоровим реагентом.**

Визначення величини оптичної густини А проводили для стандартного розведеного розчину № 4 (концентрація атенололу 16 мг/100 мл). Оптичну густину іонного асоціату «атенолол – кольоровий реагент» вимірювали у діапазоні 470-520 нм, результати представляли таблично (Таблиця 2) та графічно (Рисунок 6):

Таблиця 2. Оптична густина А іонного асоціату атенолол - 2,3-дихлор-1,4-нафтохінон. Концентрація атенололу 16,0 мг/100 мл.

λ	470	480	490	493	500	510	520
A	0,01	0,14	0,240	0,642	0,630	0,296	0,112

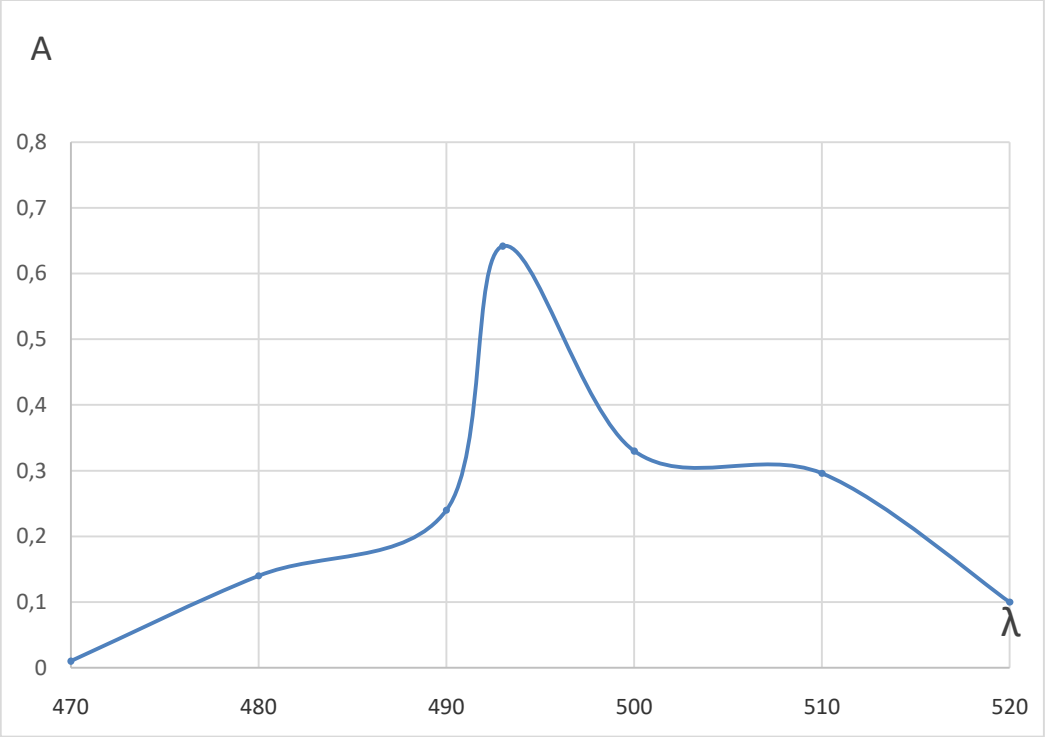


Рисунок 6. Графічна залежність величини абсорбції (оптичної густини А) від довжини хвилі.

Власними дослідженнями ми підтверджуємо, що максимальне поглинання світла відбувається при довжині хвилі 493 нм. Отже, спектрофотометричні кількісні подальші визначення доцільно проводити саме при цьому значенні ƛ.

3.2. Градуювальний графік.

В основі спектрофотометричних методів дослідження лежить Закон Бугера – Ламберта – Бера [15-16], у математичному виразі якого прямою пропорційною залежністю пов'язані оптична густина розчину А та концентрація досліджуваного розчину (ε - молярний коефіцієнт абсорбції, С(х) - концентрація речовини, l – товщина кювети):

$$A = \varepsilon \cdot c(x) \cdot l.$$

Для вивчення залежності A = f(C) ми використовували розчини, концентрація яких наведена у Таблиці 1, експеримент по визначенню оптичної густини проводили так, як описано у п.2.1.5.1.

Результати представлено у Таблиці 3 та на Рисунку 7:

Таблиця 3. Оптична густина A стандартних розведених розчинів атенололу.

№	Концентрація стандартних розведених розчинів, мг/ 100 мл	Оптична густина A
1	10,00	0,281
2	12,00	0,380
3	14,00	0,512
4	16,00	0,642
5	18,00	0,773
6	20,00	0,901

Аналізуючи градуювальник графік (Рисунок 7) та проводячи статистичну оцінку результатів за методом найменших квадратів [23-24], визначали коефіцієнт кореляції та функцію лінійної регресії, стандартні відхилення та коефіцієнти лінійної регресії у рівнянні прямій згідно вимогам ДФУ [23-24] стандартними співвідношеннями:

