

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

ВИПУСКНА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему «**Кількісне визначення фуросеміду у таблетках**»

Виконав: здобувач вищої освіти 5-го курсу, групи 11803
фармацевтичного напрямку підготовки 226 Фармація,
промислова фармація

Цілина Іван Владиславович

Керівники:

Професорка кафедри аналітичної, фізичної та колоїдної хімії,
докторка педагогічних наук,

Рева Тетяна Дмитрівна

Доцентка кафедри хімії ліків та лікарської токсикології,
кандидатка педагогічних наук,

Головченко Оксана Іванівна

Рецензентка : старша викладачка кафедри медичної біохімії та
молекулярної біології, к.хім.н., Малишевська А.І.

Київ – 2026

ЗМІСТ

Перелік умовних позначень, символів, скорочень і термінів.	4
Вступ.	5
ОСНОВНА ЧАСТИНА. Розділ 1. Фуросемід, методи визначення.	8
1.1. Застосування та механізм дії фуросеміду.	8
1.2. Фізико-хімічні властивості фуросеміду, методи ідентифікації та кількісного визначення.	13
Висновки до Розділу 1.	16
Розділ 2. Експериментальна частина.	17
2.1. Матеріали та методи.	17
2.1.1. Мета дослідження.	17
2.1.2. Об'єкти дослідження.	17
2.1.3. Посуд, реактиви та обладнання.	18
2.2. Методики приготування розчинів.	19
2.3. Методики кількісного визначення фуросеміду у стандартних розведених розчинах та Зразках.	20
Висновки до Розділу 2.	21
Розділ 3. Результати та їх обговорення.	22
3.1. Аналіз залежності величини максимальної абсорбції (оптичної густини A) від довжини хвилі λ .	22
3.2. Побудова градуювального графіка.	23

3.3.	Визначення вмісту фуросеміду у Зразках методом УФ – спектрофотометричного визначення.	24
3.3.1.	Часткова валідація методики.	26
3.3.1.1.	Статистична оцінка параметрів лінійності.	26
3.3.1.2.	Перевірка стабільності стандартного розчину фуросеміду у часі.	26
3.3.1.3.	Аналіз специфічності методики.	28
3.4.	Визначення вмісту фуросеміду у Зразках методом алкаліметричного титрування.	28
	Висновки до Розділу 3.	30
	Висновки.	31
	Список використаних джерел.	32
	Додатки.	35
	Анотація (Summary).	41

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

АФІ – активний фармацевтичний інгредієнт

ДМФА – N,N -диметилформахід

ТШХ – тонкошарова хроматографія

ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія

ФСЗ – фармацевтичний стандартний зразок

ТЛФ – тверда лікарська форма

ЛЗ – лікарський засіб

ГГ – градуєвальний графік

Ph.Eur. – European Pharmacopoeia

ДФУ – державна фармакопея України

НМУ – Національний медичний університеті мені О.О. Богомольця

г – грам

д.р.- діюча речовина

мл – мілілітр

нм – нанометр

УФ спектр – ультрафіолетовий спектр поглинання

RSD,% - стандартне відхилення

ВСТУП

Діуретиками називають сечогінні препарати, які здатні впливати на зростання видільної функції нирок, тобто здатні збільшувати кількість сечі і посилювати виведення солей натрію та інших неорганічних солей з організму [1]. Діуретики призначають при лікуванні набряків, при гіпертонічній хворобі різних станів та при отруєннях людини хімічними речовинами.

Використання діуретиків при різноманітних терапіях розпочалося у п'ятдесятих роках минулого століття, але, і до сьогодні сечогінні препарати постійно використовують при лікуванні гіпертонічної хвороби (особливо для пацієнтів літнього віку) оскільки їх ефективність саме при гіпертонічних кризах перевірена роками, при лікуванні нефрогенного нецукрового діабету, при профілактиці сечокам'яної хвороби.

Діуретики не можна приймати пацієнтам, які страждають на зневоднення, печінкову недостатність або гіпокаліємію (гіпонатріємію), діабетикам, хворим з подагрою, гіпотонікам.

Існує декілька класифікацій діуретиків: за хімічною будовою, механізмом дії, за швидкістю та тривалістю ефекту[2-3]:

- Сполуки, які мають здатність блокувати продукцію β - білків-переносників (спиронолактон);
- Сполуки, механізм дії яких пов'язаний з базальною мембраною (петлеві, наприклад фуросемід);
- Сполуки, механізм дії яких пов'язаний з гальмуванням карбоангідрази (наприклад, діакарб);
- Сполуки, які проявляють осмотичну дію (сечовина, маніт);
- Сполуки, які покращують кровообіг (похідні ксантину);
- Сполуки рослинного походження (суниця, хвощ, листя берези тощо).

Препаратом першого вибору серед діуретиків вважають фуросемід оскільки це високоактивний, швидкодіючий петльовий діуретик, дія якого є короткочасною.

Актуальність теми: Постійний пошук нових методик кількісного визначення АФІ фуросемід у лікарських засобах.

Мета та завдання дослідження: розробити методику кількісного УФ –спектрофотометричного визначення АФІ фуросемід у таблетках та провести її часткову валідацію.

Завдання:

1. Провести аналіз літературних джерел щодо застосування лікарських форм, до складу яких входить фуросемід, проаналізувати фізико-хімічні властивості сполуки фуросемід, його метаболізм та побічні ефекти.
2. Спираючись на літературні джерела проаналізувати ідентифікацію та методики кількісного визначення фуросеміду.
3. Визначити АФІ фуросемід у таблетках алкаліметрично.
4. Розробити та апробувати методику кількісного УФ – спектрофотометричного визначення фуросеміду у таблетках, провести її часткову валідацію.

Методи дослідження: бібліосемантичний, УФ – спектрофотометрія, алкаліметрія.

Новизна та значення одержаних результатів: результатом роботи є запропонована оптимізована альтернативна методика кількісного визначення фуросеміду у таблетках методом УФ - спектрофотометрії.

Апробація результатів дослідження. Результати дослідження були представлені на VI Міжнародній науково-практичній конференції «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології» (м. Харків, Україна, 26 березня 2026 р.

Структура роботи. Робота представлена на 41 сторінках, додатків -3 рисунків- 6, таблиць- 4, список літературних джерел - 23. Сертифікат учасника конференції -1, тези на VI-ій Міжнародній науково-практичній конференції «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології» (м. Харків, Україна, 26 березня 2026 р.-1).

ОСНОВНА ЧАСТИНА. Розділ 1. Фуросемід, методи визначення.

1.1 Застосування та механізм дії фуросеміду.

Фуросемід відносять до потужних діуретиків, який має короточасну дію і який впливає на клітини нефрону та змінює концентрацію ниркового фільтрату. Фуросемід блокує процес реабсорбції катіонів Натрію та аніонів Хлору у проксимальних, дистальних каналцях, а також, у товстій висхідній петлі Генле, рис. 1, [4].

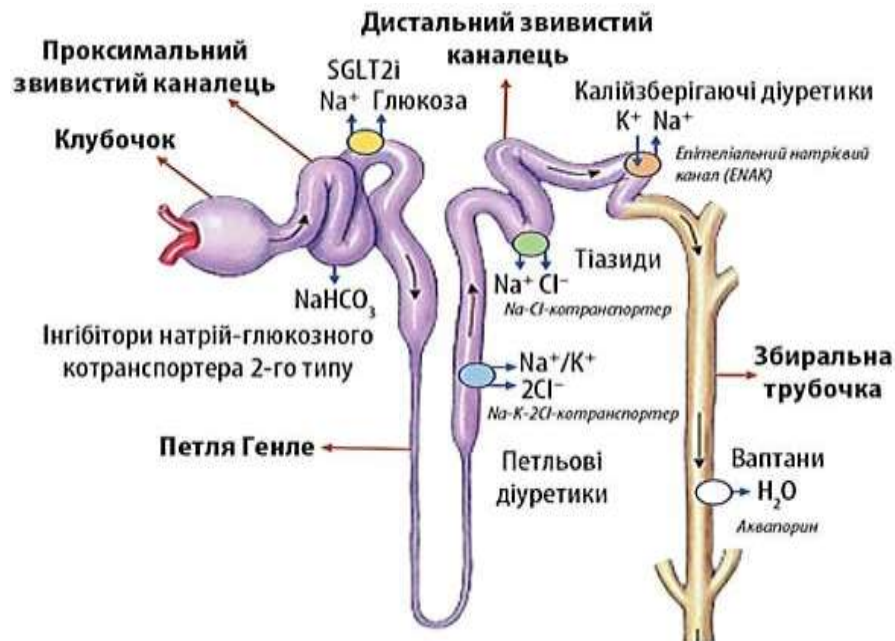
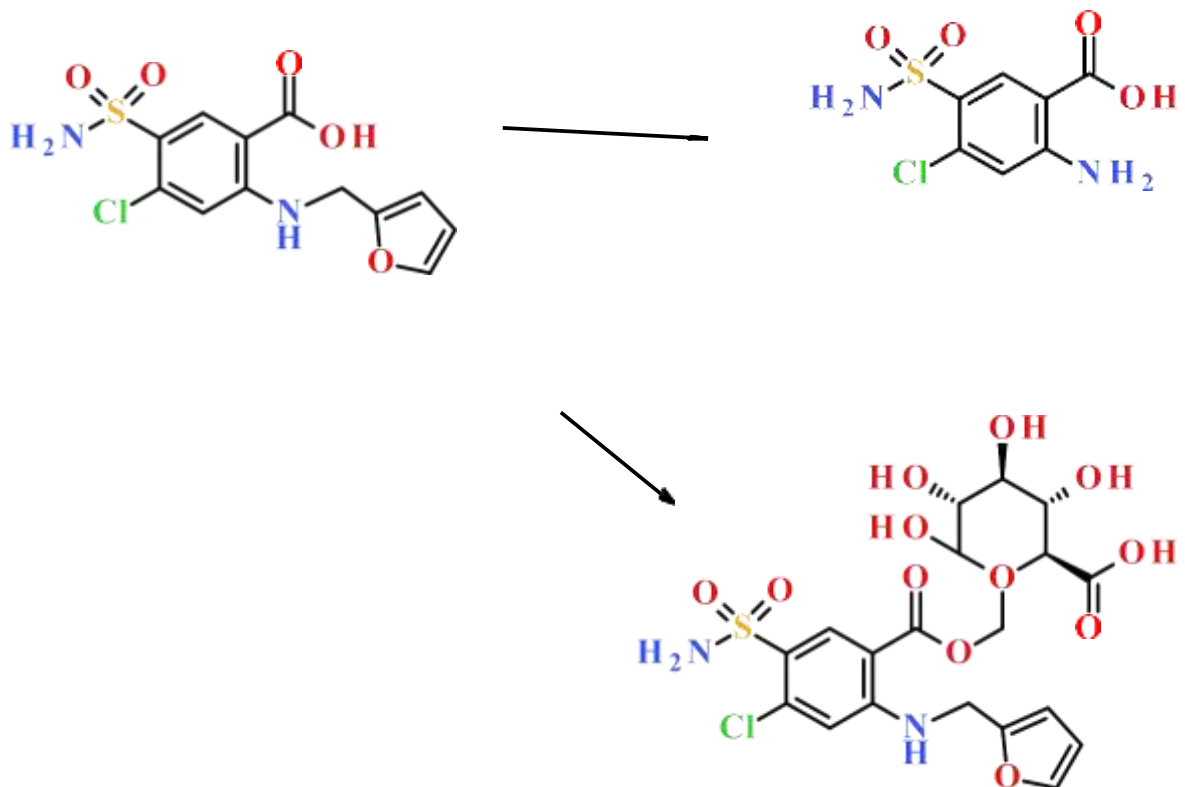


