

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 «**Кількісне визначення гліклазиду у таблетках**».

Виконала: здобувачка вищої освіти 5-го курсу, групи 118В1А
напряму підготовки 226 Фармація, промислова фармація

Єнніф Наталія Олегівна

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. Гліклазид, фізико-хімічні властивості, синтез, методи ідентифікації та кількісного визначення.	8
1.1.Фізико-хімічні властивості гліклазиду, ідентифікація та кількісне визначення.	8
1.2.Фармакологічні властивості гліклазиду, механізм дії.	10
1.3.Загальна характеристика інструментальних методів фармацевтичного аналізу.	11
Розділ 2. Експериментальна частина.	15
2.1. Матеріали та методи.	15
2.1.1. Мета дослідження.	15
2.1.2. Об'єкти дослідження.	15
2.1.3. Посуд та обладнання.	16
2.1.4. Реактиви.	16
2.1.5. Приготування розчинів.	17
2.1.6. Методики дослідження.	19
Розділ 3. Результати роботи та їх обговорення.	20
3.1. Результати спектрофотометричного визначення АФІ гліклазид у ТЛФ.	20
3.1.1. Аналіз залежності величини абсорбованого	21

монохроматичного світла (оптичної густини) від довжини хвилі λ .	
3.1.2. Градувальний графік.	22
3.1.3. Результати кількісного спектрофотометричного визначення гліклазиду у Об'єктах дослідження.	24
3.1.4. Вивчення стабільності розчину асоціату «АФІ – БКЗ» у залежності від часу.	26
3.1.5. Вивчення внутрішньолабораторної точності методики кількісного спектрофотометричного визначення гліклазиду у Об'єктах дослідження.	28
3.2. Кількісне визначення гліклазиду у Об'єктах дослідження методом ацидиметричного потенціометричного титрування.	29
Висновки.	31
Список використаних джерел.	32
Додатки.	36
Анотація (Summary).	39

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

ЦЛП – цукрознижувальні лікарські препарати

АФІ – активний фармацевтичний інгредієнт

ГЕ – гіпоглікемічний ефект

ВКР – випускна кваліфікаційна робота

РХ – рідинна хроматографія

ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія

ГГ – градуювальний графік

БКЗ – бромкрезоловий зелений

ФСЗ – фармакопейний стандартний зразок

ТЛФ – тверді лікарські форми

ЛЗ – лікарський засіб

ДФУ – державна фармакопея України

Ph.Eur. – European Pharmacopoeia

г – грам

мг – міліграм

мкг - мікрограм

мл – мілілітр

нм – нанометр

ВСТУП

У ХХІ столітті діабет II типу, нажаль, вже стає способом життя. За даними ВООЗ цією хворобою страждає майже 350 млн людей, діабет «молодшає», і до 2030 року (за прогнозами) вже стане кожною сьомою причиною смерті на планеті [1].

Цукрознижувальними лікарськими препаратами (ЦЛП) називають лікарські засоби, які мають можливість знижувати рівень глюкози у крові [2]. Хімічна будова ЦЛП може бути різноманітною, у клінічній практиці знайшли місце похідні сульфонілсечовини, які класифікують на препарати I та II покоління. До I покоління відносять карбутамід, толазамід, тольбутамід, хлорпропамід. До II покоління – глібенкламід, гліпізід, гліквідон, глімепірид, гліклазид. З хімічної точки зору можна вважати, що похідні сульфонілсечовини є заміщеними арилсульфоніл сечовинами, які розрізняються структурними заміщеннями на двох кінцях молекули [3].

ЦЛП використовують при терапії цукрового діабету II типу у нижче наведених випадках [4-11]:

При неефективності дієти та при наявності ожиріння;

При відсутності інсулінотерапії;

Для літніх пацієнтів.

Похідні сульфонілсечовини були вперше синтезовані у 1942 році, у 60-х роках минулого століття у клінічній практиці знайшов використання карбутамід, але згодом використання цього препарату було призупинено через небажаний вплив на кістковий мозок.

Гіпоглікемічний ефект (ГЕ) похідних сульфонілсечовини реалізується через панкреатичний та позапанкреатичний напрямки. Панкреатичний напрямок реалізується завдяки стимуляції специфічних рецепторів сульфонілсечовини, що мають місце знаходження на мембрані клітин підшлункової залози (ці мембрани регулюють активність АТФ-

чутливих каналів) [4-11]. Наслідком цього є закриття АТФ -каналів, деполяризація клітинної мембрани і відкриття кальцієвих каналів, що супроводжується посиленням секреції інсуліну, Рисунок 1.

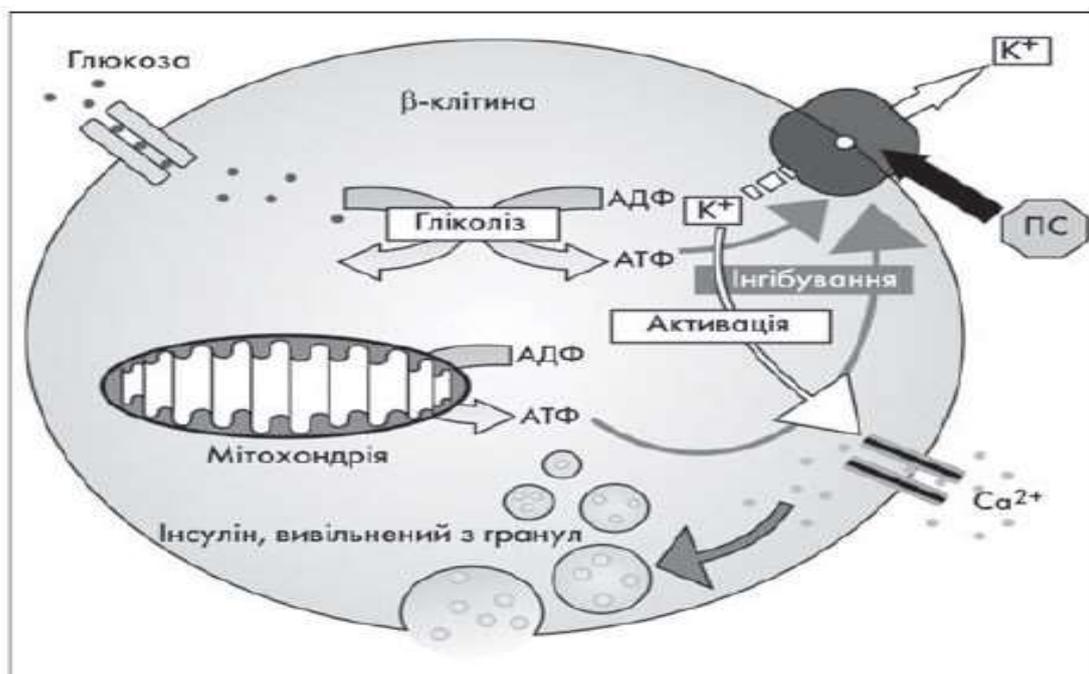


Рис. Механізм дії ПС

Рисунок 1. Діаграма механізму дії препаратів сульфонілсечовини, рисунок з сайту <https://uk.wikipedia.org/Сульфонілсечовина>.

Позапанкреатичний напрямок реалізується через збільшення кількості рецепторів до інсуліну, транспорт глюкози зростає, глікогеноліз та синтез глюкагону гальмуються.

Актуальність теми: Враховуючи широкую розповсюдженість у всьому світі діабету II типу, розробка нових експресних, чутливих та дешевих методик кількісного визначення сполук, які мають гіпоглікемічний ефект є актуальним.

