

Міністерство охорони здоров'я України  
Запорізький державний медичний університет

На правах рукопису

МЕДВЕДЄВА КАТЕРИНА ПАВЛІВНА

УДК 543.42.062:[615.31:074:547-304.2]

РОЗРОБКА СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНИХ МЕТОДИК КІЛЬКІСНОГО  
ВИЗНАЧЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН, ЩО МІСТЯТЬ ПЕРВИННУ  
АЛІФАТИЧНУ АМІНОГРУПУ

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

Дисертація на здобуття наукового ступеня  
кандидата фармацевтичних наук

Науковий керівник  
Васюк Світлана Олександрівна,  
доктор фармацевтичних наук, професор

Запоріжжя – 2015

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	5
ВСТУП.....	6
РОЗДІЛ 1. МЕТОДИ АНАЛІЗУ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН, ЩО МІСТЯТЬ В СВОЄМУ СКЛАДІ ПЕРВИННУ АЛІФАТИЧНУ АМІНОГРУПУ (Огляд літератури).....	13
1.1 Застосування хінонів та нафтохінонів в фармацевтичному аналізі лікарських речовин.....	13
1.2 Методи аналізу лікарських речовин, що містять в своєму складі первинну аліфатичну аміногрупу.....	24
1.3 Офіційні методи аналізу досліджуваних лікарських речовин.....	31
РОЗДІЛ 2. ОБ'ЄКТИ ДОСЛІДЖЕННЯ, РЕАГЕНТИ, РОЗЧИННИКИ ТА ЗАГАЛЬНІ МЕТОДИ АНАЛІЗУ.....	34
2.1 Об'єкти дослідження.....	34
2.2 Реагенти та розчинники.....	38
2.3 Загальні методи аналізу.....	39
РОЗДІЛ 3. СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН, ЩО МІСТЯТЬ ПЕРВИННУ АЛІФАТИЧНУ АМІНОГРУПУ.....	42
3.1 Вивчення оптимальних умов реакцій лікарських речовин, що містять первинну аліфатичну аміногрупу з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти.....	42
3.2 Вивчення оптимальних умов реакцій лікарських речовин, що містять первинну аліфатичну аміногрупу з 2,3-дихлор-1,4-нафтохіноном.....	51

3.3 Встановлення аналітичних показників чутливості реакцій досліджуваних лікарських речовин, що містять первинну аліфатичну аміногрупу з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти та 2,3-дихлор-1,4-нафтохіноном.....	55
3.4 Застосування натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти як детектуючого реагенту в тонкошаровій хроматографії для якісного визначення досліджуваних сполук.....	57
3.5 Визначення стехіометричних співвідношень реагуючих компонентів в реакціях лікарських речовин, що містять первинну аліфатичну аміногрупу з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти та 2,3-дихлор-1,4-нафтохіноном.....	60
3.6 Встановлення складу та препаративний синтез продуктів реакцій натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти та 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону з досліджуваними лікарськими речовинами, що містять первинну аліфатичну аміногрупу.....	66
ВИСНОВКИ.....	69
РОЗДІЛ 4. РОЗРОБКА МЕТОДИК КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ ЗА ЇХ РЕАКЦІЯМИ З НАТРІЄВОЮ СІЛЛЮ 1,2-НАФТОХІНОН-4-СУЛЬФО КИСЛОТИ ТА 2,3-ДИХЛОП-1,4-НАФТОХІНОНОМ.....	71
4.1 Методика визначення питомого показника поглинання лікарських речовин за їх реакцією з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти.....	71
4.2 Методики кількісного визначення амікацину сульфату, канаміцину моносульфату, глюкозаміну гідрохлориду, стрептоміцину сульфату, таурину, β-аланіну та γ-аміномасляної кислоти в лікарських формах.....	73

4.3	Методика визначення питомого показника поглинання лікарських речовин за їх реакцією з 2,3-дихлор-1,4-нафтохіноном.....	82
4.4	Методики кількісного визначення гліцину та гентаміцину сульфату в лікарських формах.....	84
	ВИСНОВКИ.....	89
	РОЗДІЛ 5. ВАЛІДАЦІЯ МЕТОДИК КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН, ЩО МІСТЯТЬ ПЕРВИННУ АЛІФАТИЧНУ АМІНОГРУПУ.....	90
5.1	Специфічність.....	90
5.2	Лінійність.....	94
5.3	Прецизійність.....	99
5.4	Правильність.....	103
5.5	Діапазон застосування.....	108
5.6	Робасність.....	109
	ВИСНОВКИ.....	113
	ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ.....	115
	СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	117
	ДОДАТКИ.....	139

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

БХ	– 1,4-бензохінон;
ВЕРХ	– високоефективна рідинна хроматографія;
ДДХ	– 2,3-дихлор-5,6-диціано-1,4-бензохінон;
ДМФА	– диметилформахід;
ДФУ	– Державна Фармакопея України;
ДХХ	– дихлор- <i>n</i> -бензохінон-4-хлоріхід;
ІЧ	– інфрачервоний;
ЛР	– лікарська речовина;
МКЯ	– методи контролю якості;
РСЗ	– робочий стандартний зразок;
ТШХ	– тонкошарова хроматографія;
УФ	– ультрафіолетовий;
ЯМР	– ядерний магнітний резонанс;
ВР	– (British Pharmacopoeia) Британська фармакопея;
JP	– (Japanese Pharmacopoeia) Японська фармакопея;
USP	– (United States Pharmacopoeia) Фармакопея США.

## ВСТУП

### **Актуальність теми**

Забезпечення якості ліків на усіх етапах їх життєвого циклу є важливою задачею фармацевтичної галузі. Важливим елементом цієї системи є контроль якості ліків, що здійснюється за допомогою сучасних фізико-хімічних методів аналізу, у тому числі абсорбційної спектрофотометрії в УФ- та видимій областях спектра. Можливість визначення за функціональними групами молекул лікарських речовин, доступність, простота виконання, експресність, висока точність вимірів, що забезпечується використанням відносно недорогої сучасної апаратури роблять спектрофотометричний аналіз одним з найбільш розповсюджених методів на хіміко-фармацевтичних підприємствах для встановлення доброякісності ліків, моніторингу напівпродуктів в ході виробництва, у контролі якості готової продукції та вихідної сировини. Цей метод широко застосовується в роботі Державної служби з лікарських засобів. У зв'язку з цим актуальним є розширення асортименту специфічних органічних аналітичних реагентів. Похідні нафтохінону, а саме, натрієва сіль 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти та 2,3-дихлор-1,4-нафтохінон є відомими кольорореагентами, однак, недостатньо досліджена можливість їх використання для кількісного визначення аміноглікозидних антибіотиків, глюкозаміну та деяких аліфатичних амінокислот. Отже, розробка доступних, чутливих, експресних, нескладних у виконанні спектрофотометричних методик кількісного визначення лікарських речовин у лікарських препаратах із застосуванням похідних нафтохінону є актуальною проблемою сучасного фармацевтичного аналізу.

### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами**

Дисертаційна робота виконана у відповідності з планом наукових досліджень Запорізького державного медичного університету і є фрагментом комплексної теми «Застосування фізико-хімічних методів в аналізі лікарських речовин, похідних амінів, азолів та інших» (№ державної реєстрації

0111U005857). Дисертантом особисто розроблені методики кількісного визначення лікарських речовин, що містять первинну аліфатичну аміногрупу.

### **Мета і задачі дослідження**

Мета дисертаційної роботи – наукове обґрунтування та розробка чутливих, простих у виконанні, валідованих спектрофотометричних методик визначення лікарських речовин, що містять первинну аліфатичну аміногрупу, у лікарських формах. Для реалізації поставленої мети необхідно було вирішити такі задачі:

- провести аналіз літературних джерел щодо кількісного визначення обраних лікарських речовин, що містять первинну аліфатичну аміногрупу, а також застосування похідних нафтохінону в спектрофотометричному аналізі;
- встановити оптимальні умови перебігу реакцій аналізованих лікарських речовин, що містять первинну аліфатичну аміногрупу з кольорореагентами та розрахувати аналітичні показники чутливості реакцій;
- розробити спектрофотометричні методики кількісного визначення лікарських речовин, що містять первинну аліфатичну аміногрупу, у складі готових лікарських форм;
- запропонувати хімізм взаємодії, встановити коефіцієнти стехіометричних співвідношень «реагент – лікарська речовина», виділити та встановити будову сполук, які утворюються в результаті реакцій;
- визначити валідаційні характеристики розроблених спектрофотометричних методик досліджуваних лікарських речовин;
- довести можливість застосування натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти як проявного реагенту в тонкошаровій хроматографії для обраних лікарських речовин, що містять первинну аліфатичну аміногрупу.

*Об'єкти дослідження.* Розробка спектрофотометричних методів кількісного аналізу у видимій області спектра лікарських речовин, що містять в своєму складі первинну аліфатичну аміногрупу, у складі лікарських препаратів.

*Предмет дослідження.* 9 субстанцій, до складу яких входить первинна аліфатична аміногрупа, 25 лікарських форм, до складу яких входять досліджувані субстанції.

### **Методи дослідження**

Для розробки нових методик кількісного аналізу досліджуваних лікарських речовин застосовано спектрофотометрію у видимій області спектра та тонкошарову хроматографію (ТШХ). Обробку спектрів проводили з використанням програмного пакету WinASPECT 2.2.1.0. Для ідентифікації продуктів реакцій використовували хромато-мас-спектрометрію. Стехіометричні співвідношення реагуючих речовин встановлювали спектрофотометричними методами: насичення, ізомолярних серій. Побудову графіків та розрахунок параметрів лінійної залежності проводили з використанням програми «Sigma Plot v.11.0».

### **Наукова новизна одержаних результатів**

Вперше експериментально доведено та науково обґрунтовано можливість застосування натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти та 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону у фармацевтичному аналізі для кількісного спектрофотометричного визначення глюкозаміну, аміноглікозидних антибіотиків та деяких амінокислот.

Встановлено оптимальні умови перебігу реакцій натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти та 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону з 9 лікарськими речовинами, що містять первинну аліфатичну аміногрупу, розраховано аналітичні показники чутливості реакцій.

Визначено коефіцієнти стехіометричних співвідношень «реагент – лікарська речовина» для реакцій натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти та 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону з лікарськими речовинами, що містять первинну аліфатичну аміногрупу, виділено та ідентифіковано продукти реакцій, запропоновано хімізми реакцій.



Запропоновано натрієву сіль 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти як чутливий та доступний проявний реагент для обраних лікарських речовин, що містять первинну аліфатичну аміногрупу, із застосуванням методу ТШХ.

Наукова новизна одержаних результатів підтверджена 2 патентами України на корисну модель (дод. А та Б).

### **Практичне значення одержаних результатів**

Розширено асортимент аналітичних реагентів для кількісного спектрофотометричного аналізу глюкозаміну та аміноглікозидних антибіотиків. Розроблено та валідовано нові, чутливі та прості у виконанні методики кількісного визначення 9 досліджуваних сполук з первинною аліфатичною аміногрупою у складі 25 лікарських форм промислового виробництва.