Рис. 1. Будова нефрону та зони впливу фуросеміду [4].

Діуретичний ефект є наслідком конкурентного гальмування катіонів Натрію, Калію та аніонів Хлору, які рухаються у клітинах нефрону та перешкоджають трансферу катіонів Натрію у базолатеральний бік для процесу реабсорбції, відповідно, це є наслідком виведення води разом з електролітами [6-10]. При прийомі препарату спостерігаються і вторинні ефекти, а саме, підвищується процес екскреції катіонів Кальцію та Магнію. В основному, препарат призначають при серцевій недостатності, оскільки фуросемід призводить до різкого зменшення перевантаження на

міокард за рахунок зменшення венозних судин та знижується їх реактивність по відношенню до катехоламінів. Діуретичний ефект спостерігається через 60 хвилин після прийому препарату, збільшується екскреція катіонів Натрію, знижується об'єм крові, зменшується відповідь м'язів судин на стимуляцію вазоконстрикторами і, наслідком цього є прояви антигіпертензивної дії препарату. Фармакокінетика препарату відмічається високою абсорбцією та швидкістю, біодоступність фуросеміду досягає 70%, але, при певних патологіях (наприклад, нефротичному синдромі) знижується до 30%. Фуросемід має можливість вступати в реакції комплексоутворення з протеїнами плазми крові (найстійкіші комплекси утворюються з альбуміном) [6-10]. Метаболітом фуросеміду є сполука глюкуронід та 4-хлор -5- сульфоамілантранілова кислота [11-13] :



Фуросемід має здатність проникнення через плаценту та потрапляє до плоду. Якщо пацієнт страждає на ниркову недостатність, період напіввиведення фуросеміду досягає 24 годин, при наявності нефротичного синдрому ефективність препарату знижується оскільки препарат зв'язується з інтратубулярним альбуміном. Якщо пацієнт страждає на печінкову недостатність, період напіввиведення препарату зростає і може досягати 90% за рахунок зростання об'єму контрибуції.

АФІ Фуросемід має низку протипоказань для пацієнтів нижченаведених груп [6-10]:

- З гіперчутливістю до препарату або до сульфонамідів;
- З діагнозом гіповолемія;
- З зневодненням;
- З діагнозом анурія;
- З отруєнням нефротоксичними або токсичними препаратами;
- З гіпокаліємією або гіпонатріємією;
- З енцефалопатіями;
- Для літніх пацієнтів та немовлят.

Небажаний одночасний прийом:

- З хлоралгідратом. Побічними реакціями можуть бути нудота, збільшення артеріального тиску, тахікардія, збуджений стан;
- З аміноглікозидами. Наслідком одночасного прийому може бути зростання токсичності;
- З цисплатином. Наслідком одночасного прийому може бути зростання токсичності;

- З сукральфатом. Спостерігається зменшення абсорбції фуросеміду;
- З препаратами літію. Одночасний прийом збільшує концентрацію літію, наслідком цього буде зростання токсичності;
- З інгібіторами АПГ або антагоністами рецептору ангіотензину II. Наслідками одночасного вживання є прояви тяжкої артеріальної гіпотензії або погіршення функції нирок;
- З рисперидоном та левотироксином. Фуросемід пригнічує утворення комплексу цих сполук з білками, порушується нормальна робота щитовидної залози;
- З нестероїдними протизапальними препаратами (НПЗ). При одночасному застосуванні сполука НПЗ з фуросемідом гальмує дію останнього, причому токсичність деяких НПЗ може зростати;
- З фенітоїном. Ефективність фуросеміду знижується;
- З аліскіреном. Ефективність фуросеміду знижується;
- З кортикостероїдами та проносними засобами. Збільшується ризик розвитку гіпокаліємії;
- З антигіпертензивними препаратами. Посилюється антигіпертензивна дія;
- З пробенецидом або метотрексатом. Посилюються небажані побічні ефекти завдяки коливанню концентрації фуросеміду;
- З антидіабетичними ЛЗ. Одночасний прийом фуросеміду з антидіабетичними лікарськими засобами має здатність підвищувати артеріальний тиск, ефективність антидіабетичних препаратів знижується;

- З нефротоксичними ЛЗ. Посилюється шкідливий вплив;
- З цефалоспоринами. При одночасному прийомі з фуросемідом порушуються функції нирок;
- З циклоспорином А. Збільшується ризик розвитку подагри, порушується ниркова екскреція уратів;
- З радіоконтрастними препаратами. Одночасний прийом фуросеміду з радіоконтрастними препаратами приводить до чисельних порушень роботи нирок.

При прийомі фуросеміду обов'язково постійно контролювати концентрацію катіонів Натрію та Калію, а також креатинін сироватки крові.

Побічними реакціями можуть бути:

- Метаболічні або аліментарні. Порушення електролітичного балансу, зневоднення, гіповолемія, зростання концентрації креатинину, збільшення тригліцеридів, загострення симптомів кризисних станів при цукровому діабеті.
- З боку судин. Виникнення васкулітів, тромбозів, артеріальної гіпотензії.
- З боку нирок. Виникає нефрит, затримка сечі або її збільшений об'єм, ниркова недостатність.
- З боку ШКТ. Виникає панкреатит, блювання, діарея, нудота.
- Порушення роботи органів слуху.
- З боку імунної системи. Анафілактичні та анафілактоїдні реакції.

- З боку нервової системи. Виникає парестезія.
- З боку крові та лімфатичної системи. Виникають анемії, тромбоцитопенії, лейкопенії, агранулоцитоз.
- Патологічні стани шкіри. Виникають свербіж, висипання, дерматити, еритеми, синдром Стивена-Джонса, пурпура [6-10].

1.2. Фізико-хімічні властивості фуросеміду, методи ідентифікації та кількісного визначення.

За IUPAC хімічна речовина фуросемід має наступну назву: 5-(aminosulfonyl)-4-chloro-2-[(2-furanylmethyl)amino]benzoic acid [11].

Брутто формула сполуки $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$.

Молярна маса фуросеміду $M(C_{12}H_{11}ClN_2O_5S)$ становить 330,745 г/моль [11].

За класифікацією сполуку відносять до похідного сульфаміду антранілової кислоти [12].

За агрегатним станом фуросемід є білим кристалічним порошком з поганою розчинністю у воді. Фуросемід розчинний в органічних розчинниках (ацетоні, метанолі, ДМФА). Завдяки присутності у молекули карбоксильної групи сполука має певні кислотні властивості, реагує з лугами, виявляє поліморфізм [13-15] і проявляє схожі фізико-хімічні властивості з фураном (фуросемід вступає у реакції галогенування, нітрування, ацилування тощо), рис. 2:

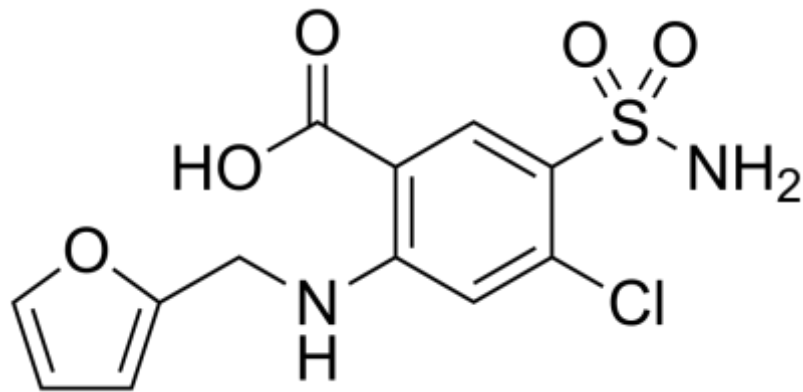


Рис. 2. Структурна формула фурсеміду [11].