Метою роботи була розробка та апробація методики спектрофотометричного визначення діючої речовини гліклазид таблеток.

Завдання дослідження:

1. Проаналізувати фізико-хімічні, фармакологічні властивості гліклазиду;
2. Провести аналіз методик ідентифікації та кількісного визначення гліклазиду у субстанції та лікарських засобах;
3. Спираючись на попередні наукові експериментальні дослідження розробити методику кількісного спектрофотометричного визначення гліклазиду у таблетках, виконати її апробацію та часткову валідацію;
4. Виконати кількісне визначення АФІ гліклазид у таблетках ацидиметричним потенціометричним титруванням.

Методи дослідження: спектрофотометрія, ацидиметричне потенціометричне титрування.

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 сторінках, додатків -1, рисунків- 8, таблиць- 5.

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

1.1. Фізико-хімічні властивості гліклазиду, ідентифікація та кількісне визначення.

Гліклазид є препаратом синтетичного походження, білий за кольором, практично нерозчинний у воді, але розчиняється у деяких органічних розчинниках (метиленхлориді, ацетоні, органічних спиртах), Рисунок 2:

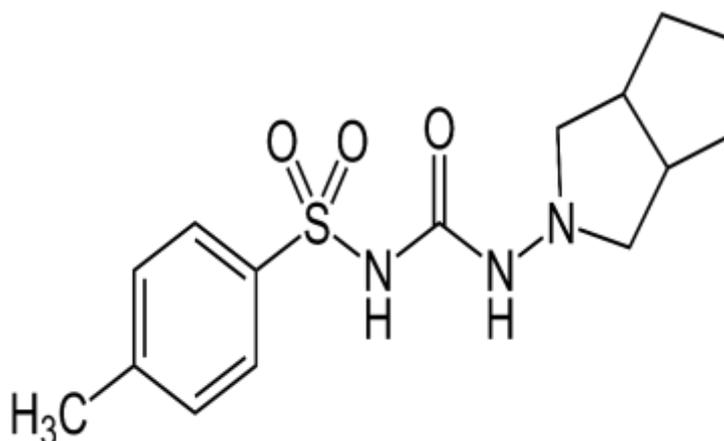
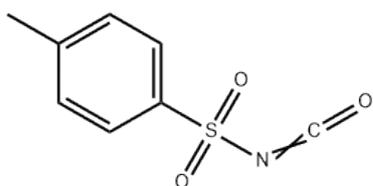


Рисунок 2. Гліклазид [12].

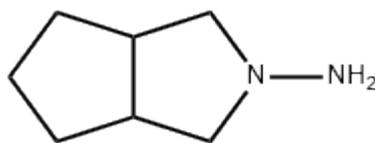
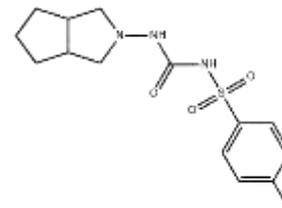
Молярна маса сполуки гліклазид 323,4 г/моль, брутоформула $C_{15}H_{21}N_3O_3S$. Плавиться гліклазид при температурі $180^{\circ}C$, збігають препарат у темному місті без доступу повітря. Міжнародна назва препарату 1-(3-азабіцикло[3.3.0]окт-3-іл)-3-п-толуолсульфанілсечовина[12].

Від інших похідних сульфонілсечовини, гліклазид відрізняється присутністю у будові гетероциклічного кільця, до складу якого входить елемент Нітроген, та відсутністю ендациклічних зв'язків.

Синтез гліклазиду може бути представлений декількома напрямками, один з найбільш відомих є взаємодія п-толуолсульфонілізоціанату з 3-аміно-3-азабіцикло[3.3.3]октаном:



п-толуолсульфонілізоціанат

3-аміно-
3азабіцикло[3.3.3]октан

гліклазид

Ідентифікацію сполуки гліклазид проводять фізико-хімічними методами за певними величинами (наприклад, за температурою плавлення).

Кількісно групу ЦЛП можна визначити низкою інструментальних методів, а саме електрохімічними, хроматографією (РХ, ВЕРХ), капілярним електрофорезом тощо[13-26]. Вітчизняні науковці та вчені з різних країн Євросоюзу роблять наголос на високій чутливості та селективності інструментальних методів, але, у деяких випадках методика є довготривалими, вимагають дороговартісного обладнання та висококомпетентного персоналу. Українські вчені Лелека Л. та Васюк С. розробили, апробували та валідували методику спектрофотометричного визначення діючої речовини гліклазид (об'єкти дослідження – ТЛФ) з сульфоталеїновим барвником БКЗ [26].

Згідно з Європейською фармакопеею [27] та фармакопеею США [28] сполуку гліклазид у субстанції визначають неводним ацидиметричним титруванням з наступним визначенням кінця реакції потенціометрією за нижченаведеною методикою:

0,25 г речовини розчиняють у 50 мл неводної етанової кислоти і титрують 0,1 М НСІО₄, 1 мл кислоти відповідає 32,34 мг гліклазиду (Додаток 1).

1.2. Фармакологічні властивості гліклазиду, механізм дії.

Гліклазид має здатність знижувати рівень глюкози у плазмі оскільки стимулює секрецію інсуліну клітинами острівців Лангерганса підшлункової залози. Гліклазид проявляє пролонговану дію (підвищення рівня постпрандіального інсуліну та секреція С-пептиду зберігається довгий час навіть після закінчення терапії). Клінічними дослідженнями доведено, що гліклазид має гемоваскулярні властивості (зменшує мікротромбоз). Препарат повністю абсорбується ШКТ, прийом їжі на абсорбцію не впливає. З протеїнами плазми крові гліклазид зв'язується кількісно (майже на 100%). Метаболізується препарат, переважно, у печінці, виводиться з сечею без змін приблизно 15 годин.

Нижче наведено протипоказання до прийому препарату:

- Гіперчутливість до сульфонілсечовини або до її похідних;
- Цукровий діабет I типу;
- Діабетичний кетоацидоз;
- Цукровий діабет I типу;
- Печінкова недостатність;
- Ниркова недостатність;
- Лікування препаратами міконазол та квінолоном;
- Грудне годування.

Лікарська взаємодія.

При одночасному застосуванні з *фенілбутазоном* посилюється гіпоглікемічний ефект, з *алкоголем* підвищується ризик виникнення небажаних гіпоглікемічних реакцій, з *даназолом та нейролептиками*

підвищується ризик виникнення глюкози у сечі та крові, з *глюкокортикоїдами* виникає ризик розвитку кетоацидозу, з *препаратами звіробою* – знижується концентрація гліклазиду у крові, з *антикоагулянтами* зростає сила останніх. При прийомі гліклазиду важливу роль грає регулярне повноцінне харчування, відсутність дисбалансу між фізичним навантаженням та вживанням вуглеводів.

Небажані ефекти пов'язані з неправильною терапією та виникненням гіпоглікемії.

1.3. Загальна характеристика інструментальних методів фармацевтичного аналізу.

Без інструментальних методів неможливо зараз представити якісний та кількісний аналіз у фармації оскільки точність методів перевищує точність класичних методів, іноді, у декілька разів. Якщо порівняти класичні методи кількісного аналізу (титриметричний аналіз, гравіметричний аналіз), переваги інструментальних методів дослідження будуть очевидними і, крім точності, необхідно виділити очевидну перевагу у експересності, селективності, автоматизації і комп'ютерній обробці результатів. Але, як і усі методи, інструментальні методи мають низку недоліків, а саме: необхідність використання стандартних розчинів (еталонів), дороговартість аналітичних визначень тощо. Класифікують інструментальні методи за природою аналітичного сигналу (параметру, який вимірюють приладами для подальших розрахунків або визначень) на три великі групи:

- *Електрохімічні* методи;
- *Оптичні* методи;
- *Хроматографічні* методи.