Результати досліджень знайшли застосування в науково-педагогічному процесі при викладанні курсу фармацевтичної хімії на кафедрах фармацевтичних факультетів Запорізького державного медичного університету (дод. В), Запорізького Національного університету (дод. Д), Національного фармацевтичного університету (м. Харків) (дод. Е), Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (дод. Ж), Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського (дод. З), Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика (дод. К та Л). Розроблені методики визначення впроваджено в практику роботи Державної служби з лікарських засобів у Запорізькій області (дод. М та Н).

«Спектрофотометричний спосіб кількісного визначення глюкозаміну» включено до галузевого реєстру нововведень МОЗ України за 2014 р. (реєстр. № 171/1/14) (дод. П).

### **Особистий внесок здобувача**

Здобувачем самостійно вивчені, проаналізовані та узагальнені дані літератури з питань, що стосуються теми дисертації, виконана експериментальна частина дисертаційної роботи, проведена графічна та

статистична обробка одержаних результатів, написані всі розділи дисертаційної роботи, сформульовані висновки та запропоновані практичні рекомендації. Постановка задачі та обговорення результатів проведені з науковим керівником.

### **Апробація результатів дисертації**

Основні результати досліджень доповідалися та обговорювалися на Всеукраїнській конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2011» (Запоріжжя, 2011), 72 Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю, присвяченій Дню науки «Медицина та фармація XXI століття – крок у майбутнє» (Запоріжжя, 2012), I регіональній науково-практичній конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Актуальні проблеми та перспективи розвитку природничих наук» (Запоріжжя, 2012), I міжнародній інтернет-конференції «Современные достижения медицинской и фармацевтической науки» (Запоріжжя, 2012), XII міжнародному медичному конгресі студентів і молодих вчених (Тернопіль, 2013), міжнародній студентській науковій конференції «Перший крок в науку – 2013» (Вінниця, 2013), 73 Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю, присвяченій Дню науки «Медицина та фармація XXI століття – крок у майбутнє» (Запоріжжя, 2013), п'ятій науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 2013), третій міжнародній конференції «Plant – the source of research material» (Lublin, 2013), 67 міжнародному науково-практичному конгресі студентів та молодих вчених «Актуальні проблеми сучасної медицини» (Київ, 2013), науково-практичній конференції «Сучасні аспекти медицини і фармації півдня України» (Одеса, 2013), II регіональній науково-практичній конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Актуальні проблеми та перспективи розвитку медичних, фармацевтичних та природничих наук – 2013» (Запоріжжя, 2013),

Українській науково-практичній конференції, присвяченій 100-річчю з дня народження доктора хімічних наук, професора П. О. Петюніна» (Харків, 2014), Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2014» (Запоріжжя, 2014), III регіональній науково-практичній конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Актуальні проблеми та перспективи розвитку медичних, фармацевтичних та природничих наук – 2014» (Запоріжжя, 2014), міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Аналітична хімія в фармації» (Харків, 2015), Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю, присвяченій Дню науки «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2015» (Запоріжжя, 2015), міжнародній науково-практичній конференції «Медична наука та практика на сучасному історичному етапі» (Київ, 2015), 55 ювілейній науковій конференції студентів та молодих вчених ЗКГМУ ім. Марата Оспанова з міжнародною участю (Актобе, 2015), XXXII Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, 2015), підсумковій науково-практичній конференції «Здобутки клінічної та експериментальної медицини» (Тернопіль, 2015).

Апробацію роботи проведено 26 червня 2015 року на спільному засіданні професорсько-викладацького складу кафедр аналітичної хімії; біохімії та лабораторної діагностики; органічної та біоорганічної хімії; фармацевтичної хімії; фармакогнозії, фармакології та ботаніки; токсикологічної і неорганічної хімії; управління і економіки фармації, медичного та фармацевтичного товарознавства; фізколоїдної хімії Запорізького державного медичного університету.

### **Публікації**

За результатами дисертаційних досліджень опубліковано 32 наукові роботи, у тому числі 7 статей (4 статті у фахових виданнях України, 3 статті у виданнях іноземних держав), з яких 6 статей у виданнях, що входять до

міжнародних наукометричних баз, 2 патенти України на корисну модель, 22 тези доповідей, 1 нововведення.

РОЗДІЛ 1  
МЕТОДИ АНАЛІЗУ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН, ЩО МІСТЯТЬ В СВОЄМУ  
СКЛАДІ ПЕРВИННУ АЛІФАТИЧНУ АМІНОГРУПУ  
(ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1 Застосування хінонів та нафтохінонів в фармацевтичному аналізі лікарських речовин

Спектрофотометрія у видимій області спектра дозволяє проводити визначення за функціональними групами досліджуваної речовини, в зв'язку з чим виникає необхідність використання специфічних реагентів.

Серед численних органічних реагентів хінони та їх похідні представляють собою перспективну групу кольорореагентів для використання їх в спектрофотометричному аналізі лікарських засобів. Висока реакційна спроможність даних реагентів, завдяки наявності карбонільної групи, зумовлює їх широке застосування в отриманні забарвлених сполук з багатьма лікарськими речовинами та розробки, на цій основі, спектрофотометричних методів аналізу у видимій області спектра.

Родоначальником в ряду даних реагентів є *n*-бензохінон, взаємодія якого згадана не лише з органічними речовинами, що містять первинну аміногрупу, але й з багатьма іншими. Наприклад, ще Яворський М. П. описав взаємодію *n*-бензохінону з більш ніж 300 лікарськими речовинами (первинні та вторинні аміни, резорцин, гептилрезорцин, орцин, ацетилацетон та іншими) [1].

Останніми роками, згідно даних літератури, 2,3-дихлор-5,6-диціано-1,4-бензохінон (ДДХ), набуває не аби яку перспективність в якості кольорореагенту в спектрофотометричному аналізі багатьох лікарських речовин.

Так, 2,3-дихлор-5,6-диціано-1,4-бензохінон був описаний в методиці кількісного визначення цефалоспоринових антибіотиків (цефадроксил,

цефрадин) в лікарських препаратах. Суть методу полягає в наступному: реакцію реагент – лікарська речовина проводили в середовищі хлороформу, реакційну суміш витримували протягом 10 хв та спектрофотометрували на фоні компенсаційного розчину при 470 нм [2].

Відома інформація щодо спектрофотометричного визначення  $\beta$ -лактамних антибіотиків, а саме, клоксациліну та ампіциліну, в лікарських формах на основі утворення продукту реакції з ДДХ та подальшим вимірюванням абсорбції (для ампіцилін – ДДХ  $\lambda_{\max}=524$  нм; клоксацилін – ДДХ  $\lambda_{\max}=410$  нм) отриманих забарвлених розчинів [3]. Авторами експериментально доведено, що для підвищення чутливості визначення ампіциліну необхідно створення кислотного середовища в реакційній суміші, тоді як для клоксациліну – лужного. Приведені дані свідчать про достатню стабільність розчинів в часі за кімнатної температури, а розраховані метрологічні характеристики підтверджують коректність та придатність методик для аналізу досліджуваних лікарських речовин в лікарських формах.

Пряму спектрофотометричну методику аналізу амікацину за утворенням забарвленого продукту взаємодії з ДДХ у водному середовищі запропонував Theia'a N. Al-Sabha [4].

Відомі також способи кількісного спектрофотометричного визначення ризатріптану в субстанції та лікарських формах за реакціями з *n*-хлоранілом та ДДХ, розроблені Kudige N. Prashanth [5].

Описаний метод спектрофотометричного визначення напівсинтетичних пеніцилінів (флуклоксацилін) на основі взаємодії з ДДХ. Автори стверджують, що методика є високочутливою (межа виявлення – 16 мкг/мл), точною і правильною, їй притаманна значна простота у виконанні. Стехіометричне співвідношення реагент – флуклоксацилін становить 1:1 [6].

Спектрофотометричні методи визначення таких широко використовуваних в психіатричній практиці препаратів, як похідні фенотіазину (хлорпромазин, тіорідазин) та алпразоламу розроблені також на основі реакції з 2,3-дихлор-5,6-диціано-1,4-бензохіноном та подальшим

вимірюванням абсорбції досліджуваних забарвлених розчинів. Методика виконана методом стандарту, є валідованою, та опрацьована на лікарських засобах. Автори даної публікації стверджують, що, судячи з розрахованих ними валідаційних характеристик, методика є кращою за нині існуючі, завдяки можливості кількісного визначення діючих речовин за присутності допоміжних компонентів [7].

В літературі описано метод кількісного визначення гіпотензивних препаратів, а саме, блокаторів кальцієвих каналів (амлодипіну бесилат) та  $\beta$ -адреноблокаторів (пропранолол) у препаратах за їх забарвленими продуктами з ДДХ, що поглинають за довжини хвилі 580 нм. Розроблені методики характеризуються високою чутливістю, апробовані як *in bulk*, так й на лікарських препаратах [8–9].

Широке практичне значення, як для ідентифікації, так і для кількісного визначення багатьох лікарських речовин мають 2,6-дибром-*n*-бензохінон-4-хлорід, 2,6-дихлор-*n*-бензохінон-4-хлорід (реактив Гіббса). Реакцію Гіббса дають феноли з вільним *n*-положенням, а також деякі інші сполуки, такі як, наприклад, тіоли, сечова кислота, піридоксин [10]. Отримання індофенолів доволі повільна процедура, а при малих кількостях фенолу в суміші, інтенсивне забарвлення можливо зафіксувати лише декілька годин тому. Тому деякі автори рекомендують використання 2,6-дихлор-*n*-бензохінон-4-хлориду (ДХХ) в якості кольореагенту для отримання кращих результатів, ніж у його броманалога, зокрема при кількісному визначенні кумарину в рослинній сировині за реакцією з 2,6-дихлор-*n*-бензохінон-4-хлорідом абсорбція отриманих забарвлених розчинів була на 10% відсотків вища, ніж з використанням 2,6-дибром-*n*-бензохінон-4-хлориду.

Відомими є методики визначення таких гіпотензивних лікарських речовин, як метилдопа та каптоприл на основі утворення продуктів взаємодії жовтого кольору ( $\lambda_{\max}=400$  нм) з ДХХ. Реакції перебігають у водному середовищі (з додаванням ацетатного буферу близько 1% від загального об'єму) у випадку метилдопи, а для визначення каптоприлу, в якості

розчинника використовують диметилсульфоксид. Методики відзначаються дешевизною та простотою виконання [11–12].

У випадку допаміну, як в субстанції, так і в ін'єкційних розчинах, реакцію з розчином реагенту проводять в водно-етанольному середовищі за кімнатної температури з утворенням забарвленого розчину з максимумом абсорбції при 470 нм. Стехіометричні співвідношення речовин в продукті реакції визначили як 1:4 (допамін – ДХХ відповідно) [13].