$y = 0{,}0625 \cdot x - 0{,}3549$, коефіцієнт кореляції $R^2 = 0{,}9991$;

$$s_0^2 = \frac{\sum_{i=1}^{n}(y_i - Y_i)^2}{v} = 6{,}4915 \cdot 10^{-5};$$

$$s_b^2 = \frac{n \cdot s_0^2}{n \cdot \sum_{i=1}^{n} x_i^2 - \left(\sum_{i=1}^{n} x_i\right)^2} = 9{,}2736 \cdot 10^{-7};$$

$$s_a^2 = \frac{s_b^2}{n} \cdot \sum_{i=1}^{n} x_i^2 = 0{,}000219;$$

$$s_b = \sqrt{s_b^2} = 0{,}000963;$$

$$s_a = \sqrt{s_a^2} = 0{,}014815.$$

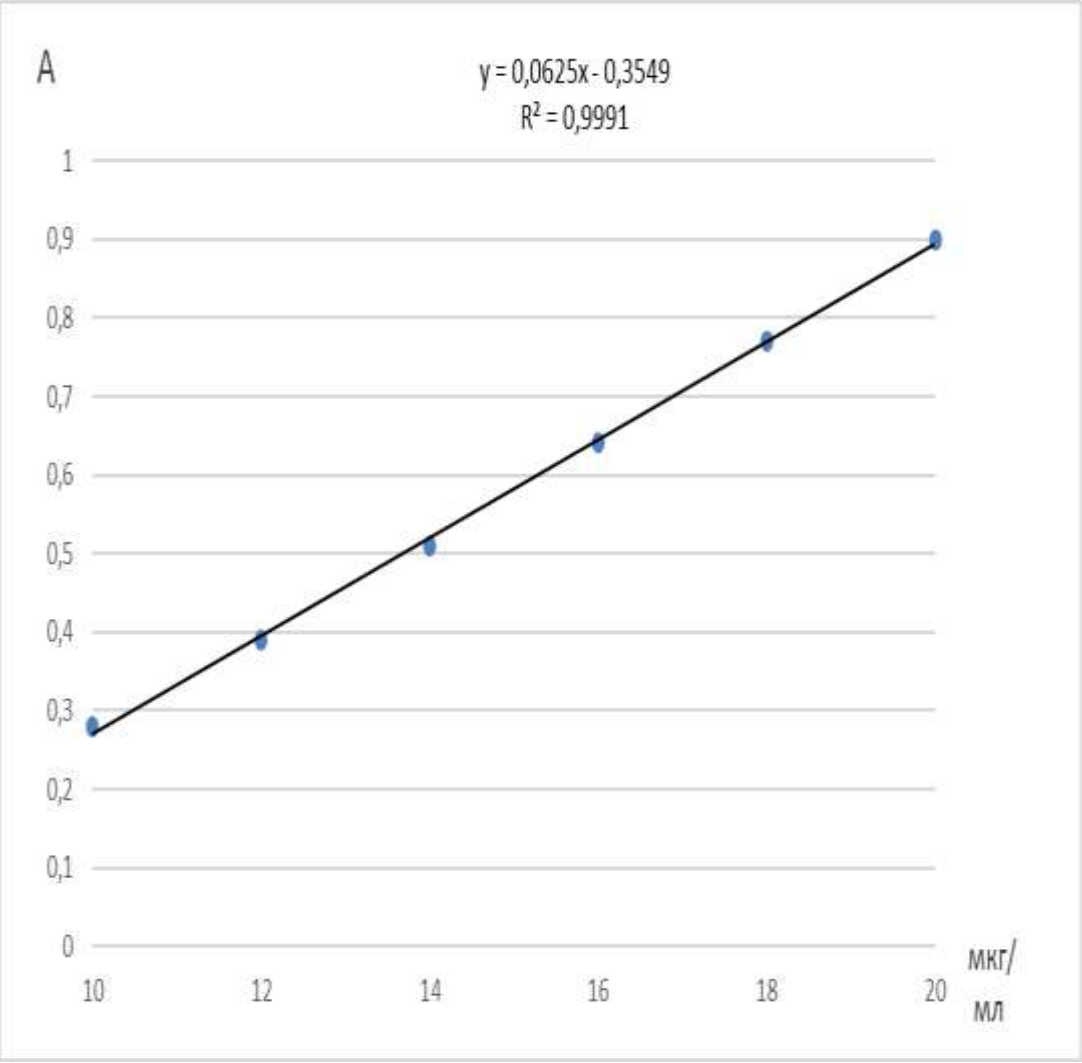


Рисунок 7. Градуювальний графік.

Враховуючи статистичну оцінку експериментальних даних, можна зробити висновок, що результати відповідають вимогам ДФУ [23-24].

3.3. **Результати кількісного спектрофотометричного визначення у видимій області атенололу у Зразках.**

Наступним кроком нашого дослідження було знаходження концентрації діючої речовини атенолол у Зразках за допомогою градуювального графіка. Спектрофотометричні визначення були проведені за методикою п.2.1.5.1., результати (враховуючи розведення) та статистична обробка результатів представлено у Таблиці 4:

Таблиця 4. Результати кількісного спектрофотометричного визначення у видимій області діючої речовини атенолол у Об'єктах дослідження.