Ідентифікацію фурсеміду згідно ДФУ проводять УФ – спектрофотометрією (спостерігають максимуми поглинання при 228, 270 та 333 нм [13], рис. 3:

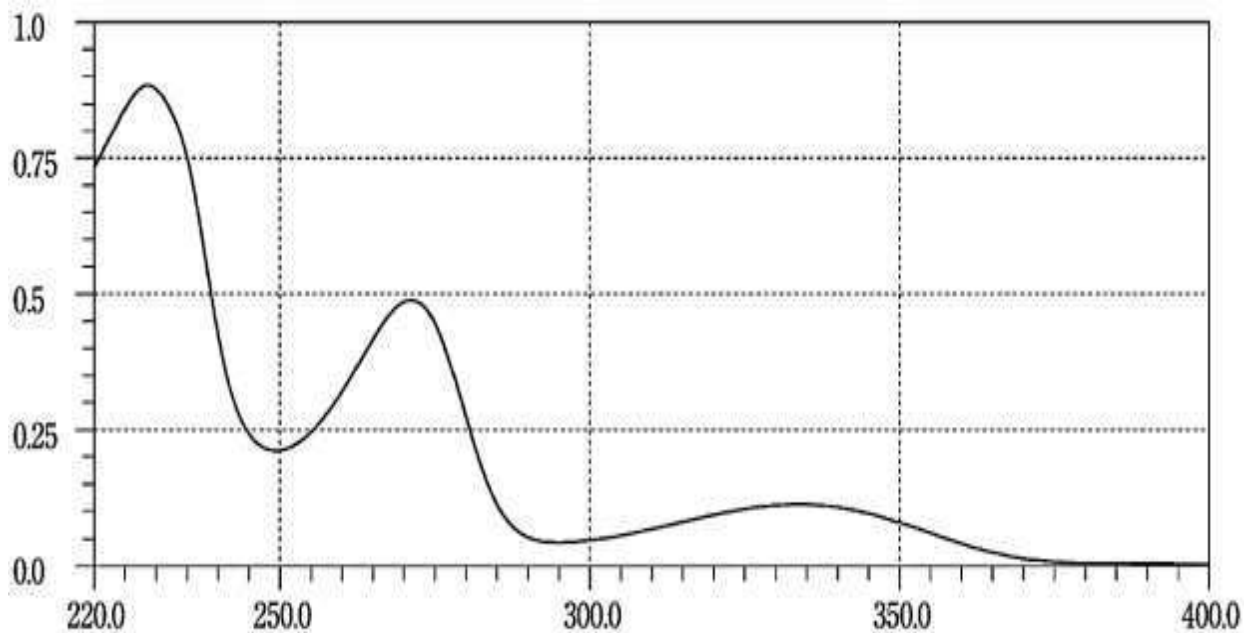


Рис. 3. Спектр поглинання фурсеміду [13].

Європейська та Британська фармакопеї [14-15] регламентують метод тонкошарової хроматографії для ідентифікації фуросеміду згідно нижче наведеного:

Готують спиртовий (розчинник етанол) стандартний розчин фуросеміду концентрації 0,02 мг/мл (розчин порівняння), нерухоною фазою використовують пластинку з шаром силікагелю F 234, рухоною фазою обирають суміш етанової льодяної кислоти, етилацетату та толуолу у співвідношенні (5:45:50). Детектування після обробки пластинки нінгідрином виконують при 254 нм.

Фармакопея Сполучених Штатів Америки [16] регламентує ідентифікацію фуросеміду методом ВЕРХ з використанням колонки діаметром 4,6 мм та висотою 25 см. Колонку заповнюють нерухоною фазою 5 мкм L1. Рухоною фазою обирають суміш з тетрагідрофурану, концентрованої етанової кислоти та води у співвідношенні 30:1:70. Швидкість пропускання 1 мл/хв., об'єм інжекції 20 мкл. Детектування проводять при довжині хвилі 272 нм.

Кількісно за ДФУ фуросемід регламентують визначати алкаліметрією з наступним визначенням точки еквівалентності потенціометрично або індикаторним методом (точку еквівалентності встановлюють за зміною кольору бромтимолового синього), 1 мл титранту відповідає 0,03307 г фуросеміду. У випадку потенціометричного визначення методика може бути описана наступним чином: 250 мг субстанції розчиняють у 20 мл ДМФА і проводять пряме титрування титрантом 0,1М NaOH. При використанні індикатора бромтимолового синього, титрування проводять до появи стійкого блакитного забарвлення. Розрахунок маси (концентрації) фуросеміду проводять за стандартними формулами, які мають місце у титриметричному аналізі.

Висновки до Розділу 1.

У результаті проведеного бібліосемантичного аналізу визначено:

1. Застосування фуросеміду, механізм дії активного фармацевтичного інгредієнту фуросемід у лікарському засобі, протипоказання фуросеміду та небажаний одночасний прийом з іншими лікарськими засобами.
2. Фізико-хімічні властивості фуросеміду, ідентифікація та методики кількісного визначення, які представлено у Державній фармакопеї України, Європейській фармакопеї, Британській фармакопеї та Фармакопеї США.

Розділ 2. Експериментальна частина.

Випускна кваліфікаційна робота була виконана на кафедрі аналітичної, фізичної та колоїдної хімії НМУ імені О.О. Богомольця та на кафедрі аналітичної хімії Київського національного університету імені Тараса Шевченка у рамках меморандуму про співпрацю.

2.1. Матеріали та методи.

2.1.1. Мета дослідження.

Метою дослідження була розробка та часткова валідація методики кількісного визначення АФІ фуросемід у таблетках.

2.1.2. Об'єкти дослідження.

Об'єктами дослідження ми обрали таблетки, до складу яких входить фуросемід (Зразок 1 та Зразок 2), та які вироблені на фармацевтичних підприємствах України. Нижче наведено склад лікарської форми (інформація виробника, зазначена у інструкціях для медичного застосування):

Зразок 1. Діюча речовина фуросемід (40 мг). Допоміжними речовинами є кукурудзяний крохмаль, целюлоза, магній стеарат, повидон, поліетиленгліколь, лактози моногідрат.

Зразок 2. Діюча речовина фуросемід (40 мг). Допоміжними речовинами є картопляний крохмаль, лактози моногідрат, натрію кроскармелоза, натрій лаурилсульфат, магній стеарат, Рис. 4:

Зразок 1



Зразок 2

Рис. 4. Об'єкти дослідження (<https://tabletki.ua>).

2.1.3. Посуд, реактиви та обладнання.

1. Хімічний посуд марки А.
2. Фармакопейний стандартний зразокДФУ Furosemide, каталожний номер F0171, реєстраційний номер CAS 54-31-9;
3. Розчин NaOH, концентрації 0,1008 М;
4. Розчин 0,1 М HCl, готували зі стандарт-титру;
5. ДМФА;
6. Барвник бромтимоловий синій концентрації 0,05%;
7. Етиловий спирт (масова частка 96%);
8. Деіонізована вода;
9. Порцелянова ступка з товкачиком;
10. Ваги лабораторні MettlerToledo XS204 (Додаток 3);
11. Спектрофотометр SPECORD 200-222 U 214 (Додаток 4).

2.2. Методики приготування розчинів.

Приготування стандартного розчину фуросеміду для УФ – спектрофотометричного визначення.

Готували лужний розчин, концентрація якого 0,001%.

На аналітичних терезах зважували наважку (1 г ФСЗ фуросеміду), вміщували порошок у мірну колбу на 100 мл, додавали до позначки розчин NaOH, перемішували. Відбирали піпеткою на 1 мл приготований 1%-ий розчин фуросеміду і вміщували у мірну колбу на 1000 мл, доводили до позначки 0,1 М розчином NaOH, перемішували. Концентрація приготованого стандартного розчину фуросеміду становила 0,001%.

Для побудови градуювального графіка *готували серію розведених стандартних розчинів фуросеміду концентрації 0,0001%-0,001%*. Для виконання цієї процедури відбирали певний об'єм розчину ФСЗ, концентрація якого 0,001% , вміщували його у мірну колбу на 10 мл та доводили розчином 0,1 М NaOH до позначки:

№	Об'єм розчину ФСЗ (концентрація 0,001%), мл	Концентрація приготованого розчину, %
1	1	0,0001
2	2	0,0002
3	4	0,0004
4	6	0,0006
5	8	0,0008
6	9	0,0009

Приготування розчину бромтимолового синього концентрації 0,05%.

На аналітичних терезах зважували 0,05 г кристалічної речовини бромтимолового синього, переносили наважку у мірну колбу на 100 мл та доводили етанолом до позначки.

Приготування розчину NaOH концентрації 0,1008M.

Готували розчин наближеної концентрації. Для цього на аналітичних терезах зважували 4 г кристалічної речовини натрій гідроксиду та розчиняли у 1000 мл води. Точну концентрацію NaOH встановлювали стандартизацією розчином HCl з концентрацією 0,1M, розчин 0,1 M HCl готували зі стандарт-титру.

Приготування розчинів Зразків (1 та 2) для УФ – спектрофотометричного визначення.

Дві таблетки (кожного зразка окремо) розтирали у порцеляновій ступці з товкачиком. Порошок кількісно переносили у мірну колбу на 100 мл, розчиняли у розчині NaOH, перемішували. За необхідністю фільтрували. Вважали, що концентрація фуросеміду у приготованих розчинах становила 0,08%. Відбирали піпеткою на 1 мл приготований 0,08 %-ий аналізований розчин і вміщували у мірну колбу на 100 мл, доводили до позначки 0,1 M розчином NaOH, перемішували. Концентрація приготованого стандартного розчину фуросеміду становила 0,0008%.