Оптимальні умови взаємодії сальбутамолу з 2,6-дихлор-*n*-бензохінон-4-хлорімідом як в субстанції, так й в лікарських формах досліджували Mohamed G. G. зі співавторами. Підпорядкованість закону Бера спостерігається в межах концентрацій 1,00–30,0 мг/100 мл, а розраховані аналітичні показники свідчать про достатньо високу чутливість реакції [14].

В роботі [15] авторами було запропоновано спосіб кількісного визначення перметрину на основі взаємодії даної речовини з реактивом Гіббса.

Простий, вільний від екстрактивних прийомів, спектрофотометричний метод кількісного визначення прегабаліну в капсулах описано вченими з Індії. Метод заснований на утворенні продукту взаємодії лікарського засобу з 2,6-дихлор-*n*-бензохінон-4-хлорімідом в середовищі метанолу з максимумом світлопоглинання при 400 нм [16–17].

Протиревматичні засоби на основі D-пеніциламіну та лефлуноміду також кількісно визначають спектрофотометричним методом за вимірюванням оптичної густини забарвлених продуктів взаємодії з реактивом Гіббса на фоні розчинів, що не містять досліджуваних речовин. Особливим є те, що вчений Abbas S. S. доводить специфічність методу визначення лефлуноміду, визначаючи лікарську речовину не тільки в чистому вигляді та в лікарських засобах, а й за присутності продуктів його деградації, отриманих шляхом штучного старіння лікарських препаратів [18].



2,6-дихлор-*n*-бензохінон-4-хлорід використовується в якості універсального реагенту – детектора в тонкошаровій хроматографії органічних лікарських речовин різної хімічної структури.

З похідних нафтохінону, які застосовуються в якості реактивів для аналізу органічних речовин, звертає до себе увагу натрієва сіль 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти, яка здатна взаємодіяти з утворенням забарвлених продуктів реакції з амінами, амінокислотами, гетероциклічними сполуками, до складу яких входить вторинний атом азоту, речовинами з активною метиленовою групою [19].

Яворський Н. П. [20] досліджував якісну реакцію натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти з лікарськими й іншими речовинами. Встановлено, що даний реагент при взаємодії з ароматичними амінами та їх похідними утворює осаді червоного кольору, які є розчинними у розчинах лугів.

Аліфатичні аміни, амінокислоти утворюють коричнево-червоне забарвлення, яке з'являється після нагрівання або додавання розчинів лугів. Натрієві солі сульфамідних препаратів дають червоне забарвлення та після підкислення реакційної суміші утворюють червоні осаді, які розчиняються в розчинах лугів.

Сполуки з активною метиленовою групою, а також деякі феноли, реагують тільки за присутності розчинів лугів. Автором доведено, що хімічною сутністю даного методу є перетворення  $\beta$ -нафтохінону в похідне  $\alpha$ -нафтохінону, в якому присутній більш подовжений ланцюг кон'югації.

Описані методики кількісного визначення цефалоспоринових антибіотиків за реакцією з натрієвої сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти. Цефдінір визначається як *in bulk*, так й в складі лікарських препаратів на основі взаємодії з реагентом у лужному середовищі (рН=11,0) з утворенням забарвленого продукту з максимумом світлопоглинання при 490 нм [21]. Цефадроксил та цефуроксим визначають спектрофлуориметрично. Метод заснований на реакції між цефалоспоринами та натрієвої сіллю

1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти в лужному середовищі з утворенням флуоресцентних похідних, які згодом екстрагують хлороформом та спектрофотометрують при 470 та 460 нм відповідно [22–25].

Також в літературі надається інформація відносно спектрофотометричного визначення двох макролідів, а саме, азитроміцину та еритроміцину, за реакцією з натрієвої сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти в лужному середовищі за температури 25°C з утворенням помаранчевого продукту реакції з  $\lambda_{\max}=452$  нм [26].

Запропоновані спектрофотометричні методики визначення деяких протипаркінсонічних лікарських речовин – L-допи та мемантіну – за утворенням забарвленого продукту з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти [27–28].

Ulu S. T. в роботі [29] дослідив оптимальні умови реакції натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти з атомоксетином в лужному середовищі та запропонував на їх основі нову чутливу методику аналізу.

В літературі описано визначення антидепресантів (пароксетину та флувоксаміну) за реакцією з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти у буферному розчині (рН 9,0) з утворенням продуктів взаємодії помаранчевого кольору при  $\lambda_{\max}$  488 нм та 470 нм відповідно [30–33].

Li Q. M. зі співавторами запропонував використовувати натрієву сіль 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти в якості органічного хромогенного реагенту для спектрофотометричного визначення амінометилбензойної кислоти в ін'єкційному розчині. Розроблена методика – чутлива, лінійна, точна та правильна й може використовуватися в аналізі інших лікарських форм даної лікарської речовини [34].

Вченими з Yildiz Technical University (Туреччина) було запропоновано проводити кількісне визначення празозину в таблетках за його забарвленим продуктом реакції з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти, що

поглинав за довжини хвилі 400 нм, після попередньої екстракції *n*-бутанолом [35].

Допамін також реагує з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти. Чутливість визначення підвищували шляхом додавання зефіраміну. За цих умов реакція взаємодії відбувалася в лужному середовищі, максимум абсорбції вимірювали при 490 нм [36].

Elbashir A. A. та Ebraheem S. A. M. зі співавторами розробили селективні, високочутливі, валідні спектрофотометричні методи кількісного визначення моксифлоксацину та геміфлоксацину в лікарських формах, які ґрунтуються на взаємодії лікарських речовин з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти в лужному середовищі з утворенням забарвлених розчинів з максимумами світлопоглинання при 411 нм [37–39].

Описано застосування натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти для визначення золмітриптану як *in bulk*, так й в лікарських препаратах [40]. Водні розчини лікарської речовини та реагенту взаємодіють при 30°C протягом 10 хв в середовищі 0,01 М розчину NaOH. Отриманні забарвлені розчини спектрофотометрують на фоні розчину, що не містить досліджуваної речовини, при 485 нм.

Відомий також спосіб кількісного спектрофотометричного визначення доріпетему в субстанції та лікарських формах за реакцією з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти, розроблений K. Raghu Babu з Andhra University (Індія) [41].

Для кількісного визначення дапсону в таблетках розроблена спектрофотометрична методика, заснована на вимірюванні абсорбції продукту реакції при 440 нм [42]. В процесі визначення до аналізованої проби (рН=2,00) додають реагент в надлишку та видержують реакційну суміш протягом 30 хв за температури 60°C. Потім продукт реакції екстрагують сумішшю хлороформ–бутанол (3:1) з подальшим спектрофотометричним визначенням.

Запропоноване спектрофотометричне визначення тіопроніну, який застосовується для профілактики сечокам'яної хвороби. Метод заснований на взаємодії тіопроніну з реагентом у буферному розчині (рН=13,0) та вимірюванні абсорбції при  $\lambda_{\max}=445$  нм [43].

В літературі зустрічаються дані щодо кількісного визначення парацетамолу та фенацетину за реакцією з сумішшю розчинів натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти й цетилтриметиламонію броміду в лужному середовищі. Максимуми світлопоглинання складають 570 нм та 500 нм відповідно [44].

Габапентин взаємодіє з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти в середовищі Clark and Lubs буферу (рН=11,0) з утворенням світло-коричневого продукту реакції, який потім спектрофотометрують у видимій області спектра [45].

Прості та чутливі видимі спектрофотометричні методи були розроблені для визначення сітагліптіну як в субстанції, так й в лікарських формах. Методи засновані на реакції нуклеофільного заміщення між реагентом та лікарською речовиною з наступним утворенням забарвленого продукту взаємодії з максимумом поглинання при 450 нм [46].

Abdalla A. зі співавторами розробили методику кількісного визначення дараприму за реакцією з натрієвої сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти. Реакція перебігає в водно-метанольному середовищі з додаванням буферу (рН=13,0) та нагріванням при 60°C протягом 15 хв. Після охолодження, реакційну суміш переносять у мірний посуд, доводять водою до позначки та проводять спектрофотометричне визначення за максимумом світлопоглинання при 483 нм [47].

Вчений Hashimoto описує кількісне визначення фенилетиламіну на основі взаємодії з розчином 1,2-нафтохінон-4-сульфонатом натрію в лужному середовищі при нагріванні, з подальшим охолодженням та вимірюванням оптичної густини забарвлених розчинів – продуктів взаємодії. Завдяки аналізу продуктів реакції такими методами як ТСХ, ІЧ- та ЯМР-

спектроскопія та мас-спектрометрія, автор припускає наступний хімізм взаємодії між реагентом та первинними, вторинними амінами (рис. 1) [48].

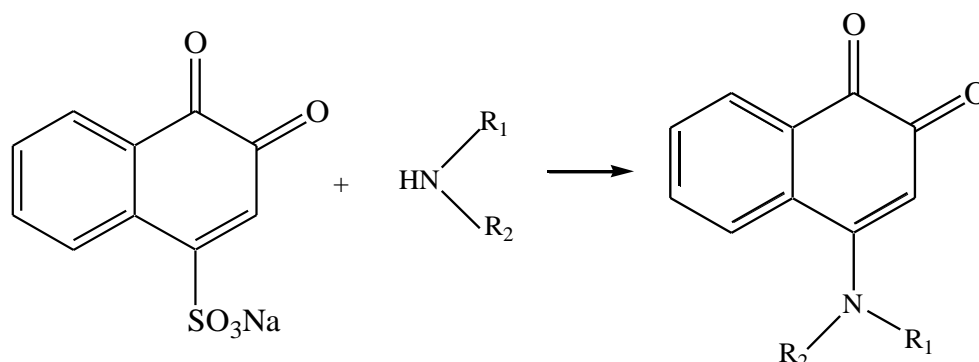


Рис. 1. Хімізм взаємодії між амінами та натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти

Методику кількісного визначення гліцину та лізину з даним реагентом в лужному середовищі (pH=13,0) пропонує Hasani M. з колегами [49].

Abdalla A. та співавтори провели масштабну роботу щодо дослідження оптимальних умов утворення забарвлених сполук між лікарськими речовинами, що регулюють рівень артеріального тиску, а саме, атенололу, лізиноприлу та доксазоліну в комерційних препаратах, та натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти. Визначені межі підпорядкування основному закону світлопоглинання, встановлені межі виявлення, а розраховані метрологічні характеристики підтверджують придатність методик для рутинного аналізу наведених лікарських речовин [50].

2,3-дихлор-1,4-нафтохінон (дихлон) та його похідні використовують для колориметричного визначення гідразидів кислот, первинних аліфатичних амінів або інших сполук. В випадку гідразидів карбонових кислот, визначення проводиться в лужному середовищі.

Щодо спектрофотометричного аналізу аліфатичних амінів, то їх визначення з дихлоном автори пропонують проводити в середовищі етанолу. В випадку визначення солей первинних амінів, останні переводять в основи шляхом додавання чітко розрахованої кількості гідрокарбонату натрію. В залежності від хімічної структури аналізованої речовини, реакція може

перебігати як при кімнатній температурі, так й при нагріванні. Наприклад, реакцію первинних аліфатичних амінів автори пропонують проводити при 65°C, в той час як гідразиди карбонових кислот кількісно взаємодіють з реагентом вже при кімнатній температурі. На основі взаємодії з дихлоном, приведені методики визначення гістаміну, серотоніну, солей піперазину, амінофіліну, неоміцину та амінокислот.