Об'єкти дослідження	Концентрація атенололу, мг, враховуючи розведення	
	Зразок 1	Зразок 2
	50,03 50,04 49,97 49,89 49,86	50,07 50,05 49,68 49,82 49,94
Середнє значення,	49,96	49,91
Стандартне відхилення, *s*	0,0810	0,164
Дисперсія, s^2	0,00657	0,0268
Відносне стандартне відхилення, %	0,16	0,33
Довірчий інтервал,	49,96 ± 0,093	49,91 ± 0,19
Відносна похибка середнього значення, %	0,19	0,38

Перевірка внутрішньолабораторної точності була проведена на наступний календарний день. Для перевірки внутрішньолабораторної точності вимірювання та розрахунок концентрації діючої речовини атенолол проводили для Зразка 1, умови проведення двох досліджень не відрізнялися, результати наведено у Таблиці 5:

Таблиця 5. Оцінка внутрішньолабораторної точності методики кількісного визначення діючої речовини атенолол у Об'єкті дослідження спектрофотометричним методом.

Зразок 1	Концентрація атенололу, мг, враховуючи розведення	
	День 1	День 2
	50,03 50,04 49,97 49,89 49,86	50,13 50,06 49,83 49,88 49,16
Середнє значення,	49,96	49,81
Стандартне відхилення, *s*	0,0810	0,385
Дисперсія, s^2	0,00657	0,148
Відносне стандартне відхилення, %	0,16	0,77
Довірчий інтервал,	49,96 ± 0,093	49,81 ± 0,44
Відносна похибка середнього значення, %	0,19	0,89

Аналізуючи експериментальні дані Таблиць 4 та 5, а також лінійність методики(п. 3.2.), можна зробити висновок, що результати корелюють між собою (правильність методики підтверджена), відносне стандартне відхилення не перебільшує 1 %, тобто спектрофотометричне визначення діючої речовини атенолол у лікарській формі є специфічним і допоміжні речовини, які входять до складу однієї таблетки не заважають визначенню.

Наступним кроком валідації методики було вивчення стабільності асоціату «атенолол - 2,3-дихлор-1,4-нафтохінон». Для цього проводили аналіз зміни величини абсорбції (оптичної густини А) від часу протягом 60 хвилин, Таблиця 6. Аналізуючи дані Таблиці 6 та статистичну оцінку результатів дослідження можна зробити висновок, що з часом кольорові асоціати не змінюють власну властивість світлопоглинання:

Таблиця 6.

Аналіз стабільності розчину іонного асоціату «атенолол - 2,3-дихлор-1,4-нафтохінон», концентрація атенололу 16,00мг/100 мл, довжина хвилі 493 нм.

								Середнє	RSD,%	Довірчий інтервал	Відносна похибка середнього значення	Дисперсія
t, хв.	0	10	20	30	40	50	60					
Оптична густина А	0,642	0,641	0,643	0,642	0,642	0,643	0,643	0,642	0,118	0,642 ± 0,000699	0,109	$5{,}714 \cdot 10^{-7}$

3.4Кількісне визначення атенололу у Зразках ацидиметрією з наступним визначенням кінця реакції потенціометрією.

Згідно Державної фармакопеї України та Європейської фармакопеї (Додаток 1 та Додаток 2) кількісно атенолол у субстанції визначають титриметричним кислотно-основним титрування (ацидиметрією), точку еквівалентності встановлюють потенціометрично. Оскільки точку еквівалентності у нормативних документах рекомендовано встановлювати інструментальними методами та враховуючи склад лікарської форми, ми спрогнозували, що допоміжні речовини не будуть заважати визначенню атенололу при виконанні такої комбінованої методики. Наші припущення ми перевіряли шляхом проведення неводного титрування досліджуваних Зразків, результати наведено у Таблиці 7.

Отже, аналізуючи отримані результати, можна зробити висновок, що середнє значення маси атенололу, яке було знайдено в результаті титрування відповідає концентрації діючої речовини, яка була заявлена виробником лікарської форми, відносне стандартне відхилення не перебільшує 1,0 %, тобто відповідає вимогам ДФУ [23-24].

Враховуючи вищезазначене, можна зробити висновок про можливість використання ацидиметричного потенціометричного кількісного визначення діючої речовини атенолол безпосередньо у лікарських формах.

Таблиця 7. Результати кількісного ацидиметричного потенціометричного визначення діючої речовини атенолол у Об’єктах дослідження.

Кількісний вміст знайденої діючої речовини атенолол, мг (враховуючи розведення)		
	Зразок 1	Зразок 2
	50,12 50,24 49,89 49,86 49,95	50,18 50,16 49,96 49,85 49,87
Середнє значення, $\bar{x}$	50,01	50,00
Стандартне відхилення, *s*	0,162	0,157
Дисперсія, s^2	0,0264	0,0247
Відносне стандартне відхилення, %	0,32	0,31
Довірчий інтервал	50,01 ± 0,19	50,00 ± 0,18
Відносна похибка середнього значення, %	0,37	0,36