2.3. Методики кількісного визначення фуросеміду у стандартних розведених розчинах та Зразках.

УФ –спектрофотометрія.

При проведенні УФ – спектрофотометричного визначення компенсаційним розчином обирали 0,01 M NaOH. Аналітичний сигнал

методу (оптичну густину розчину) вимірювали при довжині хвилі 271 нм, кювети стандартні (10 мм).

Алкаліметричне титрування проводили за методом окремих наважок.

Згідно ДФУ 1 мл 0,1М NaOH реагує з 33,07 мг фуросеміду (Додаток 1). Спираючись на це, 10 таблеток (кожного Зразка окремо) розтирали у порцеляновій ступці з товкачиком, порошок вміщували у конічну колбу для титрування та розчиняли у 20 мл реагенту ДМФА. Перемішували. Додавали декілька крапель приготованого розчину індикатора бромтимолового синього та проводили титрування до появи стійкого блакитного забарвлення. Титрування кожної проби проводили 5 разів, результати усереднювали і масу аналізованої речовини (фуросеміду) визначали за стандартним співвідношенням:

$$m, \text{ mg} = c(\text{NaOH}) \cdot V_{\text{сер}}(\text{NaOH}) \cdot M(\text{фуросемід})$$

Висновки до Розділу 2.

1. У Розділі представлено об'єкти дослідження, обладнання та реактиви, які були використані у експериментальній частині випускної кваліфікаційної роботи.
2. У Розділі представлено методики приготування стандартних та модельних розчинів, розчину індикатора та інших розчинів, які були необхідні для експериментальної частини випускної кваліфікаційної роботи.
3. Наведено методики УФ – спектрофотометричного та алкаліметричного визначення фуросеміду у стандартних та модельних розчинах.

Розділ 3. Результати та їх обговорення.

Проводячи аналіз методик кількісного визначення фуросеміду у субстанції та ЛЗ, які представлені у світових фармакопеях та публікаціях сучасних наукових досліджень [17-21], ми дійшли висновку, що існує достатня кількість методів та методик, використовуючи які можна визначити концентрацію АФІ фуросемід у лікарських засобах. Але, найбільш нам імпонує методика, яку розробили українські вчені [21], оскільки ми вважаємо її точною, простою у виконанні та сучасною. Тому, при розробці власної методики ми спиралися саме на висновки, які наведені у [21].

3.1. Аналіз залежності величини максимальної абсорбції (оптичної густини А) від довжини хвилі λ .

Під час розробки методики кількісного спектрофотометричного визначення певної хімічної речовини, дослідник вирішує питання щодо знаходження довжини хвилі, при якій доцільно проводити системні наступні визначення оптичної густини А аналізованих розчинів. Залежність величини максимальної абсорбції від довжини хвилі вивчали для стандартного розведеного розчину, концентрація фуросеміду у якому становить 0,0008%. Оптичну густину А для цього розчину вивчали як функцію $A = f(\lambda)$, довжину хвилі монохроматичного світла змінювали від 230 нм до 310 нм, спектр поглинання фуросеміду (графічна залежність $A = f(\lambda)$) представлена у табл. 1 на рис. 5:

Таблиця 1. Залежність оптичної густини А розчину фуросеміду (0,0008%) від довжини хвилі λ .

Довжина хвилі λ	230	240	250	255	260	270	271	280	300	310
А	0,01	0,015	0,02	0,03	0,04	0,06	0,081	0,04	0,035	0,02

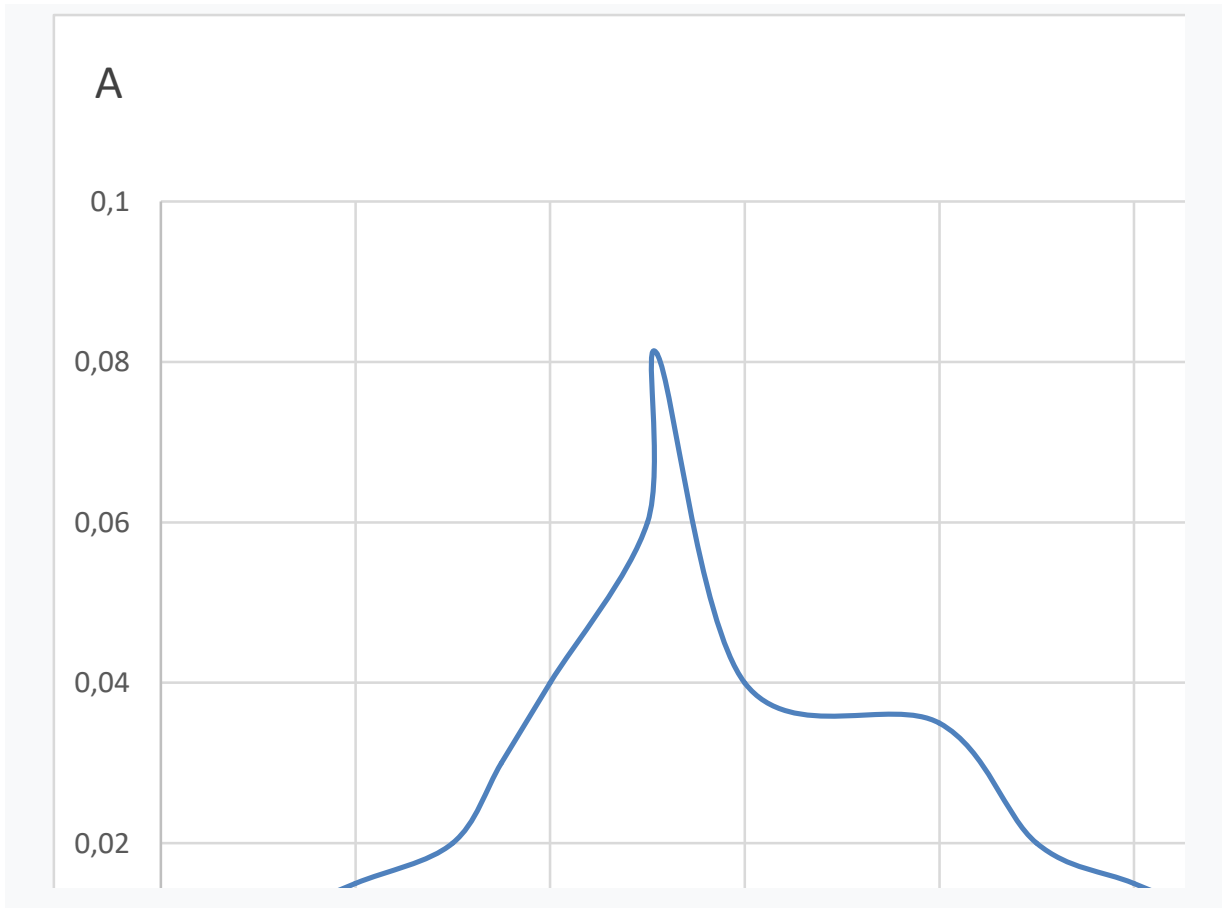


Рис. 5. Спектр поглинання фуросеміду, концентрація розчину 0,0008%.

Проводячи аналіз спектра поглинання фуросеміду можна зробити висновок, що величина найбільшого поглинання монохроматичного світлу спостерігається при 271 нм, отже, подальші УФ – спектрофотометричні визначення доцільно проводити саме при цьому значенні.

3.2. Побудова градуювального графіка.

Для визначення концентрації діючої речовини у Зразках використовували метод градуювального графіка (визначали оптичну густину A стандартних розведених розчинів, концентрація яких змінювалась у межах 0,0001%-0,001% та будували графічну залежність $A = f(C)$), наступним кроком за ГГ (Рис. 6) встановлювали концентрацію фуросеміду в об'єктах дослідження:

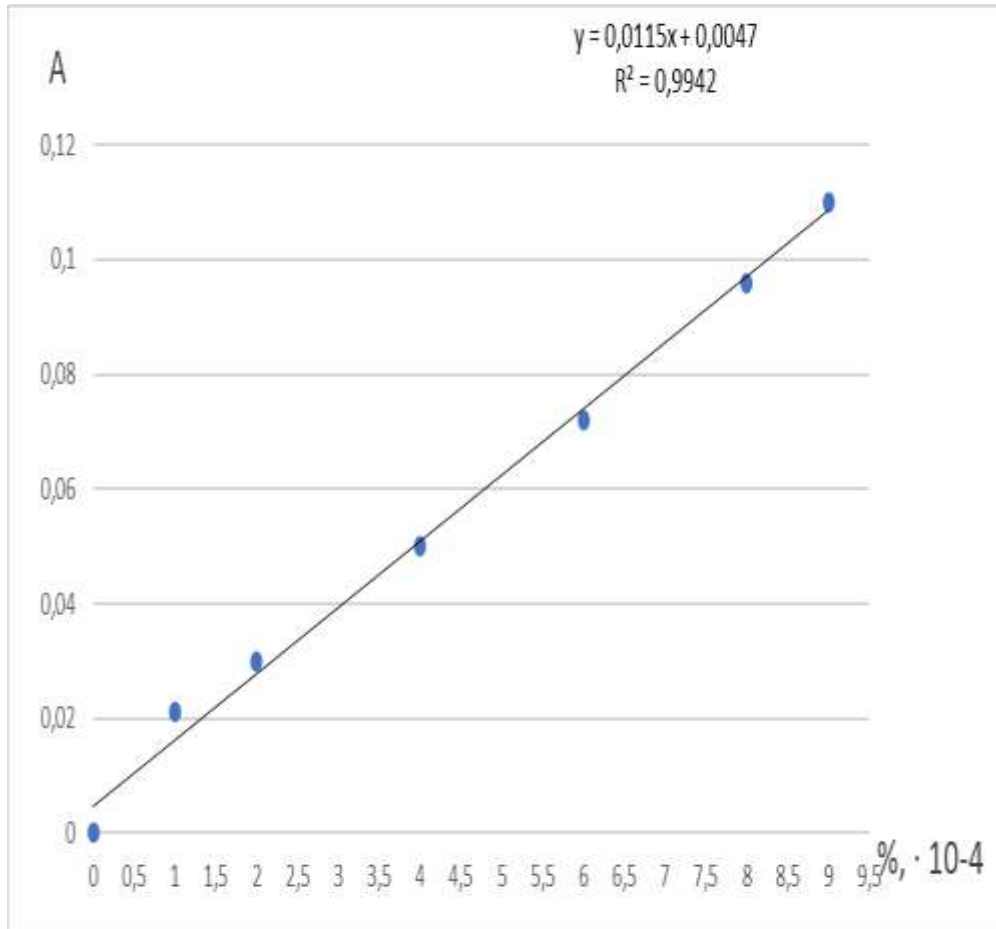


Рис. 6. Градувальний графік.