Оптимальні умови взаємодії *n*-бутиламіну, *n*-гексиламіну та етаноламіну з 2,3-дихлор-1,4-нафтохіноном досліджували Thabit S. Al-Ghabsha та Theia'a N. Al-Sabha, в результаті чого встановили, що забарвлений продукт між цими сполуками формується у водно-пропанольному середовищі (рН=8,6) та має максимум поглинання за довжини хвилі 475 нм [51]. Принцип взаємодії, приведений автором, зображений на рис. 2.

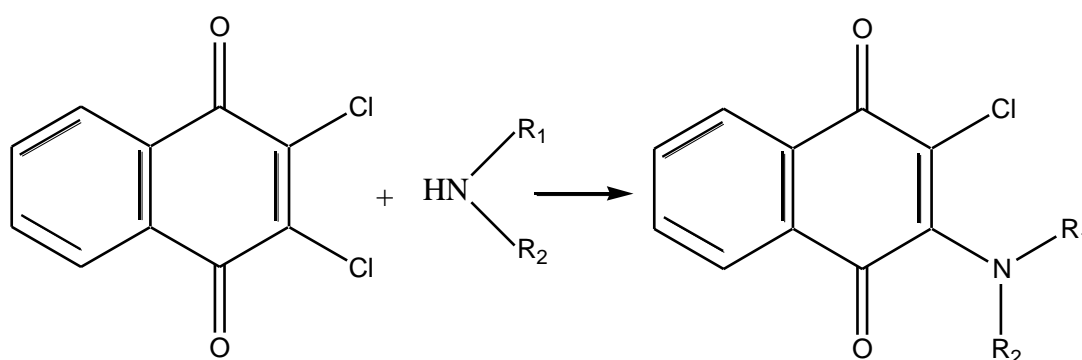


Рис. 2. Хімізм взаємодії між амінами та 2,3-дихлор-1,4-нафтохіноном

В літературі описано визначення антибіотиків фторхінолонового ряду (ципрофлоксацину та норфлоксацину) за реакцією з дихлоном, за присутності паральдегіду (як джерело ацетальдегіду), в середовищі диметилсульфоксиду. Дані лікарські речовини містять в своїх молекулах піперазинові залишки, що мають в своїй структурі вторинну аліфатичну аміногрупу, завдяки чому формується нестійка сполука з ацетальдегідом, яка з втратою молекули води швидко конденсується з реагентом, що супроводжується утворенням забарвленого продукту з максимумом світлопоглинання при 575 нм. Автори стверджують, що результати

дослідження таких валідаційних характеристик як лінійність, точність та правильність свідчать про достатню відтворюваність результатів, а статистичне порівняння запропонованого методу з описаними в літературі, як фармакопейними, так і не офіційними, не показало значущої різниці відносно лінійності, точності та правильності [52].

Відомою є також методика кількісного визначення флуоксетину, сертраліну та пароксетину в лікарських формах [53]. Метод також заснований на утворенні забарвлених амінопохідних хінону в середовищі ацетальдегіду при нагріванні та подальшому вимірюванні оптичної густини забарвлених продуктів.

Mukherjee Asok K. запропонував високочутливу пряму спектрофотометричну методику з використанням дихлону для визначення парацетамолу в субстанції. Реакція перебігає в середовищі етанолу, компоненти реакційної суміші взаємодіють між собою в стехіометричному співвідношенні 2:1 (дихлон – парацетамол) [54].

Спектрофотометричні методи аналізу для деяких похідних аніліну на основі взаємодії з 2,3-дихлор-1,4-нафтохіноном запропоновані Gurugaj M. Neelgund зі співавторами. Експериментальним шляхом (за максимумом абсорбції) встановлені оптимальні умови перебігу реакції, зокрема розчинник, кількість доданого розчину реагенту, рН середовища, тощо. Стехіометричне співвідношення в системі похідне аніліну – реагент складає 1:2 [55].

Описані методи аналізу антигіпертензивних препаратів (каптоприл, лізиноприл) на основі спектрофотометричного визначення з хлоранілом при 346 нм (метод 1) та дихлоном при 580 нм (метод 2). Безперечним плюсом даного методу є можливість аналізу даних лікарських речовин за присутності продуктів деградації, що досить суттєво впливає на покращення контролю якості лікарських препаратів [56].

Таким чином, досить велика кількість робіт щодо застосування похідних хінону та нафтохінону у фармацевтичному аналізі присвячена

розробці спектрофотометричних методів кількісного визначення лікарських речовин різних хімічних та фармакологічних груп. Потрібно також додати, що недостатньо опрацьована можливість використання даної групи реагентів в аналізі аміноглікозидних антибіотиків, глюкозаміну та деяких аліфатичних амінокислот, асортимент лікарських форм яких широко представлений на фармацевтичному ринку України відповідно до потреб сучасної медицини. Отже, перспективним напрямком є залучення похідних нафтохінону, а саме, натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти та 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону до розробки способів кількісного аналізу антибіотиків-аміноглікозидів, аліфатичних амінокислот та глюкозаміну в сучасних лікарських формах, які на теперішній час активно застосовуються в лікарській практиці. Безперечно, що розробка прямих спектрофотометричних методик кількісного визначення є доцільною через їх доступність, експресність, точність та зручність у виконанні.

## 1.2 Методи аналізу лікарських речовин, що містять в своєму складі первинну аліфатичну аміногрупу

Згідно літературних джерел, а також власних попередніх досліджень, встановлено, що натрієва сіль 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти та 2,3-дихлор-1,4-нафтохінон є високочутливими реагентами по відношенню до багатьох функціональних груп, де первинна аліфатична аміногрупа не є виключенням.

Не зважаючи на високу точність титриметричних методів аналізу, які є пріоритетними в аналізі аліфатичних амінокислот, увагу привертають саме інструментальні методи аналізу досліджуваних речовин в лікарських препаратах, як більш чутливі.

Так, для аналізу даних речовин (таурин,  $\beta$ -аланін,  $\gamma$ -аміномасляна кислота (аміналон), гліцин) застосовують хроматографічні методи аналізу [57–62].



Вивчено можливості використання 1,2,3,4-тетрагідро-1,4-діоксо-2,2',3,3'-тетрагідроксинафтаміну як кольорореагенту в аналізі амінокислот методом тонкошарової хроматографії [63].

Існують дані щодо люмінесцентних методів аналізу для визначення первинних аліфатичних амінів [64–65]. Так, описана методика, основа якої – каталітична активність Os (8+) на хемілюмінесценцію, яка утворюється при взаємодії 1,10-фенатроліну та  $\text{H}_2\text{O}_2$  і зменшується за присутності аліфатичних амінокислот.

Згідно аналізу літератури, для кількісного визначення речовин даної групи широко застосовують спектрофотометричні методи.

Як свідчать літературні джерела, класичними реагентами для кількісного визначення первинних аліфатичних амінів, переважно амінокислот, є нінгідрин, алоксан, похідні індандіону-1,3 [66–67].

Для визначення аліфатичних амінокислот (зокрема аміналону, кислоти амінокапронової) пропонують реакцію з 1% спиртовим розчином нінгідрину, в середовищі фосфатного буферного розчину ( $\text{pH}=6,4-7,6$ ), за присутності 1 мг аскорбінової кислоти. Після нагрівання реакційної суміші протягом 25 хв на киплячій водяній бані забарвлений розчин охолоджують та вимірюють оптичну густину при довжині хвилі 568 нм [68].

На підставі реакцій з 1,3-диметилалоксаном розроблені способи кількісного визначення аміналону, таурину як в субстанціях, так і в прописах лікарських форм в середовищі ДМФА [66]. Для підвищення чутливості визначення до отриманого забарвленого розчину додають хлорид кадмію. Недоліком описаної методики є недоступність реагенту, який не випускається хімічною промисловістю.

Для визначення таурину в напоях [69] і скелетних м'язах [70] описаний екстракційно-фотометричний метод аналізу, заснований на реакції з 2,4-динітрофторбенzenом, екстракції отриманого продукту хлороформом та вимірюванні абсорбції при 358 нм.

Ветютнева Н. О. розробила методику екстракційно-фотометричного визначення цистеїну та метіоніну з 18-краун-6 та тропеоліном 000-II [71]. Екстракцію проводять з розчинів з рН 1,2-1,6. Абсорбцію хлороформного екстракту вимірюють при 468 нм. Кількісний вміст метіоніну знаходять методом побудови калібрувального графіку.

Тіолвміщуючі амінокислоти визначають колориметрично з використанням золотих наночасток [72].

В літературних джерелах описані спектрофотометричні методи аналізу амінокислот з первинною аміногрупою на основі їх взаємодії з розчинами *o*-фталевого альдегіду, за присутності 2-меркаптоетанолу, 2,4,6-тринітробензену. Так, Бекетов В. І. та співавтори запропонували спектрофотометрично-флуориметричне визначення амінокислот (гліцину та ін.) за реакцією з *o*-фталевим альдегідом за присутності сульфід- і ціанід-іонів. Розчин реагенту готували в етанолі, реакцію проводили в середовищі боратного буферу, вимірювання абсорбції здійснювали після 15 хв [73]. Гліцин в розчинах та таблетках [74] кількісно визначали проточно-інжекційною спектрофотометрією за утворенням мідно-цинкового комплексу з світлопоглинанням при 600 нм.

Надається інформація щодо спектрофотометричних методик аналізу гліцину, які ґрунтуються на утворенні забарвлених сполук з розчинами хлоранілу (тетрахлорхінон), флуоранілу (тетрафлуорхінон), 1,2,4-тригідроксоанрахінону [75], *n*-бензохінону, натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти [76]. Існує метод спектрофотометричного визначення у видимій області спектра деяких амінокислот, на основі їх взаємодії (як донорів електронів) з розчином 7,7',8,8'-тетраціанохінодиметану ( $\pi$ -акцептор) у середовищі ацетонітрилу при 70°C.

Колориметричний метод визначення гліцину, аланіну та ізолейцину з використанням розчину 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону в якості реагенту, пропонують вчені з Індії. Метод ґрунтується на взаємодії водних розчинів амінокислот з реагентом (розчин 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону в

диметилсульфоксиді), з додаванням  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  для підтримання лужного середовища та нагріванні реакційної суміші на киплячій водяній бані протягом 15 хв. Після охолодження, забарвлені розчини переносять у мірний посуд, доводять 0,5 М  $\text{HCl}$  до позначки та проводять спектрофотометричне визначення за максимумом світлопоглинання при 470 нм. Та не зважаючи на відносно високу чутливість запропонованих методик, стверджувати щодо експресності методики та можливості застосовувати їх в рутинному аналізі лікарських препаратів, в аспекті наявності стількох компонентів реакційної суміші та такої тривалості пробопідготовки, не доводиться.