ВИСНОВКИ

1. Проаналізовано фізико-хімічні, фармакологічні властивості атенололу у таблетках, механізм дії АФІ атенолол, метаболізм та токсичність.
2. Проаналізовано методики ідентифікації та кількісного визначення атенололу у таблетках.
3. Розроблена, апробована та часткова валідована методика кількісного визначення атенололу у таблетках спектрофотометрією у видимій області.
4. Проведено кількісне визначення атенололу у таблетках методом ацидиметричного титрування згідно ДФУ.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. https://www.webcardio.org/beta-adrenoblokatory-mekhanizmy-diji-klasyfikacija-pokazannja-i-protypokazannja-do-zastosuvannja.aspx
2. https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/2904/atenolol.
3. Фармацевтична хімія: Підручник. Ред. П.О. Безуглий. – Вінниця: Нова Книга, 2008 – 560с.
4. Довідник лікарських препаратів Компендіум [Електронний ресурс]. - Режим доступу:https://compendium.com.ua/
5. Фармакологія за Рангом і Дейлом, пер.9-го англ.вид. у 2-х томах Т.1/Джеймс М.Рітер, Род Флавер, ГремГендерсон, Юн Конг Лоук, Девід Мак К,юн, Гемфрі П Ранг; наук.ред.перекл. Ганна Зайченко, Микола Хайтович.-К.ВСВ ”Медицина“, 2021-588 с.
6. Фармакологія з основами патології / Колесник Ю.М.,Чекман І.С., Белєнічев І.Ф., Горчакова Н.О., Нагорна О.О., Бухтіярова Н.В., Моргунцова С.А., Зайченко Г.В. : підручник. Вінниця: Нова книга, 2021. – 572 с.
7. Побічна дія ліків: підручник для студентів вищих навчальних закладів медичної освіти/Белєнічев І.Ф., Горчакова Н.О., Бухтіярова Н.В, Самура Т.А., Бухтіарова Т.А., Нагорна О.О., Моргунцова С.А., Єгоров А.А., Риженко О.В., Тихоновський О.В. Запоріжський державний медичний Університет. Вінниця: Нова книга, 2021. – 360 с.

8. Фармакологія. Підручник для медичних і стоматологічного факультетів Вищих медичних навчальних закладів освіти. І.С.Чекман, В.М.Бобирьов, В.В.Кресюн, В.В.Годован, Н.О.Горчакова, Л.І.Казак, Т.В.Кава, Г.Ю.ОстровськаТ.А.Петрова, Л.М.Рябушко Вінниця: Нова книга, 2020. – 472 с.

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

10. Pharmacology / [M. A. Clark, R. Finkel, J. A. Rey et al.]. – [7th ed.]. – Baltimore : Lippincott Williams & Wilkins, 2018. – 638 p.

11. www.pharma-center.com.ua.веб-сайт ДЦФ МОЗ України [web-page] URL.

12. Державна Фармакопея України. – 2-е вид. – Харків : Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2015. – Т 1. – 2015. – 1128 с.

13. British Pharmacopeia. – Vol. 1–4. – London: The Stationary Office, 2009. – 10952. 6. United States Pharmacopeia 36. – USP Convention Inc. – Rockville, 2013. – 5640.

14. Portna, K. P., & Vasyuk, S. O. (2018). Кількісне визначення гліцину в лікарських формах за реакцією з 2,3-дихлор-1,4-нафтохіноном. *Фармацевтичний журнал*, (3), 78-83.

15. Практикум з аналітичної хімії. Навч. Посіб. Для студ. вищ. навч. закл. / В.В.Болотов, Ю.В.Сич, О.М.Свєчнікова та ін.; За аг. Ред.. В.В.Болотова. - Х: Вид-во НФаУ: Золоті сторінки.2003.- 240с.

16. Аналітична хімія. Підручник для вищих навчальних закладів / А.С. Алемасова, В.М. Зайцев, Л.Я. Єнальєва, Н.Д. Щепіна, С.М. Гождзінський / Під ред. В.М. Зайцева. – Донецьк: ДонНУ, 2009. – 415 с.

17. Zhuk Y. N. Quantitative determination of Atenolol in tablets / Y. N. Zhuk, S. O. Vasyuk // IJAPBC. – 2015. – Vol. 5, № 3. – P. 350–354.

18. Development and validation of an isocratic HPLC method for simultaneous determination of quaternary mixtures of antihypertensive drugs in pharmaceutical formulations / J. F. F. Anderson, M. C. G. Gerlin, R. A. Sversut [et al.] // Acta Chromatogr. – 2017. – № 1. – P. 95–110.

19. Dey S. Spectrophotometric method for simultaneous determination of atenolol and atorvastatin in tablet dosage forms / S. Dey, S. Sarkar, J. Malakar [et al.] // Int. J. Pharm. Biomed. Res. – 2012. – Vol. 3, № 1. – P. 40–43.

20. Patil P. A. Q-absorbance ratio spectrophotometric method for simultaneous determination of atenolol and ivabradine hydrochloride in synthetic mixture / P. A. Patil, H. A. Raj, G. B. Sonara // Pharm. and Biol. Eval. – 2016. – Vol. 3, № 2. – P. 224–230.

21. Maletska, O. R., & Vasyuk, S. O. (2021). Спектрофотометричне визначення атенололу в таблетках. *Фармацевтичний часопис*, (1), 50–58. https://doi.org/10.11603/2312-0967.2021.1.11935.

22. Donchenko A. O., & Vasyuk, S. O. (2017). Спектрофотометричне визначення атенололу у лікарських формах з використанням 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону. *Фармацевтичний часопис*, (4), 63–68. https://doi.org/10.11603/2312-0967.2017.4.8397.

23. 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.

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

ДОДАТКИ

Додаток 1. Витяг зДФУ.

Розчин порівняння (*a*). 10 мг *ФСЗ аспарагінової кислоти* розчиняють у 2 мл *аміаку розчину розведеного P1* і доводять об'єм розчину *водою P* до 50 мл.

Розчин порівняння (*b*). 5 мл випробовуваного розчину (b) доводять *водою P* до об'єму 20 мл.