3.3. Визначення вмісту фуросеміду у Зразках методом УФ – спектрофотометричного визначення.

Після побудови ГГ ми визначали вміст фуросеміду (враховуючи розведення) у об'єктах дослідження. Результати представлено у табл. 2:

Таблиця 2. Результати кількісного визначення діючої речовини фуросемід у об'єктах дослідження УФ - спектрофотометрією.

	Знайдений вміст діючої речовини фуросемід у об'єктах дослідження, мг, враховуючи розведення	
	Зразок 1	Зразок 2
	40,08	40,12
	41,03	41,55
	39,17	40,54
	39,11	39,55
	38,66	39,24
Середнє значення,	39,61	40,20
Стандартне відхилення, s	0,95	0,91
Дисперсія, s^2	0,90	0,82
Відносне стандартне відхилення, %	2,39	2,26
Довірчий інтервал,	$39,61 \pm 1,18$	$40,20 \pm 1,13$
Відносна похибка середнього значення, , %	2,97	2,80

Аналізуючи експериментальні дані та статистичну обробку результатів можна стверджувати, що відносна похибка середнього значення не перебільшує 3%, довірчий інтервал знаходиться у межах $\pm 1,18$ та $\pm 1,13$, стандартне відхилення не перебільшує 1%, що відповідає вимогам ДФУ [22-23], тому методику УФ -спектрофотометричного визначення фуросеміду у ЛЗ можна вважати придатною до використання.

3.3.1. Часткова валідація методики.

Часткова валідація методики УФ – спектрофотометричного визначення фуросеміду у об'єктах дослідження була виконана за аналізом лінійності, стабільності у часі та специфічності [22-23].

3.3.1.1. Статистична оцінка параметрів лінійності.

Функція лінійної регресії має вигляд $y = 0,0115 \cdot x + 0,0047$ (коефіцієнт кореляції $R^2 = 0,9942$).

Розрахунок величин стандартного відхилення та довірчих інтервалів здійснювали згідно [22-23]:

$$s_0^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - Y_i)^2}{v} = 0,000011506$$

$$s_b^2 = \frac{n \cdot s_0^2}{n \cdot \sum_{i=1}^n x_i^2 - (\sum_{i=1}^n x_i)^2} = 1,567 \cdot 10^{-7}$$

$$s_a^2 = \frac{s_b^2}{n} \cdot \sum_{i=1}^n x_i^2 = 4,522 \cdot 10^{-6}$$

$$s_b = \sqrt{s_b^2} = 0,0003958$$

$$s_a = \sqrt{s_a^2} = 0,002126$$

Отже, стандартне відхилення для коефіцієнта a складає 0,002126, для коефіцієнта b – 0,0003958.

Для розрахунку довірчого інтервалу виписуємо значення коефіцієнта Стьюдента при довірчій ймовірності $P = 0,95$ та ступенях свободи $v = 5 - t(0,95; 5) = 2,5706$. Отже, довірчий інтервал для коефіцієнта a :

$$a \pm s_a \cdot t(0,95; 5) = 0,0115 \pm 0,00547$$

довірчий інтервал для коефіцієнта b :

$$b \pm s_b \cdot t(0,95; 5) = 0,0047 \pm 0,0010.$$

3.3.1.2. Перевірка стабільності стандартного розчину фуросеміду у часі.

Стабільність вивчали оцінюванням зміни значення оптичної густини A на протязі однієї години. Результати наведено у табл. 3:

Таблиця 3.

Вивчення стабільності розчину фуросеміду концентрації 0,0008% у часі, $\lambda = 271$ нм.

№	Величина абсорбції, t, хв.							Середнє	RSD,%	Довірчий інтервал	Відносна похибка середнього значення	Дисперсія
	0	10	20	30	40	50	60					
	0,096	0,097	0,097	0,098	0,098	0,098	0,097	0,097	0,78	$0,097 \pm 0,00070$	0,72	$5,71 \cdot 10^{-7}$

З експериментальних даних, які наведено у Таблиці 3 можна зробити висновок, що розчин фуросеміду є стабільним у часі оскільки довірчий інтервал, відносна похибка середнього значення та RSD,% відповідають вимогам ДФУ [22-23].

3.3.1.3. Аналіз специфічності методики.

Апробацію методики кількісного УФ – спектрофотометричного визначення фуросеміду ми проводили безпосередньо на твердих лікарських формах (таблетках). Спираючись на отримані результати та на їх статистичну обробку (табл. 2) можна припустити, що допоміжні речовини, які входять до складу лікарських засобів, не впливають на кількісне визначення АФІ фуросемід.

3.4. Визначення вмісту фуросеміду у Зразках методом алкаліметричного титрування.

Методом алкаліметричного титрування ДФУ регламентує кількісно визначати фуросемід у субстанції (Додаток 1). Спираючись на відповідний нормативний документ, ми провели кількісне визначення діючої речовини фуросемід у об'єктах дослідження так, як зазначено вище у п.2.3. Результати об'ємного аналізу (алкаліметричного титрування) наведено у табл. 4. Аналізуючи експериментальні дані можна відмітити, що стандартне відхилення RSD % при титруванні не перебільшує 5%, але, враховуючи експериментальні дані, які ми одержали проводячи УФ - спектрофотометричні визначення, можна стверджувати, що інструментальний метод є удвічі точнішим, і, відповідно, при визначенні концентрації діючої речовини у лікарському засобі доцільніше використовувати саме метод УФ – спектрофотометрії:

Таблиця 4. Результати кількісного визначення діючої речовини фуросемід у об'єктах дослідження методом об'ємного визначення (алкаліметричним титруванням).

	Знайдений вміст діючої речовини фуросемід у об'єктах дослідження, мг, враховуючи розведення	
	Зразок 1	Зразок 2
	41,68	41,12
	42,59	42,45
	40,90	39,83
	38,71	38,66
	39,23	38,96
Середнє значення,	40,62	40,20
Стандартне відхилення, RSD, %	1,63	1,58
Дисперсія, s^2	2,67	2,49
Відносне стандартне відхилення, %	4,02	3,92
Довірчий інтервал,	40,62 ± 2,03	40,20 ± 1,96
Відносна похибка середнього значення, , %	5,00	4,87

Висновки до Розділу 3.

1. Проаналізована залежність величини максимальної абсорбції (оптичної густини A) від довжини хвилі λ , побудовано градуювальний графік.
2. За методикою градуювального графіка визначено вміст фурсеміду у Зразках УФ –спектрофотометрією, проведена часткова валідація методики, виконана статистична оцінка експериментальних результатів.
3. Визначено вміст фурсеміду у Зразках методом алкаліметричного титрування (за ДФУ), виконана статистична оцінка експериментальних результатів.

ВИСНОВКИ

1. Проведено бібліосемантичний аналіз щодо застосування лікарських засобів, до складу яких входить фуросемід, проаналізовано фізико-хімічні властивості, метаболізм фуросеміду та небажані побічні реакції які виникають при лікуванні препаратами з фуросемідом.
2. У результаті виконання випускної кваліфікаційної роботи був проведений порівняльний аналіз методик кількісного визначення фуросеміду у субстанції та лікарських засобах.
3. Розроблена та апробована методика кількісного УФ – спектрофотометричного визначення фуросеміду у лікарських засобах, зроблена її часткова валідація.
4. Методом алкаліметричного титрування знайдена концентрація АФІ фуросемід у таблетках за методикою, яка представлена у ДФУ.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/2549/diuretik>.
2. Ellison D. H. Clinical Pharmacology in Diuretic Use. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2019. Vol. 14, № 8. P. 1248–1257.
3. Kehrenberg M. C. A., Bachmann H. S. Diuretics: a contemporary pharmacological classification? *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 2022. Vol. 395. P. 619–627.
4. Можина Т. Л. Якому петльовому діуретику надати перевагу: огляд даних доказової медицини. *Український медичний часопис*. 2023. Т. 154, № 2. С. 3–6.
5. 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.
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.Островська, Т.А.Петрова, Л.М.Рябушко. Вінниця: Нова книга, 2020. – 472 с.