Аналітичними сигналами у електрохімічних методах є зміна сили струму, напруги, рівноважних електродних потенціалів, електропровідності тощо оскільки всі вони залежать від концентрації аналізованої речовини певними співвідношеннями.

У свою чергу електрохімічні методи також можна розділити на дві групи:

- методи, які відбуваються без перебігу електрохімічних реакцій на електродах або гальванічному елементі (кондуктометрія).
- методи, які відбуваються з перебігом електрохімічних реакцій на електродах або гальванічному елементі. Це кулонометрія, вольтамперометричні методи аналізу та потенціометрія.

В основі потенціометрії лежить вимірювання зміни потенціалу індикаторного електроду (аналітичний сигнал методу) від концентрації іонів хімічної речовини. Потенціометрія може бути представлена як прямим визначенням аналітичного сигналу методу і, відповідно, визначенням концентрації аналізованої речовини використовуючи Закон Нернста, так і потенціометричним титруванням. Останній метод можна використовувати при кількісних визначеннях органічних кислот, основ, солей. При потенціометричному титруванні відпадає необхідність використовувати індикатори (кольореагенти) оскільки точку еквівалентності визначають за зміною потенціалу індикаторного електрода.

В основі вольтамперометричних визначень покладено процеси електролізу, дослідник визначає силу струму. Полярографія є видом вольтамперометричного методу, мікроелектродом у методі є крапельний ртутний електрод (класична полярографія). Мікроелектрод має у діаметрі 0,03-0,05 мм, швидкість витікання ртуті (регулюється висотою стовпа ртуті) 1-10 крапель за 1 с.

Амперометричне титрування базується на визначенні точки еквівалентності за різкою зміною граничного дифузійного струму і може бути виконано на

полярографі з використанням твердих електродів, які виготовлено з інертних металів (платина, золото, вольфрам тощо) та які швидко обертаються зі швидкістю 500 об/хв.

Електрогравіметрія є методом, що базується на можливості кількісного виділення певної речовини на електроді. Найчастіше метод використовують для аналітичного визначення чистих металів.

Оптичні методи базуються на визначенні та вимірюванні параметрів (функції концентрації досліджуваної речовини), що характеризують взаємодію електромагнітного випромінювання із хімічними сполуками (абсорбція монохроматичного світла хімічною сполукою, кут обертання площини поляризованого променя світла тощо).

У сучасній фармації найбільш розповсюдженим методом є абсорбційна спектроскопія (заснована на вимірюванні зменшення інтенсивності потоку електромагнітного випромінювання). Сутність методу полягає у тому, що при поглинанні електромагнітного випромінювання, молекули або атоми сполуки переходять у збуджений стан. Енергія, яка була поглинена, витрачається на підвищення коливальної чи обертальної енергії, відбуваються різноманітні процеси. У залежності від типу поглинаючого випромінювання та способу перетворення надлишкової енергії речовиною виділяють нижче зазначені абсорбційні методи:

Молекулярна абсорбційна фотометрія. Заснована на вимірюванні поглинання електромагнітних випромінювань молекулами у різних областях спектру (УФ – видимій та ІЧ – області);

Нефелометрія та турбодиметрія. Методи базуються на визначенні розсіяного (поглинутого) світла замуленими частинками аналізованої речовини;

Люмінесцентний аналіз. Базується на вимірюванні потужності світла, яке виникає в результаті виділення надлишкової енергії збудженими молекулами речовини.

Атомно-абсорбційний аналіз. Базується на вимірюванні поглинання світла атомами аналізованої речовини.

Концентрацію аналізованої речовини визначають за середнім значенням молярного або питомого коефіцієнта світлопоглинання, за ГГ, за методом добавок.

Хроматографічні методи базуються на можливості розділення багатокомпонентних сумішей на монокомпонентні і на подальшому визначенні їх якісних або кількісних характеристик.

Існує низька класифікацій хроматографічних методів:

1. За агрегатним станом рухомої та нерухомої фази. Хроматографію розділяють на газову (газорідинна та газотвердофазна) та рідинну (рідинно-рідинна, рідинно-твердофазна та рідинно-гелева);
2. За механізмом взаємодії сорбенту та сорбату. Хроматографію розділяють на розподільну, адсорбційну, іонообмінну, ексклюзивну, афінну;
3. За технікою виконання. Хроматографію розділяють на колонкову, площинну, паперову, тонкошарову;
4. За метою проведення дослідів. Хроматографію класифікують на аналітичну, препаративну, промислову.

Результати аналізують за хроматограмами, спосіб отримання яких може бути елюентним, витіснювальним та фронтальним.

При розробці методики у практичній частині ВКР, спираючись на раніше проведені експерименти, ми використовували спектрофотометрію та метод ацидиметричного неводного потенціометричного титрування.

Розділ 2. Експериментальна частина.

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

2.1. Матеріали та методи.

2.1.1. Мета дослідження.

Метою нашого дослідження було розробити методикку спектрофотометричного визначення гліклазиду у ТЛФ, виконати її апробацію та часткову валідацію.

2.1.2. Об'єкти дослідження.

Об'єктами дослідження (Рисунок 3) ми обрали ТЛФ, які випускаються фармацевтичною промисловістю України та Болгарії. До складу кожної таблетки входить гліклазид, але маса АФІ у Зразку 1 – 60 мг, у Зразку 2 – 80 мг. Нижче наведено склад допоміжних речовин у Зразках:

Зразок №1.

Лактози моногідрат, гіпромелоза, целюлоза мікрокристалічна, кремнію діоксид колоїдний, магнію стеарат.

Зразок №2.

Лактози моногідрат, целюлоза мікрокристалічна, повідон, кремнію діоксид колоїдний безводний, кальцію стеарат.

Зразок 1

Зразок 2



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

2.1.3. Посуд та обладнання.

1. Хімічний посуд класу А.
2. Терези лабораторні ГВЕ-0,21-0,001-а-2 (Додаток 2).
3. Порцелянова ступка з товчачиком.
4. Спектрофотометр SPECORD 200-222 U 214 (Додаток 2).
5. Іонмір лабораторний «И-130», електроди хлоридосрібний та платиновий.
6. Магнітний змішувач.

2.1.4. Реактиви.

1. Фармакопейний стандартний зразок гліклазиду, каталожний номер G0177, реєстраційний номер 21187-98-4.
2. Ацетон, виробництва Україна.
3. Розчин бромкрезолового зеленого (БКЗ), приблизна концентрація 0,5%.
4. Етанова кислота неводна.
5. Кислота HClO_4 концентрації 0,1М.
6. Вода деіонізована.

2.1.5. Приготування розчинів.

Приготування розчину індикатора БКЗ приблизної концентрації 0,5%:

На терезах лабораторних (Додаток 2) зважували 0,5 г кристалічного БКЗ (Рисунок 4) та розчиняли у 100 мл ацетону:

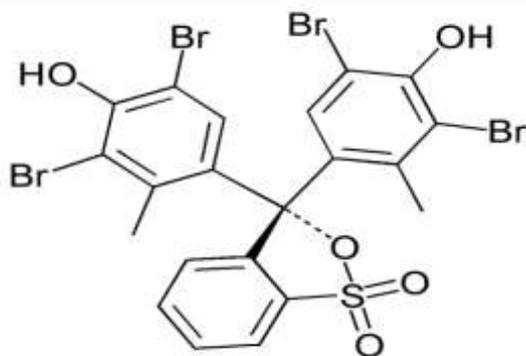


Рисунок 4. Бромкрезоловий зелений.