Розчин порівняння (*c*). 10 мг *ФСЗ аспарагінової кислоти* і 10 мг *ФСЗ глутамінової кислоти* розчиняють у 2 мл *аміаку розчину розведеного P1* і доводять об'єм розчину *водою P* до 25 мл.

На лінію старту хроматографічної пластинки наносять по 5 мкл кожного розчину. Пластинку сушать на повітрі і поміщають у камеру із сумішшю розчинників *оцтова кислота льодяна P - вода P - бутанол P* (20:20:60). Коли фронт розчинників пройде 15 см від лінії старту, пластинку виймають із камери, сушать на повітрі й обприскують *нінгідрину розчином P*. Пластинку нагрівають при температурі від 100 °С до 105 °С протягом 15 хв.

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

Результати аналізу вважаються вірогідними, якщо на хроматограмі розчину порівняння (c) виявляються дві чітко розділені плями.

Хлориди (*2.4.4*). Не більше 0.02 % (200 ppm).

0.25 г субстанції розчиняють у 3 мл *азотної кислоти розведеної P* і доводять об'єм розчину *водою P* до 15 мл. Одержаний розчин, до якого додають 1 мл *води P* замість *азотної кислоти розведеної P*, має витримувати випробування на хлориди.

Сульфати (*2.4.13*). Не більше 0.03 % (300 ppm).

0.5 г субстанції розчиняють у 4 мл *хлористоводневої кислоти P* і доводять об'єм розчину *водою дистильованою P* до 15 мл. Через 30 хв одержаний розчин має витримувати випробування на сульфати.

Амонію солі (*2.4.1, метод B*). Не більше 0.02 % (200 ppm).

50 мг субстанції мають витримувати випробування на амонію солі. Еталон готують із використанням 0.1 мл *амонію еталонного розчину (100 ppm NH_4) P*.

Залізо (*2.4.9*). Не більше 0.001 % (10 ppm).

1.0 г субстанції в ділильній лійці розчиняють у 10 мл *хлористоводневої кислоти розведеної P* і струшують із 3 порціями, по 10 мл кожна, *метилізобутилкетону P1*, шоразу протягом 3 хв. До об'єднаних органічних шарів додають 10 мл *води P* і струшують протягом 3 хв. Одержаний водний шар має витримувати випробування на залізо.

Важкі метали (*2.4.8, метод D*). Не більше 0.001 % (10 ppm).

2.0 г субстанції мають витримувати випробування на важкі метали. Еталон готують із використанням 2 мл *свинцю еталонного розчину (10 ppm Pb) P*.

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

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

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

0.100 г субстанції, якщо необхідно, злегка нагріваючи, розчиняють у 50 мл *води, вільної від вуглецю діоксиду, P*, охолоджують і титрують *0.1 M розчином натрію гідроксиду* до переходу забарвлення від жовтого до синього, використовуючи як індикатор 0.1 мл *бромтимолового синього розчину P1*.

1 мл *0.1 M розчину натрію гідроксиду* відповідає 13.31 мг $C_4H_7NO_4$.

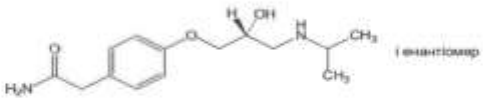
ЗБЕРІГАННЯ

У захищеному від світла місці.

АТЕНОЛОЛ

Atenololum

ATENOLOL



(енантіомер)

$C_{14}H_{22}N_2O_3$ **М.м. 266.3**

[29122-68-7]

2-[4-[(2*RS*)-2-Гідрокси-3-[(1-метилетил)аміно]пропокси]феніл]ацетамід.

Вміст: не менше 99.0 % і не більше 101.0 %, у перерахунку на суху речовину.

ВЛАСТИВОСТІ

Опис. Порошок білого або майже білого кольору.

Розчинність. Помірно розчинний у *воді Р*, розчинний в *етанолі Р*, мало розчинний у *метиленхлориді Р*.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

Перша ідентифікація: **C.**
Друга ідентифікація: **A, B, D.**

A. Температура плавлення (*2.2.14*). Від 152 °С до 155 °С.

B. Абсорбційна спектрофотометрія в ультрафіолетовій і видимій областях (*2.2.25*).

Випробовуваний розчин. 0.100 г субстанції розчиняють у *метанолі Р* і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 100 мл. 10.0 мл одержаного розчину доводять *метанолом Р* до об'єму 100 мл.

Область довжин хвиль: від 230 нм до 350 нм.

Абсорбційні максимуми: за довжин хвиль 275 нм і 282 нм.

Відношення оптичних густин: A_{275}/A_{282}: від 1.15 до 1.20.

C. Абсорбційна спектрофотометрія в інфрачервоній області (*2.2.24*).

Відповідність: спектру *ФСЗ атенололу*.

D. Тонкошарова хроматографія (*2.2.27*).

Випробовуваний розчин. 10 мг субстанції розчиняють в 1 мл *метанолу Р*.

Розчин порівняння. 10 мг *ФСЗ атенололу* розчиняють в 1 мл *метанолу Р*.

Пластинка: *ТШХ пластинка із шаром силікагелю силанізованого F_{254} Р*.

Рухома фаза: *аміаку розчин концентрований Р1 - метанол Р* (1:99).

Об'єм проб: 10 мкл.