9. Pharmacology / [M. A. Clark, R. Finkel, J. A. Rey et al.]. – [7th ed.]. – Baltimore : Lippincott Williams & Wilkins, 2018. – 638 p.
10. www.pharma-center.com.ua. веб-сайт ДЦФ МОЗ України [web-page]
URL
11. <https://uk.wikipedia.org/wiki/Фуросемід>.
12. Фармацевтична хімія : [арх. 11 березня 2021] : підручник / ред. П. О. Безуглий. — Вінниця : Нова Книга, 2008. — С. 305. — 560 с. — [ISBN 978-966-382-113-9](https://www.isbn-international.org/product/978-966-382-113-9).
13. Державна Фармакопея України / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків: ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. Т. 2. 724 с.
14. European Pharmacopoeia, 10th ed. Council of Europe. Strasbourg, 2019. 4370 p.
15. British Pharmacopoeia. The Stationery Office. London, 2020. 2223 p.
16. United State Pharmacopoeia. 44-NF39. Strasbourg, 2021. 587 p.
17. Zilka M., Yates J.R., Brown S.P. An NMR crystallography investigation of furosemide. *Magn Reson Chem.* 2019. Vol. 57. P. 191–199.
18. An Insight into the Degradation Processes of the Anti-Hypertensive Drug Furosemide / M. Giannetti et al. *Molecules.* 2023. Vol. 28. P. 381.
19. UV and IR spectra. Pharmaceutical substance (UV and IR) and pharmaceutical and cosmetic excipients (IR). Aulendorf : Editio Cantor Verlag, 2002. 1764 p.
20. Фармацевтичний аналіз : навч. посіб. для студ. вищ. фармац. навч. закл./за заг. ред. В. А. Георгіянци. Харків: НФаУ, Золоті сторінки, 2019. С. 55.
21. Alfred-Ugbenbo, D., Zdoryk, O. A., & Georgiyants, V. A. (2017). Валідація методики кількісного визначення фуросеміду в

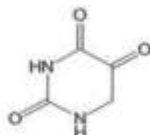
екстемпорально виготовленому сиропі. *Медична та клінічна хімія*, (2), 5–11. <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2017.v0.i2.7859>.

22. 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.
23. 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.

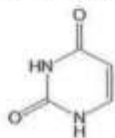
ДОДАТКИ

Додаток 1. Витяг з ДФУ.

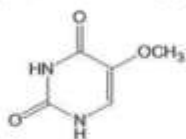
Фуросемід



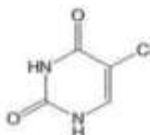
В. дигідропіримідин-2,4,5(3*H*)-тріон (ізобарбітурова кислота або 5-гідроксіурацил),



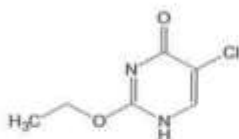
С. піримідин-2,4(1*H*,3*H*)-діон (урацил),



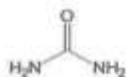
Д. 5-метоксипіримідин-2,4(1*H*,3*H*)-діон (5-метоксіурацил),



Е. 5-хлорпіримідин-2,4(1*H*,3*H*)-діон (5-хлорурацил),



Ф. 2-етокси-5-фторпіримідин-4(1*H*)-он (2-етокси-5-фторурацил),

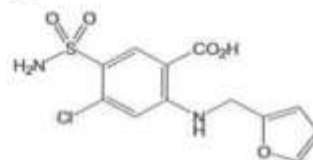


Г. карбамід (сечовина).

ФУРОСЕМІД

Furosemidum

FUROSEMIDE



$C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$
[54-31-9]

М.м. 330.7

4-Хлор-2-[(фуран-2-ілметил)аміно]-5-сульфамойл-бензойна кислота.

Вміст: не менше 98.5 % і не більше 101.0 %, у пере-рахунку на суху речовину.

ВЛАСТИВОСТІ

Опис. Кристалічний порошок білого або майже білого кольору.

Розчинність. Практично не розчинний у воді *P*, розчинний в ацетоні *P*, помірно розчинний в етанолі (96 %) *P*, практично не розчинний в метиленхлориді *P*.

Розчиняється в розведених розчинах гідроксидів лужних металів.

Виявляє поліморфізм (5.9).

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

Перша ідентифікація: В.
Друга ідентифікація: А, С.

А. Абсорбційна спектрофотометрія в ультрафіолетовій і видимій областях (2.2.25).

Випробовуваний розчин. 50 мг субстанції розчиняють у розчині 4 г/л натрію гідроксиду *P* та доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 100 мл. 1 мл одержаного розчину доводять розчином 4 г/л натрію гідроксиду *P* до об'єму 100 мл.

Спектральна область: від 220 нм до 350 нм.

Максимуми поглинання: за довжин хвиль 228 нм, 270 нм і 333 нм

Відношення оптичних густин: A_{270}/A_{228} становить від 0.52 до 0.57.

В. Абсорбційна спектрофотометрія в інфрачервоній області (2.2.24).

Фуросемід

Відповідність: спектру ФСЗ фуросеміду.

У разі різниці одержаних спектрів речовин у твердому стані, окремо розчиняють субстанцію і ФСЗ фуросеміду в ацетоні Р, упарюють насухо та повторно записують спектри одержаних залишків.

С. Близько 25 мг субстанції розчиняють у 10 мл етанолю (96 %) Р. До 5 мл одержаного розчину додають 10 мл води Р. До 0.2 мл одержаного розчину додають 10 мл хлористоводневої кислоти розведеної Р і нагрівають із зворотним холодильником протягом 15 хв. Одержаний розчин охолоджують, додають 18 мл 1 М розчину натрію гідроксиду і 1 мл розчину 5 г/л натрію нітриту Р, витримують протягом 3 хв, додають 2 мл розчину 25 г/л сульфамінової кислоти Р і перемішують. Потім додають 1 мл розчину 5 г/л нафтилетилендіаміну дигідрохлориду Р, з'являється фіолетово-червоне забарвлення.

ВИПРОБУВАННЯ

Супровідні домішки. Рідинна хроматографія (2.2.29). Розчини готують безпосередньо перед використанням і захищають від дії світла.

Випробовуваний розчин. 50 мг субстанції розчиняють у рухомій фазі та доводять об'єм розчину рухомою фазою до 50.0 мл.

Розчин порівняння (а). 2 мг ФСЗ фуросеміду домішки А розчиняють у рухомій фазі, додають 2.0 мл випробовуваного розчину та доводять об'єм розчину рухомою фазою до 20.0 мл. 0.5 мл одержаного розчину доводять рухомою фазою до об'єму 20.0 мл.

Розчин порівняння (б). 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.

Розчин порівняння (с). 2 мг ФСЗ фуросеміду для ідентифікації піка (містить домішки С і D) розчиняють у 2.0 мл рухомої фази.

Колонка:

- розмір: 0.25 м × 4.6 мм;
- нерухома фаза: силікагель для хроматографії, октисилільний, ендкепований Р (5 мкм).

Рухома фаза: 2.0 г калію дигідрофосфату Р і 2.5 г цетриміду Р розчиняють у 700 мл води Р, доводять до рН 7.0 аміаку розчином Р і додають 300 мл пропанолу Р.

Швидкість рухомої фази: 1 мл/хв.

Детектування: спектрофотометрично за довжини хвилі 238 нм.

Інжекції: 20 мкл.

Час хроматографування: у 3 рази більший часу утримування фуросеміду.

Ідентифікація домішок: використовують хроматограму розчину порівняння (а) для ідентифікації пі-

ка домішки А; використовують хроматограму, що надається до ФСЗ фуросеміду для ідентифікації піка, і хроматограму розчину порівняння (с) для ідентифікації піків домішок С і D.

Відносні утримування до фуросеміду (час утримування фуросеміду близько 9 хв): домішки С – близько 0.5; домішки А – близько 0.8; домішки D – близько 1.5.

Придатність хроматографічної системи: розчин порівняння (а):

— *ступінь розділення:* не менше 4.0 між піками домішки А та фуросеміду.

Нормування:

- *поправкові коефіцієнти:* для розрахунку вмісту площі піків наведених нижче домішок множать на відповідний поправковий коефіцієнт: для домішки С – 1.4; для домішки D – 2.0;
- *домішка С:* площа піка не має перевищувати 2 площі основного піка на хроматограмі розчину порівняння (b) (0.2 %);
- *домішка D:* площа піка не має перевищувати 1.5 площі основного піка на хроматограмі розчину порівняння (b) (0.15 %);
- *неспецифіковані домішки:* площа піка кожної домішки не має перевищувати площу основного піка на хроматограмі розчину порівняння (b) (0.10 %);
- *сума домішок:* сума площ піків не має перевищувати 5 площі основного піка на хроматограмі розчину порівняння (b) (0.5 %);
- *не враховують:* піки, площа яких менше 0.5 площі основного піка на хроматограмі розчину порівняння (b) (0.05 %).

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

До 0.5 г субстанції додають суміш 0.2 мл азотної кислоти Р і 30 мл води Р, струшують протягом 5 хв, витримують протягом 15 хв і фільтрують.

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

До 1.0 г субстанції додають суміш 0.2 мл оцтової кислоти Р і 30 мл води дистильованої Р, струшують протягом 5 хв, витримують протягом 15 хв і фільтрують.

Важкі метали (2.4.8, метод Н). Не більше 0.002 % (20 ppm).

Суміш розчинників: вода Р – ацетон Р (20:80).

0.25 г субстанції мають витримувати випробування на важкі метали. Еталон готують із використанням 0.5 мл свинцю еталонного розчину (10 ppm Рb) Р.

Втрати 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

0,250 г субстанції розчиняють у 20 мл диметилформаміду Р і титрують 0,1 М розчином натрію гідроксиду потенціометрично (2.2.20).

1 мл 0,1 М розчину натрію гідроксиду відповідає 33,07 мг $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$.