Приготування розчину ФСЗ гліклазиду концентрації 20,0 мг/100 мл.

На аналітичних терезах зважували 20 мг кристалічного ФСЗ, вміщували у мірну колбу на 100 мл. Доводили до позначки ацетоном. Перемішували до стану гомогенності.

Приготування розчинів Зразків.

- *Зразок 1. Для спектрофотометричного визначення, концентрація гліклазиду 15 мг/100 мл.*

У порцеляновій ступці розтирали 1 таблетку, кількісно вміщували у мірну колбу на 100 мл, розчиняли у ацетоні, струшували. Фільтрували. Відбирали аліквоту 25 мл приготованого розчину, вміщували у мірну колбу на 100 мл, доводили ацетоном до позначки.

- *Зразок 1. Для ацидиметричного потенціометричного визначення.*

6 таблеток, до складу яких входить гліклазид, розтирали у порцеляновій ступці, кількісно вміщували у мірну колбу на 25 мл, розчиняли в ацетоні.

- *Зразок 2. Для спектрофотометричного визначення, концентрація гліклазиду 15 мг/100 мл.*

У порцеляновій ступці розтирали 1 таблетку, кількісно вміщували у мірну колбу на 100 мл, розчиняли у ацетоні, струшували. Фільтрували. Відбирали аліквоту 18,75 мл приготованого розчину, вміщували у мірну колбу на 100 мл, доводили ацетоном до позначки.

- *Зразок 2. Для ацидиметричного потенціометричного визначення.*

4 таблетки, до складу яких входить гліклазид, розтирали у порцеляновій ступці, кількісно вміщували у мірну колбу на 25 мл, розчиняли в ацетоні.

Приготування розведених стандартних розчинів гліклазиду концентрації 5,0-20,0 мг/100 мл для побудови градуювального графіка.

Відбирали аліквоти (Таблиця 1) ФСЗ гліклазиду концентрації 20,0 мг/100 мл, вміщували у мірні колби на 25 мл, доводили ацетоном до позначки:

Таблиця 1. Приготування розведених стандартних розчинів гліклазиду.

№	Аліквоти розчину ФСЗ гліклазиду концентрації 20,0 мг/100 мл, мл	Концентрація розведеного ФСЗ, мг/100 мл
1	6,25	5,0
2	9,37	7,5
3	12,5	10,0
4	18,75	15,0
5	21,87	17,5

6	0	20,0
---	---	------

2.1.6. Методики дослідження.

Методика кількісного спектрофотометричного визначення гліклазиду.

2,5 мл аналізованого розчину вміщують у мірну колбу на 10 мл, додають 1 мл приготованого розчину БКЗ, доводять до позначки ацетоном. Струшують. Вимірювання оптичної густини проводять при 411 нм на фоні компенсаційного розчину у кюветах з товщиною 10 мм. Концентрацію аналізованої речовини встановлюють за градуовальним графіком.

Методика кількісного ацидиметричного потенціометричного визначення гліклазиду.

10 мл приготованого аналізованого розчину вміщують у хімічний стакан для титрування, занурюють до розчину гальванічний елемент (хлоридосрібний та платиновий електрод). При постійному перемішуванні починають титрування та вимірюють зміну потенціалу індикаторного електроду. Після визначення об'єму титранту, який відповідає точці еквівалентності, проводять розрахунки маси діючої речовини (враховуючи розведення), використовуючи стандартні математичні співвідношення, що мають місце у об'ємних методах дослідження.

Розділ 3. Результати роботи та їх обговорення.

Як було з'ясовано раніше, для кількісного визначення діючої речовини у цукрознижувальних лікарських препаратах застосовують, переважно, хроматографічні та спектрофотометричні методики. Хроматографічні методи, безумовно, є найбільш сучасними, але, основним недоліком методик є те, що аналізи є високо економічними (оскільки обладнання для виконання є дорого вартісним), методики не завжди доступні та екологічні, тому, при визначенні концентрації діючої речовини у ЦЛП хроматографія, з нашої точки зору, поступається спектрофотометричним методам. При проведенні кількісних вимірювань величини абсорбції у видимій та ІЧ – області спектра нерідко кольоровими реагентами обирають сульфогфталейнові барвники завдяки утворенню міцних асоціатів через зв'язок «Сульфур - Нітроген». Так, українська вчена Лелека Л. розробила методики кількісного визначення метформіну гідрохлориду, гліклазиду та глібенкламіду з бромкрезоловим зеленим. Встановлено умови утворення асоціатів АФІ-БКЗ (температура, середовище, розчинник, найоптимальніша довжина хвилі вимірювання тощо) [26].

3.1. Результати спектрофотометричного визначення АФІ гліклазид у ТЛФ.

При розробці методики кількісного спектрофотометричного визначення АФІ гліклазид у таблетках, виникає питання щодо використання органічних розчинників для приготування розчинів. Ми взяли до уваги умовиводи запорізьких вчених про те, що максимальна абсорбція монохроматичного світла асоціату «АФІ – БКЗ» спостерігається у ацетоновому середовищі [26]. Враховуючи це, наступним етапом розробки методики було визначення найоптимальнішої довжини світла, при якій доцільно проводити визначення[29-31].

3.1.1. Аналіз залежності величини абсорбованого монохроматичного світла (оптичної густини) від довжини хвилі λ .

Визначення найоптимальнішої довжини світла λ , при якій найдоцільніше проводити дослідження, вирішували через аналіз спектра поглинання асоціату «АФІ-БКЗ». Для побудови кривої ($A = f(\lambda)$) вимірювали оптичну густину асоціату АФІ -БКЗ в інтервалі 390-420 нм стандартного розведеного розчину гліклазиду з концентрацією 15 мг/100 мл, результати представляли графічно, Рисунок 5:

λ	390	400	405	408	411	415	419	420
A	0,12	0,23	0,31	0,64	0,92	0,22	0,16	0,11

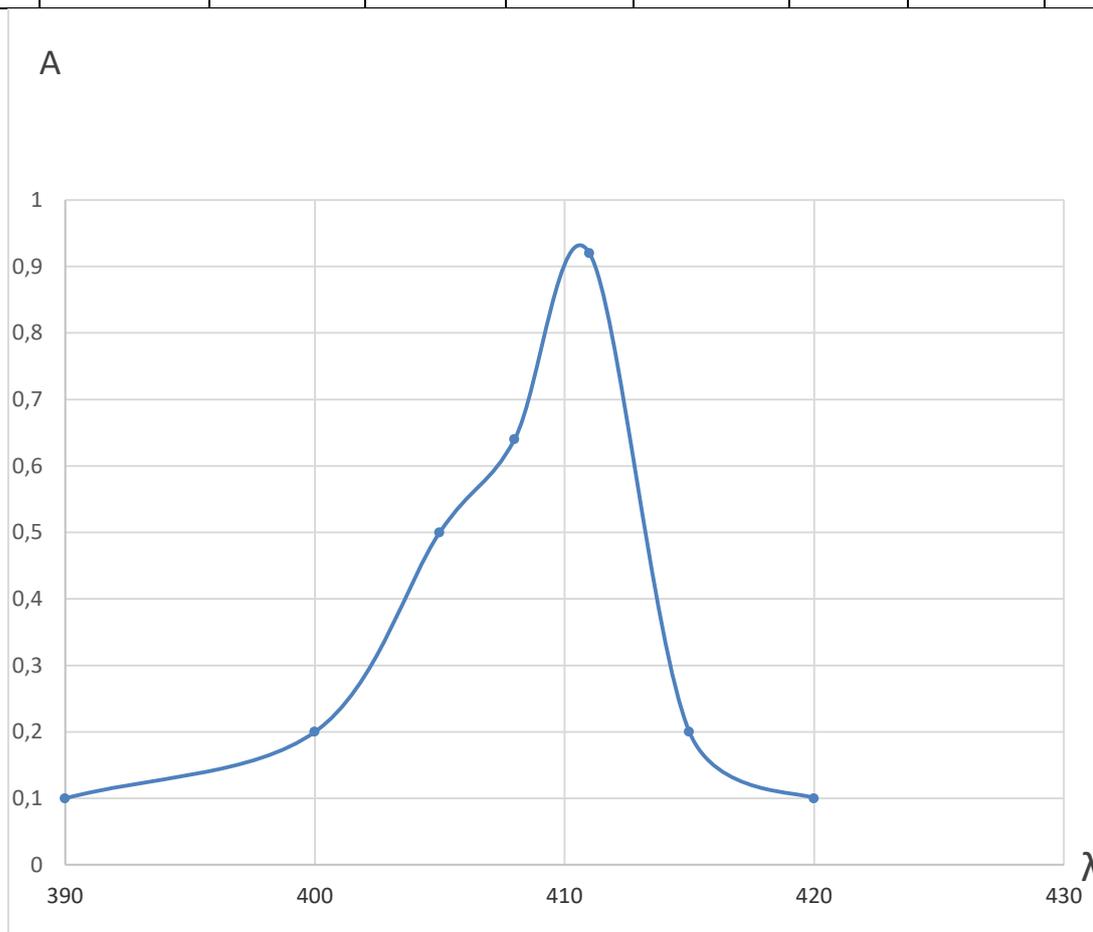


Рисунок 5. Спектр поглинання асоціату «АФІ – БКЗ», концентрація АФІ 15 мг/100 мл.

З Рисунку 5 можна зробити висновок, що найоптимальнішою довжиною хвилі є 411 нм, тому усі подальші вимірювання аналітичного сигналу методу (оптичної густини А) ми проводили саме при цьому значенні довжини хвилі.

3.1.2. Градувальний графік.

Концентрацію АФІ у лікарському засобі ми знаходили за методом градувального графіка [30-31]. Градувальний графік будували як залежність величини абсорбції (оптичної густини А) від концентрації розведених стандартних розчинів (Таблиця 1).

Результати представляли у вигляді Таблиці 2 та графічно (Рисунок б), статистичну обробку результатів проводили згідно ДФУ[32-33]:

Таблиця 2. Оптична густина А стандартних розведених розчинів гліклазиду.

№	Концентрація стандартного розведеного розчину, мг/ 100 мл	Оптична густина А
1	5,0	0,09
2	7,5	0,31
3	10,0	0,52
4	15,0	0,93
5	17,5	1,15
6	20,0	1,38

Функція лінійної регресії має вигляд $y = 0,0851 \cdot x - 0,3343$, коефіцієнт кореляції $R^2 = 0,9997$.

Розрахунок стандартних відхилень та довірчих інтервалів коефіцієнтів лінійної регресії:

$$s_0^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - Y_i)^2}{v} = 0,000374$$

$$s_b^2 = \frac{n \cdot s_0^2}{n \cdot \sum_{i=1}^n x_i^2 - (\sum_{i=1}^n x_i)^2} = 1,03648 \cdot 10^{-6}$$

$$s_a^2 = \frac{s_b^2}{n} \cdot \sum_{i=1}^n x_i^2 = 0,0001647$$

$$s_b = \sqrt{s_b^2} = 0,001018$$

$$s_a = \sqrt{s_a^2} = 0,012835$$

Отже, стандартне відхилення для коефіцієнта a складає 0,012835, для коефіцієнта b – 0,001018.

Для розрахунку довірчого інтервалу виписуємо значення коефіцієнта Стюдента при довірчій ймовірності $P = 0,95$ та ступенях свободи $v = 4 - t(0,95; 4) = 2,7764$.

Розраховуємо довірчий інтервал для коефіцієнта a :

$$a \pm s_a \cdot t(0,95; 4) = 0,3343 \pm 0,03563$$

Розраховуємо довірчий інтервал для коефіцієнта b :

$$b \pm s_b \cdot t(0,95; 4) = 0,0851 \pm 0,00283$$

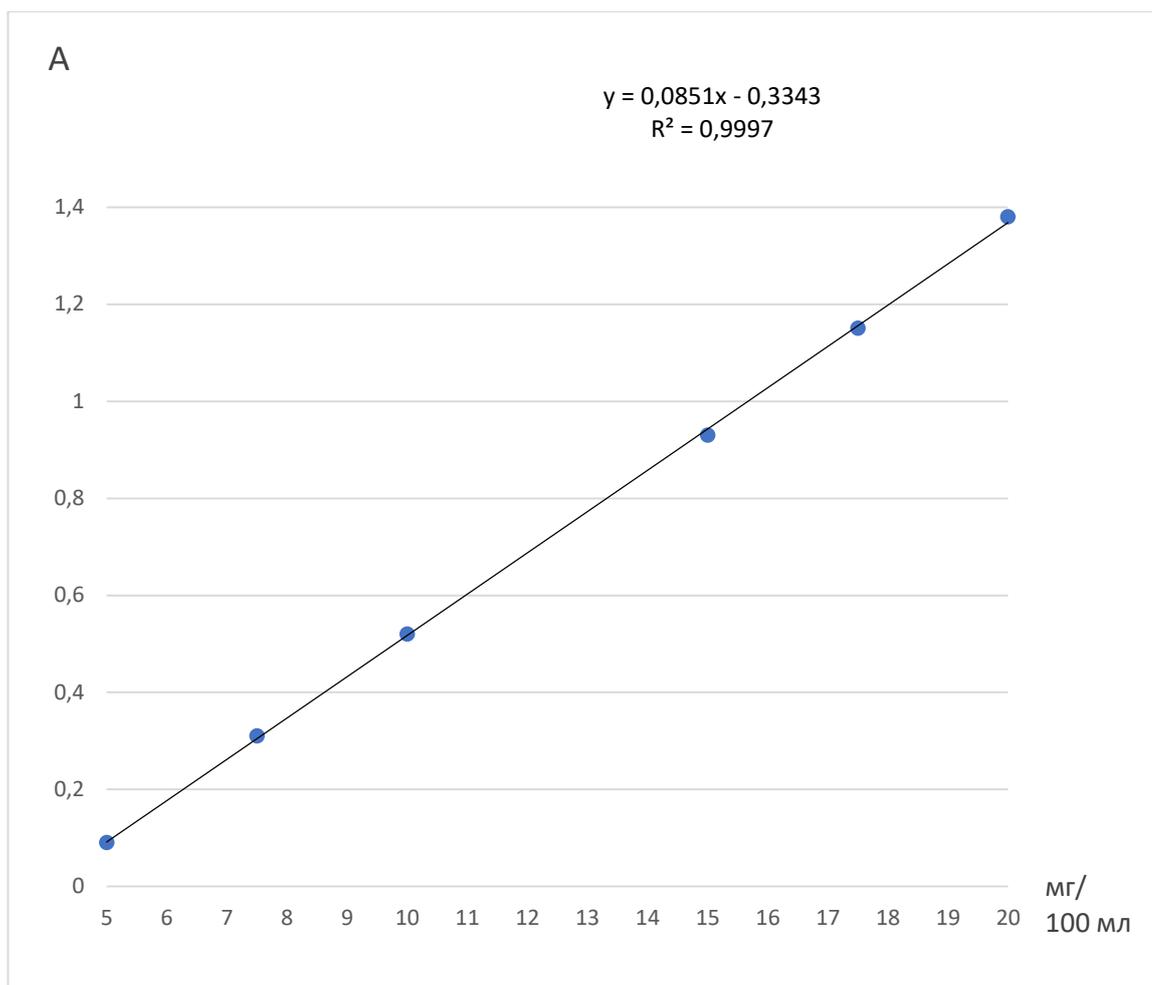


Рисунок 6. Градувальний графік.