Висушування: на повітрі.

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

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

ВИПРОБУВАННЯ

Розчин S. 0.10 г субстанції розчиняють у *воді Р* і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 10 мл.

Прозорість розчину (*2.2.1*). Розчин S має бути прозорим.

Кольоровість розчину (*2.2.2, метод II*). Забарвлення розчину S має бути не інтенсивнішим за еталон 6 шкали найбільш підхожого кольору.

Оптичне обертання (*2.2.7*). Від +0.10° до —0.10°. Визначення проводять для розчину S.

Супровідні домішки. Рідинна хроматографія (*2.2.29*).

Випробовуваний розчин. 50 мг субстанції розчиняють у 20 мл рухомої фази та доводять об'єм розчину рухомою фазою до 25.0 мл.

Розчин порівняння (a). 2 мг *ФСЗ атенололу для перевірки придатності хроматографічної системи* (містить домішки B, F, G, I та J) розчиняють в 1.0 мл рухомої фази.

Розчин порівняння (b). 1.0 мл випробовуваного розчину доводять рухомою фазою до об'єму 100.0 мл. 1.0 мл одержаного розчину доводять рухомою фазою до об'єму 10.0 мл.

Колонка:
— *розмір*: 0.125 м × 4.0 мм;
— *нерухома фаза*: *силікагель для хроматографії, октадецилсилільний, ендкепований Р* (5 мкм).

Рухома фаза: 1.0 г *натрію октансульфонату Р* і 0.4 г *тетрабутиламонію гідросульфату Р* розчиняють в 1 л суміші *тетрагідрофуран Р - метанол Р2* - розчин 3.4 г/л *калію дигідрофосфату Р* (20:180:800); pH доводять до 3.0 *фосфорною кислотою Р*.

Швидкість рухомої фази: 0.6 мл/хв.

Детектування: спектрофотометрично за довжини хвилі 226 нм.

Інжекції: 10 мкл.

Час хроматографування: у 5 разів більший часу утримування атенололу.

Ідентифікація домішок: використовують хроматограму, що додається до *ФСЗ атенололу для перевірки придатності хроматографічної системи*, та хроматограму розчину порівняння (a) для ідентифікації піків домішок B, F, G, I та J.

Відносні утримування до атенололу (час утримування атенололу близько 8 хв): домішки B — близько 0.3; домішки J — близько 0.7; домішки I — близько 0.8; домішки F — близько 2.0 (два піки); домішки G — близько 3.5.

Придатність хроматографічної системи: розчин порівняння (a):
— *ступінь розділення*: не менше 1.4 між піками домішок J (неідентифікована домішка) та I.

Нормування:
— *поправковий коефіцієнт*: для розрахунку вмісту множать площу піка домішки I на 1.5;
— *домішка B*: площа піка не має перевищувати 2 площі основного піка на хроматограмі розчину порівняння (b) (0.2 %);

Додаток 2. Витяг з Європейської фармакопеї.

solution (a), apart from the principal spot, is not more intense than the spot in the chromatogram obtained with reference solution (b) (0.5 per cent). The test is not valid unless the chromatogram obtained with reference solution (c) shows 2 clearly separated principal spots.

Chlorides (*2.4.4*). Dissolve 0.25 g in 3 mL of *dilute nitric acid R* and dilute to 15 mL with *water R*. The solution, to which 1 mL of *water R* is added instead of *dilute nitric acid R*, complies with the limit test for chlorides (200 ppm).

Sulfates (*2.4.13*). Dissolve 0.5 g in 4 mL of *hydrochloric acid R* and dilute to 15 mL with *distilled water R*. The solution complies with the limit test for sulfates (300 ppm). Carry out the evaluation of the test after 30 min.

Ammonium.(*2.4.1*) 50 mg complies with limit test B (200 ppm). Prepare the standard using 0.1 mL of *ammonium standard solution (100 ppm NH_4) R*.

Iron (*2.4.9*). In a separating funnel, dissolve 1.0 g in 10 mL of *dilute hydrochloric acid R*. Shake with 3 quantities, each of 10 mL, of *methyl isobutyl ketone R1*, shaking for 3 min each time. To the combined organic layers add 10 mL of *water R* and shake for 3 min. The aqueous layer complies with the limit test for iron (10 ppm).

Heavy metals (*2.4.8*). 2.0 g complies with test D (10 ppm). Prepare the reference solution using 2 mL of *lead standard solution (10 ppm Pb) R*.

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

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

ASSAY

Dissolve 0.100 g in 50 mL of *carbon dioxide-free water R*, with slight heating if necessary. Cool and add 0.1 mL of *bromothymol blue solution R1*. Titrate with *0.1 M sodium hydroxide* until the colour changes from yellow to blue.

1 mL of *0.1 M sodium hydroxide* is equivalent to 13.31 mg of $C_4H_7NO_4$.

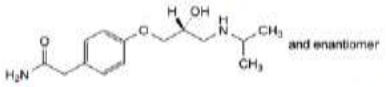
STORAGE

Protected from light.

04/2009:0703

ATENOLOL

Atenololum



$C_{14}H_{22}N_2O_3$ M_r 266.3
[29122-68-7]

DEFINITION

2-[4-[(2*RS*)-2-Hydroxy-3-[(1-methylethyl)amino]propoxy]-phenyl]acetamide.