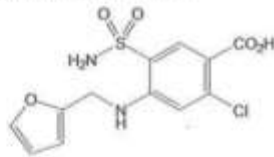
ЗБЕРІГАННЯ

У захищеному від світла місці.

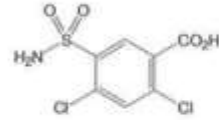
ДОМІШКИ

Специфіковані домішки: С, D.

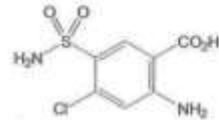
Інші домішки, що виявляються (дані домішки, якщо вони наявні у достатній кількості, можуть визначатися тим або іншим випробуванням монографії. Їх вміст нормується загальноприйнятими критеріями для інших/неспецифікованих домішок і/або статтею «Субстанції для фармацевтичного застосування». Тому немає необхідності їх ідентифікувати, щоб показати відповідність вимогам. Див. також 5.10. «Контроль домішок у субстанціях для фармацевтичного застосування»): А, В, Е, F.



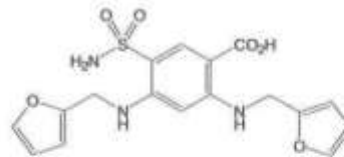
А. 2-хлор-4-[(фуран-2-ілметил)аміно]-5-сульфамойлбензойна кислота,



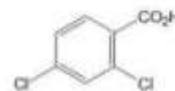
В. 2,4-дихлор-5-сульфамойлбензойна кислота,



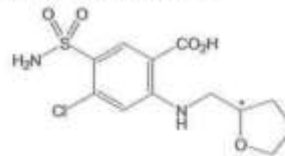
С. 2-аміно-4-хлор-5-сульфамойлбензойна кислота,



Д. 2,4-біс[(фуран-2-ілметил)аміно]-5-сульфамойлбензойна кислота,



Е. 2,4-дихлорбензойна кислота,

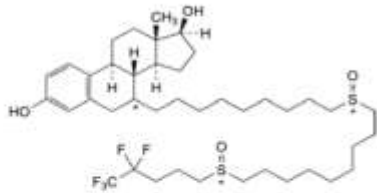


F. 4-хлор-5-сульфамойл-2-[[((2R)-тетрагідрофуран-2-іл)метил]аміно]бензойна кислота.

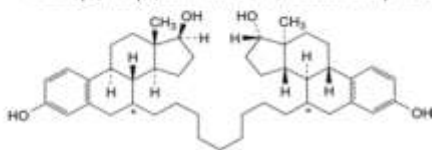
Додаток 2. Витяг з Європейської Фармакопеї.

EUROPEAN PHARMACOPOEIA 8.0

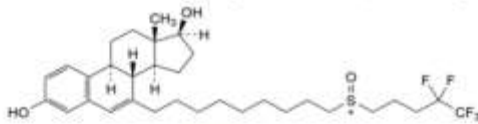
Furosemide



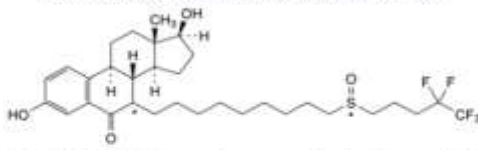
C. 7-[9-[[9-[(4,4,5,5,5-pentafluoropentyl)sulfinyl]nonyl]-sulfinyl]nonyl]estra-1,3,5(10)-triene-3,17β-diol.



D. 7,7'-nonane-1,9-diybis[estra-1,3,5(10)-triene-3,17β-diol].



E. 7-[9-[(4,4,5,5,5-pentafluoropentyl)sulfinyl]nonyl]estra-1,3,5(10),6-tetraene-3,17β-diol (Δ6-fulvestrant).

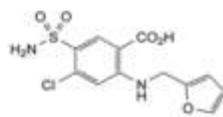


F. 7-[9-[(4,4,5,5,5-pentafluoropentyl)sulfinyl]nonyl]-3,17β-dihydroxyestra-1,3,5(10)-trien-6-one (6-keto-fulvestrant).

01/2013:0391

FUROSEMIDE

Furosemidum

C₁₂H₁₁ClN₂O₇S
[54-31-9]

M, 330.7

DEFINITION

4-Chloro-2-[(furan-2-ylmethyl)amino]-5-sulfamoylbenzoic acid.

Content: 98.5 per cent to 101.0 per cent (dried substance).

CHARACTERS

Appearance: white or almost white, crystalline powder.

Solubility: practically insoluble in water, soluble in acetone, sparingly soluble in ethanol (96 per cent), practically insoluble in methylene chloride. It dissolves in dilute solutions of alkali hydroxides.

It shows polymorphism (5.9).

IDENTIFICATION

First identification: B.

Second identification: A, C.

A. Ultraviolet and visible absorption spectrophotometry (2.2.25).

Test solution. Dissolve 50 mg in a 4 g/L solution of sodium hydroxide R and dilute to 100 mL with the same solution. Dilute 1 mL of this solution to 100 mL with a 4 g/L solution of sodium hydroxide R.

Spectral range: 220–350 nm.

Absorption maxima: at 228 nm, 270 nm and 333 nm.

Absorbance ratio: $A_{270}/A_{228} = 0.52$ to 0.57 .

B. Infrared absorption spectrophotometry (2.2.24).

Comparison: furosemide CRS.

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

C. Dissolve about 25 mg in 10 mL of ethanol (96 per cent) R. Mix 5 mL of the solution and 10 mL of water R. To 0.2 mL of this solution add 10 mL of dilute hydrochloric acid R and heat under a reflux condenser for 15 min. Allow to cool and add 18 mL of 1 M sodium hydroxide and 1 mL of a 5 g/L solution of sodium nitrite R. Allow to stand for 3 min, add 2 mL of a 25 g/L solution of sulfamic acid R and mix. Add 1 mL of a 5 g/L solution of naphthylethylenediamine dihydrochloride R. A violet-red colour develops.

TESTS

Related substances. Liquid chromatography (2.2.29). Prepare the solutions immediately before use and protect from light.

Test solution. Dissolve 50 mg of the substance to be examined in the mobile phase and dilute to 50.0 mL with the mobile phase.

Reference solution (a). Dissolve 2 mg of furosemide impurity A CRS in the mobile phase, add 2.0 mL of the test solution and dilute to 20.0 mL with the mobile phase. Dilute 0.5 mL of this solution to 20.0 mL with 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.

Reference solution (c). Dissolve 2 mg of furosemide for peak identification CRS (containing impurities C and D) in 2.0 mL of the mobile phase.

Column:

– size: $l = 0.25$ m, $\varnothing = 4.6$ mm;– stationary phase: end-capped octylsilyl silica gel for chromatography R (5 μ m).

Mobile phase: dissolve 2.0 g of potassium dihydrogen phosphate R and 2.5 g of cetrimide R in 700 mL of water R, adjust to pH 7.0 with ammonia R and add 300 mL of propanol R.

Flow rate: 1 mL/min.

Detection: spectrophotometer at 238 nm.

Injection: 20 μ L.

Run time: 3 times the retention time of furosemide.

Identification of impurities: use the chromatogram obtained with reference solution (a) to identify the peak due to impurity A; use the chromatogram supplied with furosemide for peak identification CRS and the chromatogram obtained with reference solution (c) to identify the peaks due to impurities C and D.

Relative retention with reference to furosemide (retention time = about 9 min): impurity C = about 0.5; impurity A = about 0.8; impurity D = about 1.5.

System suitability: reference solution (a):

– resolution: minimum 4.0 between the peaks due to impurity A and furosemide.

Limits:

- **correction factors:** for the calculation of content, multiply the peak areas of the following impurities by the corresponding correction factor: impurity C = 1.4; impurity D = 2.0;
- **impurity C:** not more than twice the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (b) (0.2 per cent);
- **impurity D:** 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 200 ppm.

To 0.5 g add a mixture of 0.2 mL of *nitric acid R* and 30 mL of *water R* and shake for 5 min. Allow to stand for 15 min and filter.

Sulfates (2.4.13): maximum 300 ppm.

To 1.0 g add a mixture of 0.2 mL of *acetic acid R* and 30 mL of *distilled water R* and shake for 5 min. Allow to stand for 15 min and filter.

Heavy metals (2.4.8): maximum 20 ppm.

Solvent mixture: *water R*, *acetone R* (20:80 V/V).

0.25 g complies with test H. Prepare the reference solution using 0.5 mL of *lead standard solution (10 ppm Pb) R*.

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 0.250 g in 20 mL of *dimethylformamide R*. Titrate with 0.1 M *sodium hydroxide*, determining the end-point potentiometrically (2.2.20).

1 mL of 0.1 M *sodium hydroxide* is equivalent to 33.07 mg of $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$.

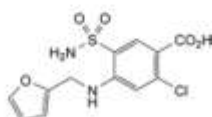
STORAGE

Protected from light.

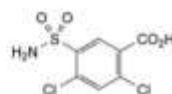
IMPURITIES

Specified impurities: C, D.