3.1.3. Результати кількісного спектрофотометричного визначення гліглазиду у Об'єктах дослідження.

Після побудови ГГ та статистичної обробки результатів, ми вимірювали оптичну густину досліджуваних розчинів, потім за ГГ визначали концентрацію АФІ. Результати кількісного визначення гліглазиду у Об'єктах дослідження представлено у Таблиці 3:

Таблиця 3. Результати кількісного спектрофотометричного визначення АФІ гліклазид у Об'єктах дослідження.

Об'єкти дослідження	Концентрація гліклазиду, мг, враховуючи розведення	
	Зразок 1	Зразок 2
	60,04	80,13
	60,11	80,11
	59,98	79,88
	59,94	79,94
	59,92	79,91
Середнє значення,	60,00	79,99
Стандартне відхилення, s	0,0776	0,117
Дисперсія, s^2	0,00602	0,0137
Відносне стандартне відхилення, %	0,129	0,146
Довірчий інтервал,	$60,00 \pm 0,096$	$79,99 \pm 0,15$
Відносна похибка середнього значення, %	0,096	0,14

Проводячи аналіз експериментальних даних, можна зробити висновок, що результати відповідають ДФУ [32-33], відносна похибка середнього значення не перебільшує 0,2%, відносне стандартне відхилення не перебільшує 0,15%. Допоміжні речовини не заважають визначенню, методику спектрофотометричного кількісного визначення гліклазиду можна вважати специфічною.

3.1.4. Вивчення стабільності розчину асоціату «АФІ – БКЗ» у залежності від часу.

Стабільність розчину асоціату «АФІ -БКЗ» вивчали як залежність величини абсорбції від часу, для цього вимірювання оптичної густини проводили кожні 10 хвилин, концентрація АФІ у розчині становила 15 мг/100 мл. Результати вивчення стабільності асоціату наведено у Таблиці 4. Аналізуючи дані Таблиці 4 можна зробити висновок, що розчини є стабільними у часі оскільки RSD становить 0,186%, що відповідає вимогам ДФУ [32-33]:

Таблиця 4.

Вивчення стабільності асоціату «АФІ -БКЗ» як функція часу, концентрація розчину 15 мг/100 мл.

								Середнє	RSD,%	Довірчий інтервал	Відносна похибка середнього значення	Дисперсія
t, хв.	0	10	20	30	40	50	60					
Оптична густина А	0,921	0,922	0,922	0,924	0,925	0,925	0,925	0,923	0,186	0,923 ± 0,00159	0,172	2,952·10 ⁻⁶

3.1.5. Вивчення внутрішньолабораторної точності методики кількісного спектрофотометричного визначення гліклазиду у Об'єктах дослідження.

Для вивчення внутрішньолабораторної точності методики спектрофотометричного визначення АФІ у твердих лікарських формах ми проводили спектрофотометричні вимірювання на наступний день для Зразка 1. Результати кількісного визначення гліклазиду та аналіз результатів представлено у Таблиці 5:

Таблиця 5. Оцінка внутрішньолабораторної точності кількісного спектрофотометричного визначення гліклазиду у Об'єктах дослідження.

Зразок 1	Концентрація гліклазиду, мг, враховуючи розведення	
	День 1	День 2
	60,04	60,13
	60,11	60,12
	59,98	59,89
	59,94	59,93
	59,92	59,95
Середнє значення,	60,00	60,00
Стандартне відхилення, s	0,0776	0,112
Дисперсія, s^2	0,00602	0,0127
Відносне стандартне відхилення, %	0,129	0,188
Довірчий інтервал,	60,00 \pm 0,096	60,00 \pm 0,14
Відносна похибка середнього значення, %	0,16	0,23

Після статистичної обробки результатів можна зробити висновок, що експериментальні дані корелюють між собою, тому методику можна вважати правильною.

3.2. Кількісне визначення гліклазиду у Об'єктах дослідження методом ацидиметричного потенціометричного титрування.

У Європейській Фармакопеї (Додаток 1) представлена методика кількісного визначення гліклазиду ацидиметричним потенціометричним титруванням. Для порівняння результатів кількісного визначення АФІ у Об'єктах дослідження спектрофотометрією та ацидиметричним потенціометричним титруванням ми провели об'ємне визначення АФІ у Зразках, результати представлено у Таблиці 6. Враховуючи дані Таблиці 6 можна стверджувати, що результати відповідають нормативам [32-33] і корелюють з експериментальними даними, які були отримано нами у результаті спектрофотометричних визначень, але, з точки зору виконання дослідження, на нашу думку, спектрофотометрія є більш експресним методом:

Таблиця 6. Результати кількісного ацидиметричного потенціометричного титрування АФІ гліклазид у Об'єктах дослідження.

Кількісний вміст знайденої діючої речовини гліклазид, мг (враховуючи розведення)		
	Зразок 1	Зразок 2
	60,12	80,40
	60,32	80,33
	60,23	59,57
	59,97	59,79
	59,88	59,95
Середнє значення, \bar{x}	60,10	80,01
Стандартне відхилення, s	0,181	0,353
Дисперсія, s^2	0,0327	0,125
Відносне стандартне відхилення, %	0,301	0,442
Довірчий інтервал	60,10 \pm 0,22	80,01 \pm 0,44
Відносна похибка середнього значення, %	0,37	0,55

ВИСНОВКИ

1. Проаналізовано фізико-хімічні, фармакологічні властивості гліклазиду у субстанції та лікарських засобах;
2. Проаналізовано методики ідентифікації та кількісного визначення гліклазиду у субстанції та лікарських засобах;
3. Спираючись на попередні наукові експериментальні дослідження розроблена методика кількісного спектрофотометричного визначення гліклазиду у таблетках, виконана її апробація та часткова валідація;
4. Виконане кількісне визначення АФІ гліклазид у таблетках ацидиметричним потенціометричним титруванням.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. IDF Diabetes Atlas 10th Edition: International Diabetes Federation. URL: <https://diabetesatlas.org>.
2. <https://uk.wikipedia.org/Гіполіпідемічні> засоби.
3. Mu W., Jiang Y., Liang G., Feng Y., Qu, F. Metformin: A Promising Antidiabetic Medication for Cancer Treatment. *Current drug targets*. 2023. Vol. 24, № 1. P. 41–54.
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., Беленічев 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/Беленічев І.Ф., Горчакова Н.О., Бухтіярова Н.В, Самура Т.А., Бухтіярова 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. <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/2988/gliklazid>.
13. Wang C. Y., Zhang W., Xiang B. R., Yu L. Y., Ma P. C. Liquid chromatography–mass spectrometry method for the determination of gliclazide in human plasma and application to a pharmacokinetic study of gliclazide sustained release tablets. *Arzneimittel Forschung*. 2008. Vol. 58, № 12. P. 653-658.
14. Kumar B. V. V., Patnaik A. K., Raul S. K., Rao N. N. (2013). A RP-HPLC method development and validation for the estimation of gliclazide in bulk and pharmaceutical dosage forms. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2013. Vol. 3, № 4. P. 59-62.
15. Gandhimathi M., Anandakumar K., Cheriyan A., Ravi T. K. Simultaneous estimation of Metformin and gliclazide in tablet using reverse phase high performance liquid chromatography. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2003. Vol. 65. P. 530-531.
16. Krzek J., Czekaj J., Moniczewska M., Rzeszutko W. Determination of Gliclazide in Pharmaceutical Preparations by Capillary Gas Chromatography with Cool On-Column Injection and Elimination of the Matrix Effect. *Journal of AOAC International*. 2001. Vol. 84, № 6. P. 1695-1702.
17. Bhattacharya K., Mathew J. Development and validation of stability indicating UPLC method for the determination of gliclazide and its