Content: 99.0 per cent to 101.0 per cent (dried substance).

CHARACTERS

Appearance: white or almost white powder.

Solubility: sparingly soluble in water, soluble in anhydrous ethanol, slightly soluble in methylene chloride.

IDENTIFICATION

First identification: C.

Second identification: A, B, D.

A. Melting point (*2.2.14*): 152 °C to 155 °C.

B. Ultraviolet and visible absorption spectrophotometry (*2.2.25*).

Test solution. Dissolve 0.100 g in *methanol R* and dilute to 100 mL with the same solvent. Dilute 10.0 mL of this solution to 100 mL with *methanol R*.

Spectral range: 230-350 nm.

Absorption maxima: at 275 nm and 282 nm.

Absorbance ratio: A_{275}/A_{282} = 1.15 to 1.20.

C. Infrared absorption spectrophotometry (*2.2.24*).

Comparison: *atenolol CRS*.

D. Thin-layer chromatography (*2.2.27*).

Test solution. Dissolve 10 mg of the substance to be examined in 1 mL of *methanol R*.

Reference solution. Dissolve 10 mg of *atenolol CRS* in 1 mL of *methanol R*.

Plate: *TLC silanised silica gel F_{254} plate R*.

Mobile phase: *concentrated ammonia R1, methanol R* (1:99 *V/V*).

Application: 10 µL.

Drying: in air.

Detection: examine in ultraviolet light at 254 nm.

Results: the principal spot in the chromatogram obtained with the test solution is similar in position and size to the principal spot in the chromatogram obtained with the reference solution.

TESTS

Solution S. Dissolve 0.10 g in *water R* and dilute to 10 mL with the same solvent.

Appearance of solution. Solution S is clear (*2.2.1*) and not more intensely coloured than degree 6 of the range of reference solutions of the most appropriate colour (*2.2.2, Method II*).

Optical rotation (*2.2.7*): + 0.10° to − 0.10°, determined on solution S.

Related substances. Liquid chromatography (*2.2.29*).

Test solution. Dissolve 50 mg of the substance to be examined in 20 mL of the mobile phase and dilute to 25.0 mL with the mobile phase.

Reference solution (a). Dissolve 2 mg of *atenolol for system suitability CRS* (containing impurities B, F, G, I and J) in 1.0 mL of the mobile phase.

Reference solution (b). Dilute 1.0 mL of the test solution to 100.0 mL with the mobile phase. Dilute 1.0 mL of this solution to 10.0 mL with the mobile phase.

Column:

- *size*: *l* = 0.125 m, Ø = 4.0 mm;
- *stationary phase*: *end-capped octadecylsilyl silica gel for chromatography R* (5 µm).

Mobile phase: dissolve 1.0 g of *sodium octanesulfonate R* and 0.4 g of *tetrabutylammonium hydrogen sulfate R* in 1 L of a mixture of 20 volumes of *tetrahydrofuran R*, 180 volumes of *methanol R2*, and 800 volumes of a 3.4 g/L solution of *potassium dihydrogen phosphate R*; adjust the apparent pH to 3.0 with *phosphoric acid R*.

Flow rate: 0.6 mL/min.

Detection: spectrophotometer at 226 nm.

Injection: 10 µL.

Run time: 5 times the retention time of atenolol.

Identification of impurities: use the chromatogram supplied with *atenolol for system suitability CRS* and the chromatogram obtained with reference solution (a) to identify the peaks due to impurities B, F, G, I and J.

Relative retention with reference to atenolol (retention time = about 8 min): impurity B = about 0.3; impurity J = about 0.7; impurity I = about 0.8; impurity F = about 2.0 (pair of peaks); impurity G = about 3.5.

System suitability: reference solution (a):
- *resolution*: minimum 1.4 between the peaks due to impurities I (unidentified impurity) and I.

Limits:
- *correction factor*: for the calculation of content, multiply the peak area of impurity I by 1.5;
- *impurity B*: not more than twice the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (b) (0.2 per cent);
- *impurities F, G, I*: for each impurity, not more than 1.5 times the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (b) (0.15 per cent);
- *unspecified impurities*: for each impurity, not more than the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (b) (0.10 per cent);
- *total*: not more than 5 times the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (b) (0.5 per cent);
- *disregard limit*: 0.5 times the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (b) (0.05 per cent).

Chlorides (*2.4.4*): maximum 0.1 per cent.

Dissolve 50 mg in a mixture of 1 mL of *dilute nitric acid R* and 15 mL of *water R*. The solution, without further addition of *dilute nitric acid R*, complies with the test.

Loss on drying (*2.2.32*): maximum 0.5 per cent, determined on 1.000 g by drying in an oven at 105 °C.

Sulfated ash (*2.4.14*): maximum 0.1 per cent, determined on 1.0 g.

ASSAY

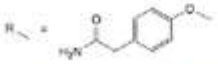
Dissolve 0.200 g in 80 mL of *anhydrous acetic acid R*. Titrate with *0.1 M perchloric acid*, determining the end-point potentiometrically (*2.2.20*).

1 mL of *0.1 M perchloric acid* is equivalent to 26.63 mg of $C_{14}H_{22}N_2O_3$.