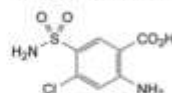
Other detectable impurities (the following substances would, if present at a sufficient level, be detected by one or other of the tests in the monograph. They are limited by the general acceptance criterion for other/unspecified impurities and/or by the general monograph *Substances for pharmaceutical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



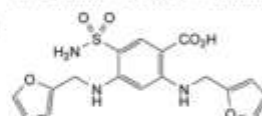
A. 2-chloro-4-[(furan-2-ylmethyl)amino]-5-sulfamoylbenzoic acid,



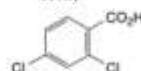
B. 2,4-dichloro-5-sulfamoylbenzoic acid,



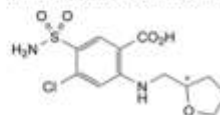
C. 2-amino-4-chloro-5-sulfamoylbenzoic acid,



D. 2,4-bis[(furan-2-ylmethyl)amino]-5-sulfamoylbenzoic acid,

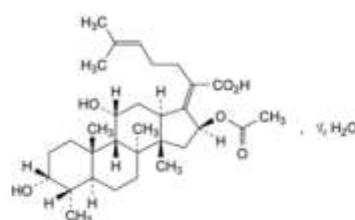


E. 2,4-dichlorobenzoic acid,



F. 4-chloro-5-sulfamoyl-2-[[[(2RS)-tetrahydrofuran-2-yl]methyl]amino]benzoic acid.

01/2012:0798

FUSIDIC ACID**Acidum fusidicum**

$C_{31}H_{48}O_6 \cdot \frac{1}{2}H_2O$
[6990-06-3]

M_r 525.7

DEFINITION

ent-(17Z)-16 α -(Acetyloxy)-3 β ,11 β -dihydroxy-4 β ,8,14-trimethyl-18-nor-5 β ,10 α -cholesta-17(20),24-dien-21-oic acid hemihydrate.

Antimicrobial substance produced by fermentation of certain strains of *Fusidium coccineum* or by any other means.

Content: 97.5 per cent to 101.0 per cent (anhydrous substance).

CHARACTERS

Appearance: white or almost white, crystalline powder.

Solubility: practically insoluble in water, freely soluble in ethanol (96 per cent).

IDENTIFICATION

A. Infrared absorption spectrophotometry (2.2.24).

Comparison: fusidic acid CRS.

B. Ignite 1 g. The residue does not give reaction (a) of sodium (2.3.1).

Додаток 3.

Ваги лабораторні MettlerToledo XS204, допустиме навантаження становить 220 г, дискретність – 0,1 мг.



Додаток 4.

Спектрофотометр Jenway 6305 (Велика Британія).



SUMMARY

Ivan TSELYNA

QUANTITATIVE DETERMINATION OF FUROSEMIDE IN TABLETS DEPARTMENT OF DRUG TECHNOLOGY

Scientific supervisor: professor Tetiana REVA, assistant professor Oksana GOLOVCHENKO

Keywords: UV-spectrophotometry, furosemide.

Introduction. Diuretics are diuretic drugs, the mechanism of action of which is to improve the excretory function of the kidneys, are used in the treatment of hypertension, edema, diabetes insipidus, poisoning, etc.

Purpose of the study. The development of accurate, modern and simple methods for the quantitative determination of diuretics is relevant, therefore the purpose of our study was to model and test the UV-spectrophotometric determination of furosemide in tablets.

Research methods. UV-spectrophotometry.

Results. When analyzing regulatory documents on the quantitative determination of diuretics, we found that the majority of methods are based on various chromatographic methods, especially HPLC. Of course, the HPLC method is the most modern, but at the same time it should be noted that the main disadvantages of HPLC are the complexity of the equipment and the high cost of the analyzes. We would like to note the scientific achievements of Ukrainian scientists who propose to determine furosemide by UV spectrophotometry. Taking into account the results of the study and the conclusions of our colleagues, we propose to determine the API by the calibration graph method by UV spectrophotometry, measuring the optical density at 271 nm. As the objects of the study, we chose tablets of a domestic manufacturer, which contain furosemide in an amount of 40 mg, and a 0.01M alkali solution as the solvent. The calibration graph was built for standard diluted solutions of furosemide within the range of 0.0001%-0.001%, the solutions were prepared by standard

methods for preparing solutions from a pharmacopoeial standard sample. The method was checked for intralaboratory accuracy, and the stability of the solutions was checked for an hour as a function of the optical density dependence on time.

Conclusions. A method for UV spectrophotometric determination of furosemide in tablets was developed and tested, the relative error of the average value did not exceed 2.0%

СЕРТИФІКАТ УЧАСТІ У КОНФЕРЕНЦІЇ ТА МАТЕРІАЛИ КОНФЕРЕНЦІЇ








МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ
ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ

НАЦІОНАЛЬНИЙ
ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ

КАФЕДРА БІОТЕХНОЛОГІЇ

СЕРТИФІКАТ

учасника

№313

Цим засвідчується, що

Цілина І. В.

брав(ла) участь у роботі VI Міжнародної
науково-практичної конференції

**«ПРОБЛЕМИ ТА ДОСЯГНЕННЯ
СУЧАСНОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ»**

(тривалість - 8 год)

27 березня 2026 р., м. Харків, Україна

Ректор НФаУ,
д. фарм. н., проф.

Перший проректор ЗВО
з науково-педагогічної роботи,
д. фарм. н., проф.

Завідувачка кафедри
біотехнології НФаУ,
д. фарм. н., проф.



Олександр КУХТЕНКО



Олена РУБАН



Наталья ХОХЛЕНКОВА





VI Міжнародна науково-практична конференція

ПРОБЛЕМИ ТА ДОСЯГНЕННЯ СУЧАСНОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ

27 березня 2026 р.
м. Харків, Україна

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА БІОТЕХНОЛОГІЇ

**ПРОБЛЕМИ ТА ДОСЯГНЕННЯ
СУЧАСНОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ**

Матеріали
VI міжнародної науково-практичної
конференції

27 березня 2026 року
Харків

Розробка методики кількісного визначення

АФІ фуросемід у таблетках

Цілина І. В., Рева Т. Д.

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ, Україна
iw.tsilyna@gmail.com, revatd@ukr.net

Діуретиками називають сечогінні лікарські засоби, механізм дії яких полягає у покращенні видільної функції нирок, препарати використовуються при лікуванні гіпертонічної хвороби, набряків, нецукрового діабету, отруєннях тощо. Метою нашого дослідження була розробка та апробація кількісного УФ – спектрофотометричного визначення АФІ фуросемід у таблетках.

При аналізі чисельних публікацій у фахових виданнях та нормативних статей (у Європейській та Британській фармакопех, у фармакопехі Сполучених Штатів Америки) щодо кількісного визначення діуретиків нами було визначено, що переважна кількість методик базується на різноманітних інструментальних методах, особливо на вискоелективній рідинній хроматографії (ВЕРХ). Але хотілося б відмітити наукові здобутки вчених (Alfred-Ugbenbo, D., Zdoryk, O. A., & Georgiyants, V. A. (2017). Валідація методики кількісного визначення фуросеміду в екстемпорально виготовленому сиропі. *Медична та клінічна хімія*, (2), 5–11. <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2017.v0.i2.7859>), які запропонували кількісно визначати фуросемід методом УФ – спектрофотометрії. Враховуючи результати та висновки вищезгаданого дослідження, ми розробили та провели кількісне визначення величини абсорбції фуросеміду при 271 нм за методом градуовального графіка. Об'єктами дослідження ми обрали таблетки вітчизняного виробника, до складу яких входить фуросемід, розчинником обрали розчин лути. Градуовальний графік будували для стандартних розведених розчинів фуросеміду (готували зі стандартного фармакопейного зразка) у межах концентрацій 0,0001%-0,001%, розчини готували стандартними методиками приготування розчинів. При статистичній обробці результатів було з'ясовано, що відносна похибка середнього значення не перебільшувала 2,0%, що відповідає вимогам ДФУ.

Перспективи використання біосинтезованих за участю <i>Pichia kudriavzevii</i> наночастинок цинку як фізичних УФ-фільтрів у сонцезахисних кремах Топіха Т. С., Скроцька О. І.	393
Вплив ферментату культури <i>Bifidobacterium bifidum</i> LVA-3 на властивості мезенхімальних стовбурових клітин людини Труфанова Н. А., Труфанов О. В., Раєвська І. М., Петренко О. Ю.	395
Ефект захисних середовищ на основі мальтодекстрину на збереження життєздатності молочнокислих бактерій Хабленко А. Д., Даниленко С. Г., Дуган О. М., Яловенко О. І.	397
Характеристика різних культур МСК за походженням та їх здібностями до високої продукції позаклітинних везикул з низькою запальною активністю Хмельницька Ю. М., Пиктєєв Д. М., Мельник А. С., Юр'єв Б. В., Гуменюк М. І.	399
Роль ліпосом як систем доставки ад'ювантів у підсиленні імунної відповіді Ходаківська Ю. О., Пономаренко А. О.	401
Синбіотична формула на основі штамів <i>L. rhamnosus</i> GG та <i>L. Acidophilus</i> Хупенія К. Г., Двінських Н. В.	403
Інноваційні біотехнології у створенні харчових продуктів з антиоксидантними властивостями Цехмістренко С. І., Данченко О. О., Бітюцький В. С., Цехмістренко О. С.	404
Синтез та противірусна дія похідних 4,6-біс(піролідин-1-іл)- <i>N</i> -(<i>R</i> -феніл)-1,3,5-триазин-2-амінів щодо вірусу Такарібе Циганков А. С., Новодворський Є. М., Москаленко О. В., Демченко А. М.	407
Розробка методики кількісного визначення АФІ фуросемід у таблетках Цілина І. В., Рева Т. Д.	409
Застосування неіонної поверхнево-активної сполуки для збереженості цілісності еритроцитів при постгіпертонічному шоці Чабаненко О. О., Єршова Н. А., Шпакова Н. М.	410
Екологічна роль біопрепаратів у формуванні стійкості агроекосистем за кліматичної нестабільності Чайка Т. О., Лотип І. І.	412
Біоремедіація повітря: сучасні біотехнології очищення атмосферних викидів Чернишова Б. С., Пилипенко Д. М.	415