Y. Z. Ahmed зі співавтором розробили спектрофотометричний спосіб кількісного визначення таких первинних аліфатичних амінів, як гідроксиламін, гліцин та метіонін на основі утворення забарвленого продукту реакції з нітропруссидом натрію. Авторами встановлені оптимальні умови перебігу реакції (зокрема кількість доданих реагентів, рН суміші). Методики перевірені способом регресійного аналізу за основними валідаційними характеристиками та є придатними для аналізу досліджуваних речовин в лікарських формах.

Переважає більшість різноманітних методик кількісного визначення глюкозаміну як в субстанції, так і в препаратах засновані на методі ВЕРХ [77–86].

Також запропоновані методики кількісного визначення глюкозаміну методом радіометрії, потенціометрії [87].

Є відомості відносно спектрофотометрії глюкозаміну в УФ-області, де в якості розчинника виступає фосфорна кислота. Застосовуючи метод першої похідної УФ-спектра, проводив кількісне визначення глюкозаміну гідрохлориду вчений Tan S. C. зі співавторами.

Описана спектрофотометрія у видимій області спектра на основі взаємодії глюкозаміну гідрохлориду з ацетилацетоном і реактивом Ерліха (*n*-диметиламінобензальдегідом) [88]. Також відомим є метод спектрофотометричного визначення глюкозаміну за реакцією з комплексом

паладію та *o*-гідрокси-гідрохінонфталеїном і послідуєчим вимірюванням абсорбції [89].

Для глюкозаміну в таблетках описано кількісне визначення з нінгідрином. До реакційної суміші, що має в своєму складі лікарську речовину та реагент, додавали фосфатний буфер (рН 6,0), гріли впродовж 30 хв на водяній бані за температури 100°C. Після охолодження отриманого розчину, проводили вимірювання абсорбції при максимумі 570 нм [90].

Вченими Kinki University в Японії, розроблено методику кількісного визначення глюкозаміну за реакцією з 2-ціаноацетамідом у присутності боратного буферу, нагріванням на киплячій водяній бані протягом 10 хв і подальшим спектрофотометричним визначенням.

Юрченко Д. М. експериментально встановлено, що глюкозаміну гідрохлорид взаємодіє з алоксаном в водно-диметилформамідному середовищі при нагріванні на водяній бані (10 хв) з утворенням продукту реакції рожево-фіолетового кольору з максимумом світлопоглинання при 520 нм. Після охолодження реакційної суміші до кімнатної температури для підвищення чутливості додавали 1% розчин кальцію хлориду [91].

Аміноглікозидні антибіотики – група органічних сполук, загальним в хімічній структурі яких є те, що аміноцукри в молекулі з'єднані глікозидним зв'язком з аміноциклічним кільцем. Згідно аналізу літературних джерел для кількісного визначення речовин даної групи широко застосовують інструментальні методи аналізу.

Науковці з США кількісно визначали аміноглікозиди, зокрема амікацин, методом рідинної хроматографії з мас-детекцією після попередньої взаємодії досліджуваних антибіотиків з фенілізоціанатом [92].

Методи ВЕРХ визначення з флуоресцентною та УФ-детекцією розроблені вченими з University of Bath для поліамінів та аміноглікозидів (канаміцин, неоміцин та парамоміцин). Встановлені оптимальні умови визначення, методики є валідними за основними валідаційними характеристиками.

Польські вчені проводили кількісне визначення деяких аміноглікозидів, а саме, амікацину, канаміцину, неоміцину та тобраміцину, методом тонкошарової хроматографії. Визначення антибіотиків проводили на пластинках ТШХ із шаром силікагелю без флуоресцентного детектора в системі метанол–25% розчин аміаку–хлороформ (3:2:1). В якості проявника використовували 0,2% розчин нінгідрину в етанолі [93].

Розроблено метод кількісного визначення гентаміцину сульфату у лікарських препаратах (очних краплях та розчинах для ін'єкцій) шляхом мультиплексного аналізу з хемілюмінесцентною детекцією. Цей підхід заснований на здатності гентаміцину пригнічувати хемілюмінесцентну реакцію між люмінолом та гіпохлоритом натрію в лужному середовищі, що призводить до зниження аналітичного сигналу. Пригнічування аналітичного сигналу має прямопропорційну лінійну залежність від концентрації гентаміцину сульфату. Розроблений метод є чутливим, простим та економічним [94].

Серед спектральних методів аналізу аміноглікозидів описані спектрофотометричні методики визначення в ультрафіолетовій області спектра. Так, гентаміцин визначали у лікарських формах за допомогою першої похідної спектра за аналітичної довжини хвилі 202 нм [95]. Похідну спектрофотометрію в УФ-області застосовували для аналізу стрептоміцину та дигідрострептоміцину в їх сумішах.

Описаний спектрофлуориметричний метод визначення аміноглікозидів, в основі якого утворення забарвленого комплексу з розчином сафраніну (рН 8,0) та його екстракція хлороформом. Максимум збудження знаходиться в межах 509–514 нм, а максимум випромінювальної здатності – при 570 нм [96].

Широко поширені спектрофотометричні методики аналізу аміноглікозидних антибіотиків на основі утворення забарвлених комплексів з катіонами металів. Так, надається інформація щодо утворення забарвленого продукту взаємодії гентаміцину з  $\text{CuCl}_2$  в середовищі розчину  $\text{NaOH}$  з

подальшим вимірюванням абсорбції на фоні розчину, що не містить досліджуваної речовини у видимій області спектра [97]. О. М. Петрухін та співавтори пропонують використовувати утворення комплексу гентаміцину з  $\text{Cu (II)}$  для кількісного визначення антибіотику методами потенціометрії, вольтамперометрії та спектрофотометрії [98]. Неоміцин кількісно визначали шляхом вимірювання абсорбції забарвлених розчинів при 498 нм, утворених на основі взаємодії досліджуваної лікарської речовини з солями  $\text{Ce (IV)}$  [99]. А солі  $\text{Fe (II)}$  використовували для кількісного визначення стрептоміцину в ветеринарних препаратах методом проточно-інжекційної спектрофотометрії при довжині хвилі 520 нм [100]. В літературі описане спектрофотометричне визначення тобраміцину та азітроміцину турбідиметричним методом на основі отримання продукту взаємодії між лікарськими речовинами та  $\text{Pb (4+)}$  за присутності фосфорної кислоти [101].

Щодо прямих спектрофотометричних методик визначення аміноглікозидів з альдегідами, в основі яких – процес утворення забарвлених сполук (основ Шиффа), то літературні джерела надають інформацію відносно методів визначення даних лікарських речовин з *o*-фталевим альдегідом [102], *m*-диметиламінобензальдегідом [103]. Взаємодія відбувається в середовищі ацетатного буферу з наступним вимірюванням оптичної густини розчинів жовтого кольору при 405 нм. Результати визначення однозначно погоджуються як між собою, так й з результатами мікробіологічних досліджень.

Відомими є також валідовані методи кількісного визначення амікацину, гентаміцину, канаміцину, стрептоміцину, неоміцину та тобраміцину в лікарських препаратах з використанням розчинів 2,4-динітрофенолу та 2,4,6-тринітрофенолу [104]. Згідно вимог USP, розроблені методики характеризуються специфічністю, лінійністю, точністю та правильністю.

Надається інформація щодо використання сульффталеїнових барвників (бромкрезолового пурпурного та бромкрезолового зеленого) для спектрофотометричного визначення аміноглікозидних антибіотиків,

включаючи процедуру екстракції забарвлених продуктів реакцій за допомогою органічних розчинників. Так, взаємодія аміноглікозид – сульфоталеїновий барвник відбувається в середовищі вода – ацетон з додаванням універсального буферного розчину (рН 3,0) при кімнатній температурі. При цьому утворюється іонний асоціат, який далі підлягає екстракції дихлорметаном або хлороформом. Оптичну густина отриманого продукту вимірюють за довжини хвилі 430–470 нм [105].

Узагальнюючи дані літературного огляду щодо методів аналізу досліджуваних лікарських речовин групи аліфатичних амінокислот, аміноглікозидних антибіотиків та глюкозаміну можна стверджувати, що представлені методики визначення в УФ-області спектра зазвичай потребують підвищення селективності, а аналіз у видимій області спектра базується на реакціях, що вимагають спеціальних умов та додаткових процедур, як то екстракція, регулювання рН або залучення дорогих важкодоступних реагентів. Також для аміноглікозидних антибіотиків та глюкозаміну описано досить обмежену кількість способів аналізу за забарвленими продуктами реакцій. Точність та селективність хроматографічних методик не викликає сумнівів, але тривалий етап пропідготовки, висока вартість обладнання та витратних матеріалів знижує їх доступність. Тому, перспективним напрямком вдосконалення контролю якості лікарських препаратів, що містять аміноглікозиди та вищенаведені аліфатичні амінокислоти, є розробка прямих, неекстрактивних, селективних та чутливих спектрофотометричних способів кількісного аналізу з використанням реагентів, які випускаються хімічною промисловістю.

### 1.3 Офіційні методи аналізу досліджуваних лікарських речовин

Якість лікарських засобів в Україні регламентується Державною Фармакопеею України (ДФУ).

Аліфатичні амінокислоти згідно ДФУ (гліцин), Британської Фармакопеї (BP) та Фармакопеї Сполучених Штатів (USP) (аланін, гліцин, таурин) визначають титриметричними методами [106–112].

Так, USP рекомендує кількісне визначення аланіну та гліцину в субстанціях методом ацидиметрії в неводному середовищі з потенціометричним (аланін) та індикаторним (гліцин) фіксуванням кінцевої точки титрування. Для лікарської форми гліцину (ін'єкційний розчин) в якості основного способу кількісного визначення вказано алкаліметрію в середовищі формальдегіду з використанням суміші двох рН-індикаторів (фенолфталеїну та тимолового синього) для фіксування кінця титрування [119]. Гліцин у субстанції згідно ДФУ та BP [106, 112] визначають титриметрично, аналогічно методу, описаному в USP, різницю складає лише потенціометричне фіксування кінцевої точки титрування. В USP для визначення органічних сполук, що містять в своєму складі нітроген (таурин в субстанції), описано метод К'ельдаля. А Японська Фармакопея пропонує для кількісного визначення таурину в субстанції застосовувати «формольне титрування» з потенціометричним фіксуванням кінця титрування [113]. Статті на лікарські форми аланіну та таурину досі не були занесені до фармакопей.

Щодо кількісного визначення глюкозаміну (глюкозаміну гідрохлориду, глюкозаміну сульфату в субстанціях та в лікарських формах), то USP рекомендує рідинну хроматографію [111].

Мікробіологічний метод кількісного визначення є пріоритетним в аналізі аміноглікозидних антибіотиків (стрептоміцин, канаміцин, гентаміцин в субстанціях та лікарських засобах) згідно даним BP, виключення становить лише кількісний аналіз амікацину (рідинна хроматографія). ДФУ для визначення стрептоміцину (в субстанції та порошку для приготування ін'єкційних розчинів), канаміцину та гентаміцину в субстанціях також рекомендує мікробіологічний спосіб, як основний [106–110]. Аміноглікозиди (амікацин, канаміцин, стрептоміцин в субстанціях та лікарських формах) в



USP рекомендують кількісно визначати, застосовуючи рідинну хроматографію та, лише гентаміцин, використовуючи мікробіологічний метод аналізу.