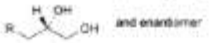
IMPURITIES

Specified impurities: *B, F, G, I.*

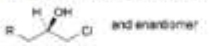
Other detectable impurities (the following substances would, if present at a sufficient level, be detected by one or other of the tests in the monograph. They are limited by the general acceptance criterion for other/unspecified impurities and/or by the general monograph *Substances for pharmaceutical use (2034)*. It is therefore not necessary to identify these impurities for demonstration of compliance. See also *5.10. Control of impurities in substances for pharmaceutical use*): *A, D, E, H.*



A. R-H: 2-(4-hydroxyphenyl)acetamide,

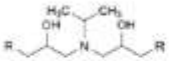


B. 2-[4-[(2*RS*)-2,3-dihydroxypropoxy]phenyl]acetamide,

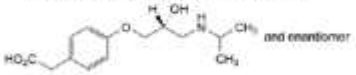


D. 2-[4-[(2*RS*)-3-chloro-2-hydroxypropoxy]phenyl]acetamide,

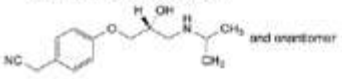
E. 2,2'-[(2-hydroxypropane-1,3-diyl)bis(oxy-4,1-phenylene)]diacetamide,



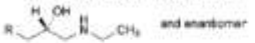
E. 2,2'-[[(1-methylethyl)imino]bis[(2-hydroxypropane-3,1-diyl)oxy-4,1-phenylene]]diacetamide,



G. 2-[4-[(2*RS*)-2-hydroxy-3-[(1-methylethyl)amino]-propoxy]phenyl]acetic acid,



H. 2-[4-[(2*RS*)-2-hydroxy-3-[(1-methylethyl)amino]-propoxy]phenyl]acetonitrile,

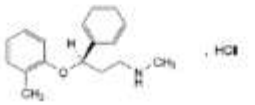


I. 2-[4-[(2*RS*)-3-(ethylamino)-2-hydroxypropoxy]-phenyl]acetamide.

01/2014:2640

ATOMOXETINE HYDROCHLORIDE

Atomoxetini hydrochloridum



$C_{17}H_{22}ClNO$ M_r 291.8

[82248-59-7]

DEFINITION

(3*R*)-*N*-Methyl-3-(2-methylphenoxy)-3-phenylpropan-1-amine hydrochloride.

Content: 98.0 per cent to 102.0 per cent (dried substance).

CHARACTERS

Appearance: white or almost white powder.

Solubility: sparingly soluble in water, soluble in anhydrous ethanol, practically insoluble in heptane.

It shows polymorphism (*5.9*).

IDENTIFICATION

A. Infrared absorption spectrophotometry (*2.2.24*).

Comparison: *atomoxetine hydrochloride CRS*.

If the spectra obtained in the solid state show differences, dissolve the substance to be examined and the reference substance separately in *anhydrous ethanol R*, evaporate to dryness and record new spectra using the residues.

B. Isomeric purity (see Tests).

C. It gives reaction (a) of chlorides (*2.3.1*).

TESTS

Isomeric purity. Liquid chromatography (*2.2.29*): use the normalisation procedure.

Test solution. Dissolve 35.0 mg of the substance to be examined in 2.5 mL of *anhydrous ethanol R*, sonicate until dissolution is complete and dilute to 10.0 mL with *heptane R*.

Reference solution (a). Dissolve 3.5 mg of *atomoxetine impurity B CRS* and 1 mg of *atomoxetine impurity D CRS* in 5 mL of *anhydrous ethanol R*, sonicate until dissolution is complete and dilute to 20.0 mL with *heptane R*.

Анотація (Summary)

Introduction. β-adrenergic blockers are widely used in modern clinical cardiology. Atenolol is a cardioselective drug that doctors recommend to patients with hypertension and ischemic diseases, arrhythmias, etc.

Purpose of the study. To develop and test a method for quantitative spectrophotometric determination of atenolol in tablets.

Research methods. Bibliosemantic method, spectrophotometry in the visible region.

Results. Analyzing the methods for quantitative determination of atenolol in medicines, we found that the active substance atenolol can be determined by HPLC and spectrophotometry in the UV region and in the visible region.

As objects of research we chose solid dosage forms, which are produced by domestic manufacturers (according to the instructions for use, each tablet contains 50 mg of the active substance atenolol). Taking into account the previous scientific developments of Ukrainian scientists Donchenko A and Vasyuk S and our own experimental studies, to determine the value of absorption we chose a wavelength of 493 nm. The measurement of the value of absorption was preceded by a photometric reaction with 2,3-dichloro-1,4-naphthoquinone, the value of optical density was measured on a SPECORD 200-222 U 214 spectrophotometer. The concentration of the active substance in the tablets was determined using a calibration graph by well-known analytical methods. The relative error of the mean value for the samples was 0.19% and 0.38%, respectively, the relative standard deviation for the samples was 0.16% and 0.33%, respectively. The intralaboratory accuracy was checked on the next calendar day under unchanged conditions for one of the samples, the relative error of the mean value did not exceed 1%. The stability of the ionic associate (IA) "atenolol - 2,3-dichloro-1,4-naphthoquinone" was analyzed as a function of optical density versus time for 60 minutes, the RSD

was 0.18%, i.e. the stability of IA (the concentration of atenolol in the tested solution was 16 mg/100 ml) is a constant value over time.

Conclusions. A method for the quantitative determination of atenolol in solid dosage forms has been developed and tested, and its partial validation has been performed.