- impurities in pharmaceutical dosage forms. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2021. Vol. 7. P. 95.
18. Wang X., Zhang C. Determination of Gliclazide in Dameikang Tablets by Internal Standard Method of Nuclear Magnetic Resonance[J]. *Experiment Science and Technology*. 2022. Vol. 20, № 3. P. 7-10.
 19. Reichal C.R., Rao M.G. Development and validation of spectrophotometric method for simultaneous estimation of gliclazide and sitagliptin phosphate monohydrate in bulk and pharmaceutical dosage form. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2015. № 7. P. 372-376.
 20. Jeha B., Salami M. Spectrophotometric Determination of Gliclazide in Bulk and Pharmaceutical Formulation using 1, 2-naphthoquinone-4-sulfonic acid Sodium salt. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 2019. Vol. 12, № 11. P. 5310-5314.
 21. Doomkaew A., Prutthiwanasan B., Suntornsuk L. Stability indicating MEKC method for the determination of gliclazide and its specified impurities. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2015. Vol. 102. P. 119-128.
 22. Sasongko L., Pratiwi G. K., Leo M., Adiwidjaja J. Simultaneous HPLC Assay of Gliclazide and Ciprofloxacin in Plasma and its Implementation for Pharmacokinetic Study in Rats. *Journal of chromatographic science*. 2021. Vol. 59, № 4. P. 338–346.
 23. Foroutan S. M., Zarghi A., Shafaati A., Khoddam A. Application of monolithic column in quantification of gliclazide in human plasma by liquid chromatography. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 2006. Vol. 42, № 4. P. 513–516.
 24. Park J. Y., Kim K. A., Kim S. L., Park P. W. Quantification of gliclazide by semi-micro high-performance liquid chromatography: application to a bioequivalence study of two formulations in healthy subjects. *Journal of*

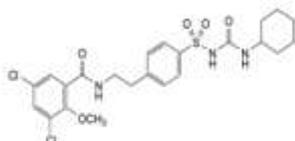
- pharmaceutical and biomedical analysis. 2004. Vol. 35, № 4. P. 943–949.
25. Kuo C. Y., Wu S. M. High-performance liquid chromatography with electrochemical detection for analysis of gliclazide in plasma. *Journal of chromatography. A*. 2005. Vol. 1088, № 1-2. P. 131–135.
26. Leleka, L., Vasyuk, S. Spectrophotometric Method Development and Validation for Gliclazide Quantitation in Tablets. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*. 2022. Vol. 46, № 3. P 920-930.
27. *European Pharmacopoeia*. 8th ed. Strasbourg, France: Council of Europe, 2013.
28. *United States Pharmacopoeia*. Rockville: USP Convention Inc., 2008. 2905 p.
29. *Фармацевтична хімія: Підручник*. Ред. П.О. Безуглий. – Вінниця: Нова Книга, 2008 – 560с.
30. *Практикум з аналітичної хімії. Навч. Посіб. Для студ. вищ. навч. закл.* / В.В.Болотов, Ю.В.Сич, О.М.Свечнікова та ін.; За аг. Ред.. В.В.Болотова. - Х: Вид-во НФаУ: Золоті сторінки.2003.- 240с.
31. *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.
32. *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.
33. 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 з Європейської Фармакопеї.

Gliclazide

EUROPEAN PHARMACOPOEIA 8.0

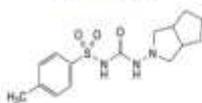


E. 1-cyclohexyl-3-[4-[2-[(3,5-dichloro-2-methoxybenzoyl)amino]ethyl]phenyl]sulfonyl]urea.

01/2008:1524
corrected 6.0

GLICLAZIDE

Gliclazidum



$C_{17}H_{21}N_3O_2S$
(21187-98-4)

M, 323.4

DEFINITION

1-(Hexahydrocyclopenta[c]pyrrol-2(1H)-yl)-3-[4-(4-methylphenyl)sulfonyl]urea.

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

CHARACTERS

Appearance: white or almost white powder.

Solubility: practically insoluble in water, freely soluble in methylene chloride, sparingly soluble in acetone, slightly soluble in ethanol (96 per cent).

IDENTIFICATION

Infrared absorption spectrophotometry (2.2.24).

Preparation: discs.

Comparison: gliclazide CRS.

TESTS

Related substances. Liquid chromatography (2.2.29). Prepare the solutions immediately before use.

Solvent mixture: acetonitrile R, water R (45:55 V/V).

Test solution. Dissolve 50.0 mg of the substance to be examined in 25 mL of acetonitrile R and dilute to 50.0 mL with water R.

Reference solution (a). Dilute 1.0 mL of the test solution to 100.0 mL with the solvent mixture. Dilute 10.0 mL of this solution to 100.0 mL with the solvent mixture.

Reference solution (b). Dissolve 5 mg of the substance to be examined and 15 mg of gliclazide impurity F CRS in 25 mL of acetonitrile R and dilute to 50 mL with water R. Dilute 1 mL of this solution to 20 mL with the solvent mixture.

Reference solution (c). Dissolve 10.0 mg of gliclazide impurity F CRS in 45 mL of acetonitrile R and dilute to 100.0 mL with water R. Dilute 1.0 mL of this solution to 100.0 mL with the solvent mixture.

Column:

– size: $l = 0.25$ m, $\varnothing = 4$ mm;

– stationary phase: octylsilyl silica gel for chromatography R (5 μ m).

Mobile phase: triethylamine R, trifluoroacetic acid R, acetonitrile R, water R (0.1:0.1:45:55 V/V/V/V).

Flow rate: 0.9 mL/min.

Detection: spectrophotometer at 255 nm.

Injection: 20 μ L.

Run time: twice the retention time of gliclazide.

Relative retention with reference to gliclazide (retention time = about 16 min): impurity F = about 0.9.

System suitability: reference solution (b):

– resolution: minimum 1.8 between the peaks due to impurity F and gliclazide.

Limits:

– impurity F: not more than the area of the corresponding peak in the chromatogram obtained with reference solution (c) (0.1 per cent);

– unspecified impurities: for each impurity, not more than the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (a) (0.10 per cent);

– sum of impurities other than F: not more than twice the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (a) (0.2 per cent);

– disregard limit: 0.2 times the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (a) (0.02 per cent).

Impurity B. Liquid chromatography (2.2.29) as described in the test for related substances with the following modifications.

Test solution. Dissolve 0.400 g of the substance to be examined in 2.5 mL of dimethyl sulfoxide R and dilute to 10.0 mL with water R. Stir for 10 min, store at 4 °C for 30 min and filter.

Reference solution. Dissolve 20.0 mg of gliclazide impurity B CRS in dimethyl sulfoxide R and dilute to 100.0 mL with the same solvent. To 1.0 mL of the solution, add 12 mL of dimethyl sulfoxide R and dilute to 50.0 mL with water R. To 1.0 mL of this solution, add 12 mL of dimethyl sulfoxide R and dilute to 50.0 mL with water R.