Таким чином, офіційні методи кількісного визначення вищезазначених лікарських речовин своєю більшістю відносяться до титриметричних, які безперечно є найточнішими для аналізу субстанцій, тоді як фізико-хімічні методи аналізу адаптовані для рутинного, проміжного контролю саме готових лікарських форм. Методи з використанням хроматографії не завжди є доступними через те, що лабораторії з контролю якості ліків та відділи технічного контролю фармацевтичних фабрик не оснащені спеціальною апаратурою.

Виходячи з того, що асортимент специфічних, доступних органічних кольорореагентів для аналізу лікарських речовин, що містять первинну аліфатичну аміногрупу недостатньо вивчений, дослідження щодо застосування похідних нафтохінону для аналізу даних речовин є безперечно актуальним.

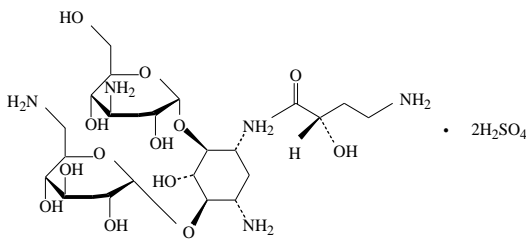
РОЗДІЛ 2  
 ОБ'ЄКТИ ДОСЛІДЖЕННЯ, РЕАГЕНТИ, РОЗЧИННИКИ ТА ЗАГАЛЬНІ  
 МЕТОДИ АНАЛІЗУ

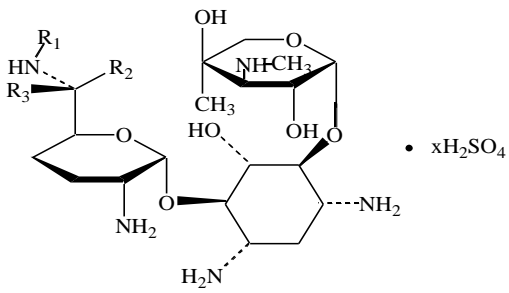
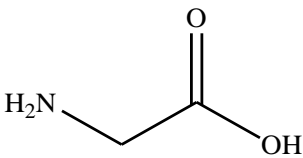
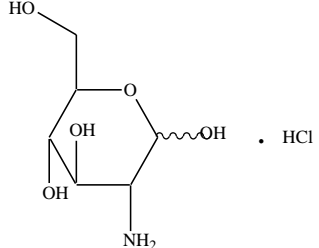
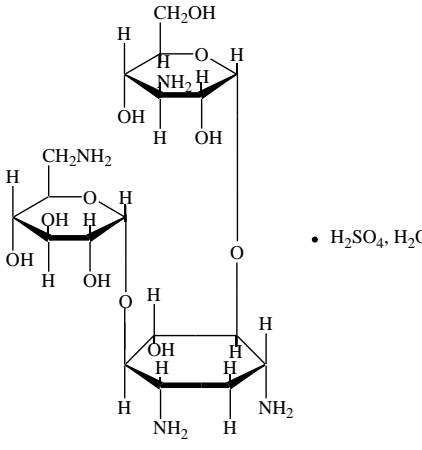
2.1 Об'єкти дослідження

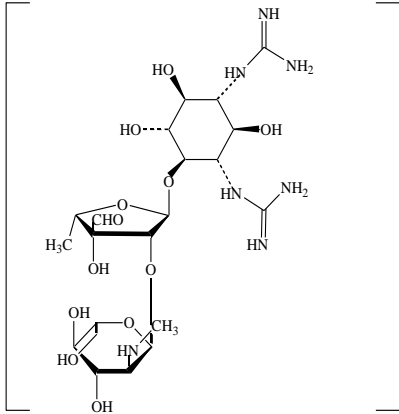
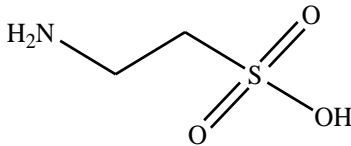
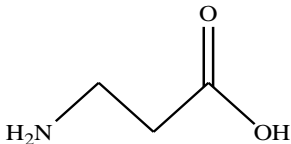
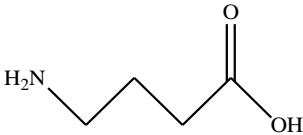
Об'єктами дослідження для розробки методик кількісного аналізу були РСЗ (робочі стандартні зразки) – субстанції лікарських речовин, які відповідали вимогам нормативної документації (табл. 2.1) та нижченаведені лікарські форми промислового виробництва.

Таблиця 2.1

**Перелік досліджуваних лікарських речовин**

Лікарська речовина та її хімічна назва	Брутто- та структурна формула	Нормативна документація
1	2	3
Амікацину сульфат (6-О-(3-аміно-3-деокси- $\alpha$ -D-глюкопіранозил)-4-О-(6-аміно-6-деокси- $\alpha$ -D-глюкопіранозил)-1-N-[(2S)-4-аміно-2-гідроксибутил]-2-деокси-D-стрептаміну сульфат)	$C_{22}H_{43}N_8N_5O_{13} \cdot 2H_2SO_4$ 	ВР 2009, Р. 275

1	2	3																														
<p>Гентаміцину сульфат (суміш сульфатів антибіотиків, основними компонентами яких є гентаміцини C1, C1a, C2, C2a та C2b)</p>	 <table border="1" data-bbox="646 616 1157 884"> <thead> <tr> <th>Гентаміцин</th> <th>Мол. формула</th> <th>R<sub>1</sub></th> <th>R<sub>2</sub></th> <th>R<sub>3</sub></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>C1</td> <td>C<sub>21</sub>H<sub>43</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub></td> <td>CH<sub>3</sub></td> <td>CH<sub>3</sub></td> <td>H</td> </tr> <tr> <td>C1a</td> <td>C<sub>19</sub>H<sub>39</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub></td> <td>H</td> <td>H</td> <td>H</td> </tr> <tr> <td>C2</td> <td>C<sub>20</sub>H<sub>41</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub></td> <td>H</td> <td>CH<sub>3</sub></td> <td>H</td> </tr> <tr> <td>C2a</td> <td>C<sub>20</sub>H<sub>41</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub></td> <td>H</td> <td>H</td> <td>CH<sub>3</sub></td> </tr> <tr> <td>C2b</td> <td>C<sub>20</sub>H<sub>41</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub></td> <td>CH<sub>3</sub></td> <td>H</td> <td>H</td> </tr> </tbody> </table>	Гентаміцин	Мол. формула	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	C1	C <sub>21</sub> H <sub>43</sub> N <sub>5</sub> O <sub>7</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	C1a	C <sub>19</sub> H <sub>39</sub> N <sub>5</sub> O <sub>7</sub>	H	H	H	C2	C <sub>20</sub> H <sub>41</sub> N <sub>5</sub> O <sub>7</sub>	H	CH <sub>3</sub>	H	C2a	C <sub>20</sub> H <sub>41</sub> N <sub>5</sub> O <sub>7</sub>	H	H	CH <sub>3</sub>	C2b	C <sub>20</sub> H <sub>41</sub> N <sub>5</sub> O <sub>7</sub>	CH <sub>3</sub>	H	H	<p>BP 2009, P. 2751</p>
Гентаміцин	Мол. формула	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>																												
C1	C <sub>21</sub> H <sub>43</sub> N <sub>5</sub> O <sub>7</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H																												
C1a	C <sub>19</sub> H <sub>39</sub> N <sub>5</sub> O <sub>7</sub>	H	H	H																												
C2	C <sub>20</sub> H <sub>41</sub> N <sub>5</sub> O <sub>7</sub>	H	CH <sub>3</sub>	H																												
C2a	C <sub>20</sub> H <sub>41</sub> N <sub>5</sub> O <sub>7</sub>	H	H	CH <sub>3</sub>																												
C2b	C <sub>20</sub> H <sub>41</sub> N <sub>5</sub> O <sub>7</sub>	CH <sub>3</sub>	H	H																												
<p>Гліцин (2-амінооцтова кислота)</p>	<p>C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>NO<sub>2</sub></p> 	<p>BP 2009, P. 2829</p>																														
<p>Глюкозаміну гідрохлорид (2-аміно-2-деокси-β-D- глюкопіранози гідрохлорид)</p>	<p>C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>5</sub>·HCl</p> 	<p>USP 2007, P. 946</p>																														
<p>Канаміцину моносультат (O-3-аміно-3-деокси-α- D-глюкопіранозил-(1- 6)-O-[6-аміно-6-деокси- α-D-глюкопіранозил- (1-4)]-2-деокси-D- стрептаміну сульфат)</p>	<p>C<sub>18</sub>H<sub>38</sub>N<sub>4</sub>O<sub>15</sub>S, H<sub>2</sub>O</p> 	<p>BP 2009, P. 3325</p>																														

1	2	3
<p>Стрептоміцину сульфат (біс[N,N'- біс(аміноімінометил)-4- О-[5-деокси-2-О-[2- деокси-2-(метиламіно)- α-L-глюкопіранозил]-3- С-форміл-α-L- ліксофуранозил]-D- стрептаміну] трисульфат)</p>	<p><math>C_{42}H_{84}N_{14}O_{36}S_3</math></p> 	<p>BP 2009, P. 5667</p>
<p>Таурин (2-аміноетансульфонова кислота)</p>	<p><math>C_2H_7NO_3S</math></p> 	<p>86630 Sigma (каталог sigma- aldrich)</p>
<p>β-Аланін (3-амінопропанова кислота)</p>	<p><math>C_3H_7NO_2</math></p> 	<p>41144 Fluka (каталог sigma- aldrich)</p>
<p>γ-Аміномасляна кислота (4-амінобутанова кислота)</p>	<p><math>C_4H_9NO_2</math></p> 	<p>A2129 Sigma (каталог sigma- aldrich)</p>

Досліджувані лікарські форми промислового виробництва:

- таблетки – «Аміналон» 0,25 г γ-аміномасляної кислоти в 0,5120 г (ПАТ «Вітаміни») серія 120312; «Гліцисед» 0,10 г гліцину в 0,1026 г

(Корпорація «ARTERIUM») серія 52386; «Гліцин» 0,10 г гліцину в 0,1007 г (ТОВ «МНБК «Біотики»», Росія) серія 0940413; «Хондромакс гербал» МАХІНЕАЛТН складу: 0,50 г глюкозаміну гідрохлориду, 0,10 г екстракту імбиру густого в 1,440 г («Фармекс»), серія 0980511; «Аб'юфен» 0,40 г β-аланіну в 0,7758 г (Laboratories Bouchara Recordati s.a.s, Франція) серія 13080; «Кратал» складу: 0,87 г таурину, 0,043 г екстракту плодів глоду густого, 0,087 г екстракту кропиви собачої густого в 1,105 г (ЗАТ НВЦ «БОРЩАГІВСЬКИЙ ХФЗ») серія 370513.