Injection: 50 μ L.

Retention time: impurity B = about 8 min.

Limit:

– impurity B: not more than the area of the corresponding peak in the chromatogram obtained with the reference solution (2 ppm).

Heavy metals (2.4.8): maximum 10 ppm.

1.5 g complies with test F. Prepare the reference solution using 1.5 mL of lead standard solution (10 ppm Pb) R.

Loss on drying (2.2.32): maximum 0.25 per cent, determined on 1.000 g by drying in an oven at 105 °C for 2 h.

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

ASSAY

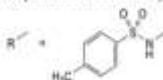
Dissolve 0.250 g in 50 mL of anhydrous acetic acid R. Titrate with 0.1 M perchloric acid, determining the end-point potentiometrically (2.2.20).

1 mL of 0.1 M perchloric acid is equivalent to 32.34 mg of $C_{17}H_{21}N_3O_2S$.

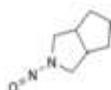
IMPURITIES

Specified impurities: B, F.

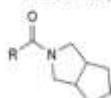
Other detectable impurities (the following substances would, if present at a sufficient level, be detected by one or other of the tests in the monograph. They are limited by the general acceptance criterion for other/unspecified impurities and/or by the general monograph Substances for pharmaceutical 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, C, D, E, G.



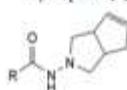
A. R-H: 4-methylbenzenesulfonamide,



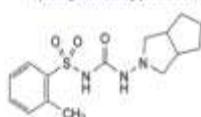
B. 2-nitroso-octahydrocyclopenta[c]pyrrole.

C. R-CO-O-C₆H₄: ethyl [(4-methylphenyl)sulfonyl]-carbamate,

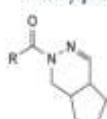
D. N-[(4-methylphenyl)sulfonyl]hexahydrocyclopenta[c]pyrrol-2(1H)-carboxamide,



E. 1-[(4-methylphenyl)sulfonyl]-3-(3,3a,4,6a-tetrahydrocyclopenta[c]pyrrol-2(1H)-yl)urea,



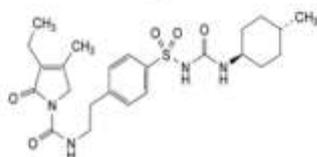
F. 1-[(hexahydrocyclopenta[c]pyrrol-2(1H)-yl)-3-[(2-methylphenyl)sulfonyl]urea,



G. N-[(4-methylphenyl)sulfonyl]-1,4a,5,6,7,7a-hexahydro-2H-cyclopenta[d]pyridazine-2-carboxamide.

GLIMEPIRIDE

Glimepiridum



C₂₁H₃₃N₃O₅
[93479-97-1]

M, 490.6

DEFINITION

1-[[4-[2-(3-Ethyl-4-methyl-2-oxo-3-pyrroline-1-carboxamido)ethyl]phenyl]sulfonyl]-3-*trans*-(4-methylcyclohexyl)urea.

Content: 97.0 per cent to 102.0 per cent (anhydrous substance).

CHARACTERS

Appearance: white or almost white powder.

Solubility: practically insoluble in water, soluble in dimethylformamide, slightly soluble in methylene chloride, very slightly soluble in methanol.

It shows polymorphism (5.9).

IDENTIFICATION

Infrared absorption spectrophotometry (2.2.24).

Comparison: glimepiride CRS.

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

TESTS

Related substances. Liquid chromatography (2.2.29). Store the solutions at a temperature not exceeding 12 °C and for not more than 15 h.

Solvent mixture: water for chromatography R, acetonitrile for chromatography R (1:4 V/V).

Test solution. Dissolve 20.0 mg of the substance to be examined in the solvent mixture and dilute to 100.0 mL with the solvent mixture.

Reference solution (a). Dissolve the contents of a vial of *glimepiride for system suitability CRS* (containing impurities B, C and D) in 2.0 mL of the test solution.

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

Reference solution (c). Dissolve 20.0 mg of *glimepiride CRS* in the solvent mixture and dilute to 100.0 mL with the solvent mixture.

Column:

- size: $l = 0.25$ m, $\varnothing = 4$ mm;
- stationary phase: end-capped octadecylsilyl silica gel for chromatography R (4 μ m).

Mobile phase: dissolve 0.5 g of sodium dihydrogen phosphate R in 500 mL of water for chromatography R and adjust to pH 2.5 with phosphoric acid R. Add 500 mL of acetonitrile for chromatography R.

Flow rate: 1.0 mL/min.

Detection: spectrophotometer at 228 nm.

Injection: 20 μ L of the test solution and reference solutions (a) and (b).

Run time: 2.5 times the retention time of glimepiride.

Relative retention with reference to glimepiride (retention time = about 17 min): impurity B = about 0.2; impurity C = about 0.3; impurity D = about 1.1.

System suitability: reference solution (a):

- resolution: minimum 4.0 between the peaks due to impurities B and C.

Limits:

- impurity B: not more than 4 times the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (b) (0.4 per cent),
- impurity D: not more than twice the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (b) (0.2 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),
- sum of impurities other than B: 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).

Impurity A. Liquid chromatography (2.2.29). Prepare the solutions immediately before use.

Test solution. Dissolve 10.0 mg of the substance to be examined in 5 mL of *methylene chloride R* and dilute to 20.0 mL with the mobile phase.

Reference solution (a). Dilute 0.8 mL of the test solution to 100.0 mL with the mobile phase.

Додаток 2.Лабораторне обладнання.



Терези лабораторні ТВЕ-0,21-0,001-а-2.



УФ – спектрофотометр SPECORD 200-222 U 214.

Анотація (Summary)

Introduction. Type II diabetes in the modern world, unfortunately, is already becoming a way of life and, according to WHO, in the early 30s this disease will become every seventh cause of death. Sugar-lowering drugs used in the treatment and prevention of type II diabetes are distinguished by a versatile chemical structure, therefore, the methods that make it possible to determine the concentration of these drugs are also diverse.

Purpose of the study. Based on previously conducted scientific research, the purpose of the work was to develop a method for quantitative determination of the API gliclazide in tablets of domestic and imported production.

Research methods. Spectrophotometry.

Results. In previously performed scientific studies, it is noted that the most promising methods for quantitative determination of gliclazide in solid dosage forms are the HPLC method and spectrophotometry. We believe that spectrophotometric methods are not inferior in accuracy to HPLC methods, but, at the same time, are simpler, faster and cheaper. We especially highlight the research of the Ukrainian scientist Leleka L., who developed spectrophotometric methods for the quantitative determination of metformin hydrochloride, gliclazide and glibenclamide using sulfophthalein dyes. The European Pharmacopoeia regulates the quantitative determination of gliclazide in a substance by non-aqueous acidimetric titration with subsequent determination of the equivalence point by potentiometry.

When developing the methodology, we concluded that the best solvent is acetone and it is most appropriate to measure the optical density in the range of 405-415 nm, bromocresol green or bromocresol purple can be chosen as color reagents, the mass of the active substance can be found using a calibration graph, which is convenient when performing systematic analyses. It should be noted that the methods for quantitative determination of the API gliclazide in solid dosage form

are specific because the excipients that are part of the medicinal products do not affect the detection of the active substance, the results correlate with the data presented by the manufacturer in the instructions for medical use.

Conclusions. The result of the bibliosemantic analysis is the conclusion that it is advisable to quantitatively determine the active substance gliclazide in solid dosage forms spectrophotometrically in the range of 405-415 nm, the determination is preceded by a photometric reaction of gliclazide with sulfophthalein dye, and the study is advisable to conduct in organic solvents, in particular in acetone.