- порошок для приготування розчину для перорального застосування у пакетиках – «Дона» 1,5 г глюкозаміну сульфату в 4,0 г («Rottapharm S.r.l.», Італія) серія 1103095; «Артифлекс» складу: 1,5 г глюкозаміну сульфату, 1,5 г ібупрофену в 4,0 г (Фармацевтична фабрика «Здоров'я») серія 70511; пакет № 2 «Медихронал-Дарниця» складу: 7,0 г гліцину, 3,5 г натрію форміату (ПАТ «Дарниця») серія FD150913;

- порошки для приготування ін'єкційних розчинів – «Аміцил» 0,50 г та 1,0 г амікацину сульфату (корпорація ARTERIUM) серій 120314 та 520912 відповідно; «Стрептоміцин» 1,0 г стрептоміцину сульфату (корпорація ARTERIUM) серія 83343; «Канаміцин» 1,0 г канаміцину моносульфату (корпорація ARTERIUM) серія 200712;

- капсули «Аміналон-КВ» 0,25 г γ-аміномасляної кислоти в 0,2588 г (ПАТ «Київський вітамінний завод»), серія 60412; «Терафлекс» складу: 0,50 г глюкозаміну гідрохлориду, 0,20 г хондроїтину сульфату, 0,10 г ібупрофену в 0,9683 г (BayerHealthCare, США), серія 111016; «Доппельгерц актив Гліцин + В-Вітаміни» складу: 0,50 г гліцину, 0,0020 г вітаміну В6, 0,0017 г вітаміну В1 в 0,5254 г (Queisser Pharma Gmbh & Co, Німеччина) серія L010014;

- супозиторії «Генферон» складу: 1000000 МО альфа-2-інтерферону рекомбінантного людського, 0,010 г таурину (Біокад, Росія) серія 03040912;

- мазь «Кремген» складу: 0,10 г гентаміцину сульфату, 0,050 г флуоциноніду в 1 г (Сперко Україна) серія 680514;

- краплі очні «Тауфон» 40 мг таурину в 1 мл («Фармак» та ДЗ «ГНЦЛС») серій 511212 та 10112 відповідно; «Декса-гентаміцин» складу: 1,0 мг дексаметазону натрію фосфату, 5,0 мг гентаміцину сульфату в 1 мл (URSAPHARMA GmbH&Co, Німеччина) серія 277721;

- розчини для ін'єкцій – розчини гентаміцину сульфату 40 мг в 1 мл (корпорація ARTERIUM та ПАТ «Дарниця») серій 70813 та 71113 відповідно, «Лорікацин» розчин амікацину сульфату 0,25 г в 1 мл (Ексір Фармасьютікал Ко., Іран) серія 0020513; «Дона» розчин глюкозаміну сульфату 0,4 г в 2 мл («Rottapharm S.r.l.», Італія) серія 0112U.

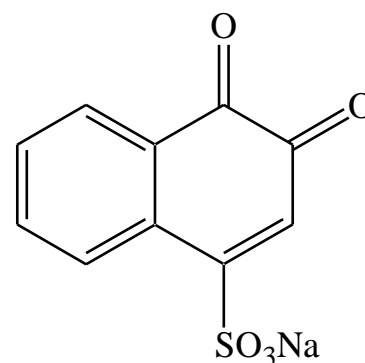
## 2.2 Реагенти та розчинники

В якості органічних аналітичних реагентів в роботі застосовувались 2,3-дихлор-1,4-нафтохінон (Aldrich) та натрієва сіль 1,2-нафтохінон-4 сульфокислоти (НВФ «Сінбіас»), які мали сертифікати якості виробників.

Натрієва сіль 1,2-нафтохінон-4

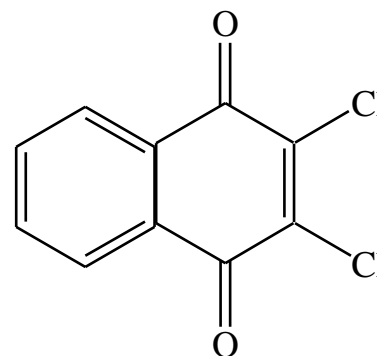
сульфокислоти

М.м.=260,20 г/моль



2,3-дихлор-1,4-нафтохінон

М.м.=227,04 г/моль



В роботі були застосовані натрію хлорид, аспартам, макрогол 4000, сорбітол, кислота лимонна безводна, метилцелюлоза, кальцію стеарат, магнію стеарат, натрію форміат, повідон, натрію цитрат, натрію метабісульфіт, кислота сірчана, динатрію едетат, метилпарагідроксибензоат, гліцерину пальмітостеарат, кремнію диоксид колоїдний водний, крохмаль пшеничний, целюлоза мікрокристалічна, спирт полівініловий, тальк, титану диоксид, заліза оксид (E 172), цукор, борошно пшеничне, магнію карбонат легкий, желатин, віск жовтий кваліфікації «ч.д.а.» та «фарм.»; лікарські препарати: розчин для ін'єкцій «Лідокаїну гідрохлорид» 2%, екстракти глоду та кропиви собачої.

В роботі застосовані розчинники кваліфікацій «х.ч.», «ч.д.а.» та «фарм.»: ДМФА, вода очищена, хлороформ, метанол, оцтова кислота, пропанол-1, 25% розчин аміаку, етанол, діоксан.

### 2.3 Загальні методи аналізу

Спектри поглинання реагентів та забарвлених продуктів реакцій реєстрували у видимій області спектра за допомогою спектрофотометра SPECORD 200 із застосуванням прямокутних кварцових кювет з товщиною шару 1 см. Величину оптичної густини вимірювали на фоні компенсаційного розчину, який не містив у своєму складі досліджуваної речовини. Обробку одержаних спектрів проводили, застосовуючи програмний пакет WinASPECT 2.2.1.0.

Для характеристики чутливості досліджуваних реакцій були розраховані величини молярних коефіцієнтів поглинання продуктів реакції ( $\epsilon$ ), питомого показника поглинання ( $A_{1\text{cm}}^{1\%}$ ), коефіцієнта Сендела ( $W_s$ ), межі виявлення ( $C_{\text{min}}$ , мкг/мл) за загальноприйнятими методиками.

Згідно ДФУ, для проведення процедури валідації розроблених методик, використовували метрологічні характеристики середнього результату, а саме

середнє значення вибірки ( $\bar{X}$ ), стандартне відхилення ( $S$ ), відносне стандартне відхилення ( $RSD$ ), відносний довірчий інтервал одиничного визначення ( $\Delta_x$ ), відносний довірчий інтервал середнього результату ( $\Delta_{\bar{x}}$ ), а також статистичні характеристики лінійної залежності: точка перетину з віссю ординат ( $a$ ), кутовий коефіцієнт ( $b$ ), коефіцієнт кореляції ( $r$ ), залишкова сума квадратів відхилень ( $s_y$ ), які розраховували згідно [106–110].

При приготуванні систем для хроматографування в тонкому шарі сорбенту використовували розчинники кваліфікації «х.ч.», «ч.д.а.» та «фарм.», а також воду очищену.

Для хроматографування використовували пластинки AlugramSilG («Macherey-Nagel», Німеччина), попередньо відмиті від сорбованих домішок шляхом елюювання метанолом та активовані протягом год при 100–105°C. Використовувані пластини відповідали вимогам статті «ТШХ пластинка із шаром силікагелю» [107] щодо хроматографічної розділювальної здатності. Співвідношення розчинників, зазначені числами, наведені в об'ємних одиницях.

На відстані 15 мм від нижнього краю і не менше 15 мм від бічних країв пластинки наносили за допомогою дозатору піпеткового ДПВ-1 від 0,5 до 1 мкл розчинів з відстанню не менше 15 мм між пробами. Після випарювання розчинників з нанесених проб пластинки поміщали у хроматографічні камери, насичені рухомою фазою протягом однієї години при температурі від 20 до 25°C. Камери герметично закривали і залишали у захищеному від прямих сонячних променів місці. Після проходження рухомою фазою відстані 10 см пластинки виймали та висушували. Плями аналізували візуально у видимому світлі. Всі значення  $R_f$  є середніми величинами 3–5 визначень [114–115].

Для встановлення складу утворених забарвлених сполук та стехіометричних співвідношень компонентів реакційної суміші використовували найбільш відомі спектрофотометричні методи: метод



неперервних змін (метод ізомолярних серій), метод насичення (метод молярних співвідношень) [116]. Дослідження проводили з 0,005 М, 0,007 М розчинами лікарських речовин і реагентів за загальновідомими методиками в оптимальних умовах реакцій.

Хроматомас-спектри знімалися на високоефективному рідинному хроматографі Agilent 1100 Series, оснащеному діодно-матричним та мас-селективним детектором AgilentLC/MSDSL. Параметри аналізу: колонка ZorbaxSB-C18, 1,8 мкм, 4,6 мм × 15 мм. Сольвенти: А – ацетонітрил–вода (95:5), 0,05% мурашиної кислоти, В – вода (0,05% мурашиної кислоти); потік елюенту – 3 мл/хв. Градієнт: 0 хв – 0% А, 0,01 хв – 0% А, 0,5 хв – 100% А, 0,95 хв – 100% А, 0,96 хв – 0% А. Об'єм проби, що вводиться – 1 мкл. Спосіб іонізації – хімічна іонізація при атмосферному тиску (APCI). Режим іонізації – одночасне сканування позитивних та негативних іонів в діапазоні мас 80–1000  $m/z$ .

### РОЗДІЛ 3

## СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН, ЩО МІСТЯТЬ ПЕРВИННУ АЛІФАТИЧНУ АМІНОГРУПУ

3.1 Вивчення оптимальних умов реакцій лікарських речовин, що містять первинну аліфатичну аміногрупу з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти

Об'єктивний вибір оптимальних умов кількісного визначення не можливо здійснити без проведення попередніх досліджень, тому що на результати перебігу аналітичних реакцій впливає багато чинників.

Для встановлення найбільш сприятливих умов утворення забарвлених сполук вивчались фактори, що впливають як на характер спектра поглинання, так й на повноту перебігу реакції (величину абсорбції), а саме, природа розчинника, кількість та порядок додавання реагентів, рН реакційної суміші, температура та час нагрівання.

Вивчення оптимальних умов проведення реакції речовин, що містять первинну аліфатичну аміногрупу з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти наведено на прикладі взаємодії реагенту з таурином та глюкозаміном.

Під час вибору розчинника враховувалась розчинна здатність й кількість утвореного продукту реакції (за максимальним значенням оптичної густини). Тому, вивчались вода очищена, етанол, ДМФА, ізопропіловий спирт.

Згідно огляду літературних джерел та експериментальним шляхом було доведено, що обов'язковими умовами успішного перебігу реакції між реагентом та лікарською речовиною є створення лужного середовища. Водні розчини лугів є найбільш зручними, доступними та дешевими, тому були використані 0,01 М, 0,02 М, 0,05 М, 0,1 М, 0,2 М розчини NaOH.

1,00 мл 0,005 М водного розчину таурину та 1,00 мл 0,02 М водного розчину глюкозаміну гідрохлориду (глюкозаміну) переносили в мірну колбу ємністю 25,00 мл, обробляли 1,00 мл 0,03 М розчином натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти в одному з вищенаведених розчинників та додавали 1,00 мл 0,1 М розчин NaOH. Утворення забарвленого продукту при кімнатній температурі відбувалося протягом близько 60 хв, тоді як при нагріванні реакційної суміші на водяній бані (60°C) – за 5 хв. З використанням ДМФА в якості розчинника аналізований розчин мав інтенсивне забарвлення, в випадку етанолу та ізопропанолу – забарвлення було менш контрастним. Найбільш інтенсивне забарвлення спостерігалось в випадку використання води очищеної в якості розчинника. Порядок додавання реагентів на інтенсивність забарвлення впливу не мав. Паралельно готували компенсаційний розчин, що не містив досліджуваної речовини. При позитивній реакції розчини мали вишневе забарвлення, тоді як компенсаційний розчин залишався світло-помаранчевим [117–118].

На підставі отриманих спектрів поглинання продуктів реакції натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти з таурином в різних розчинниках (рис. 3.1), а також враховуючи їх доступність, подальшу реакцію проводили в середовищі води очищеної.

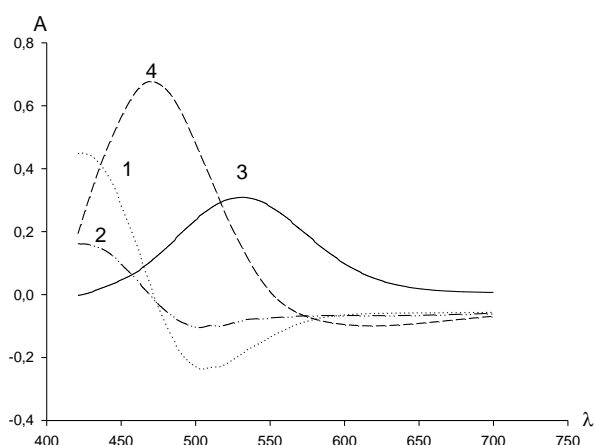


Рис. 3.1. Вплив природи розчинника на спектр поглинання продукту взаємодії таурину з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти: 1 – етанол; 2 – ізопропанол; 3 – ДМФА; 4 – вода очищена

Для вивчення впливу рН на величину оптичної густини в мірні колби ємністю 25,00 мл вміщували по 1,00 мл відповідного розчину лікарського засобу: 0,005 М водного розчину таурину або 0,02 М водного розчину глюкозаміну. Додавали відповідно по 1,00 мл 0,03 М водного розчину натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти. До кожного з одержаних розчинів додавали по 0,50; 1,00; 2,00; 3,00; 4,00 та 5,00 мл 0,01 М, 0,02 М, 0,05 М, 0,1 М, 0,2 М водних розчинів NaOH. Одержані забарвлені розчини нагрівали на водяній бані (5 хв, 60°C), суміш охолоджували, доводили водою очищеною до позначки. Паралельно проводили дослід із компенсаційним розчином, що не містить досліджуваної речовини. Оптичну густину забарвлених розчинів вимірювали при  $\lambda_{\max}$  470 нм (таурин), 510 нм (глюкозамін). Як видно з рис. 3.2, максимальне значення оптичної густини у випадку таурину спостерігається при додаванні 1,00 мл 0,01 М розчину NaOH. У випадку глюкозаміну (рис. 3.3) оптимальним є використання 3,00 мл 0,01 М розчину NaOH. Використання більш концентрованих розчинів лугу чутливість реакції не підвищувало.

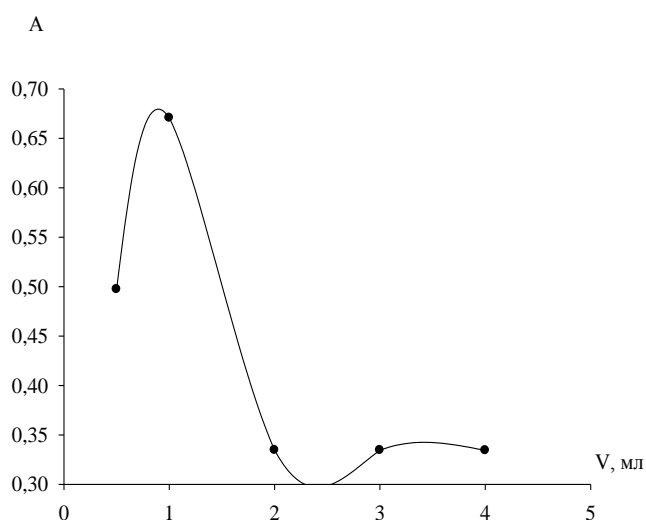


Рис. 3.2. Графік залежності оптичної густини продуктів реакції таурину з реагентом від кількості 0,01 М розчину NaOH ( $\lambda_{\max}=470$  нм)

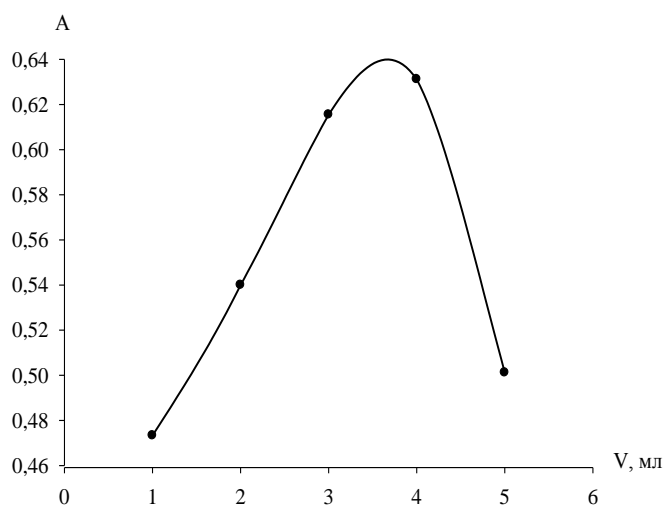


Рис. 3.3. Графік залежності оптичної густини продуктів реакції глюкозаміну гідрохлориду з реагентом від кількості 0,01 М розчину NaOH при  $\lambda_{\max} = 510$  нм

Важливе значення для повноти перебігу реакції має кількість реагенту. Необхідну кількість реагенту визначали експериментально за максимальним виходом продукту реакції, тобто за максимальною абсорбцією. Для цього до 1,00 мл 0,005 М водного розчину таурину, 0,02 М водного розчину глюкозаміну гідрохлориду додавали 0,50; 1,00; 2,00; 3,00; 4,00 мл 0,03 М (0,1%) водного розчину натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфокислоти. До одержаної реакційної суміші додавали визначену раніше оптимальну кількість NaOH та нагрівали на водяній бані протягом 5 хв за температури 60°C. Потім забарвлені розчини охолоджували, доводили водою очищеною в мірних колбах ємністю 25,00 мл до позначки. Оптичну густину вимірювали на фоні компенсаційного розчину з відповідним об'ємом 0,1% розчину реагенту при  $\lambda_{\max}$  470 нм (таурин), 510 нм (глюкозаміну гідрохлорид) (рис. 3.4–3.5).

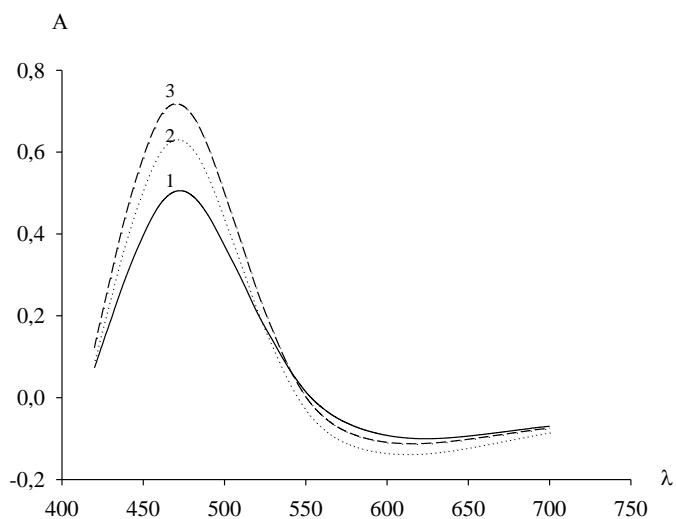


Рис. 3.4. Спектри поглинання продукту реакції таурину з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфокислоти: 1 – 2,00 мл реагенту; 2 – 1,00 мл; 3 – 0,50 мл при  $\lambda_{\max}$  470 нм

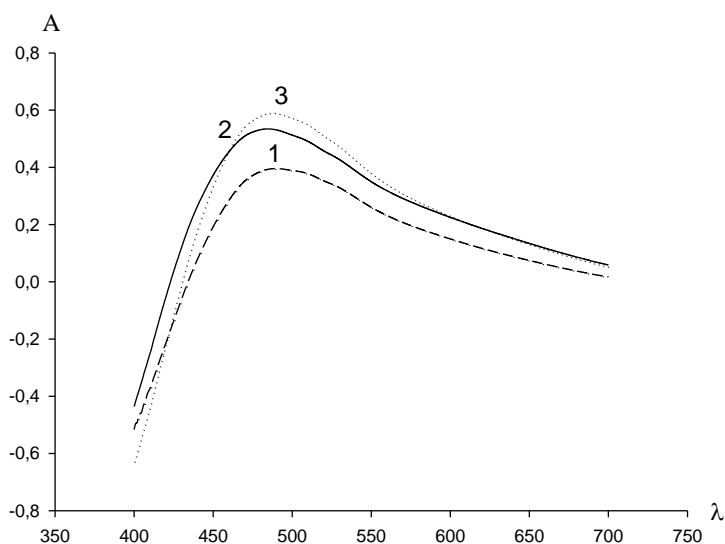


Рис. 3.5. Спектри поглинання продукту реакції глюкозаміну з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфокислоти: 1 – 0,50 мл реагенту; 2 – 1,00 мл; 3 – 2,00 мл при  $\lambda_{\max}$  510 нм

Використання більш концентрованого розчину реагенту не призводило до збільшення оптичної густини. При використанні, навпаки, більш розведеного розчину реагенту отримували продукт з меншою величиною оптичної густини, тому отримані експериментальним шляхом дані, які знайшли відображення в табл. 3.1, були прийняті за оптимальні.

Також вивчено вплив температурного режиму на величину оптичної густини.

Реакційні суміші реагенту з таурином та глюкозаміном, отримані як зазначено вище, після додавання розчину NaOH нагрівали на водяній бані при 50, 60, 65, 85, 95, 100°C протягом 3, 5, 10, 15 хв (рис. 3.6–3.9). Після охолодження доводили водою очищеною в мірних колбах ємністю 25,00 мл до позначки. Оптичну густину вимірювали на фоні розчину порівняння в діапазоні 450-700 нм.

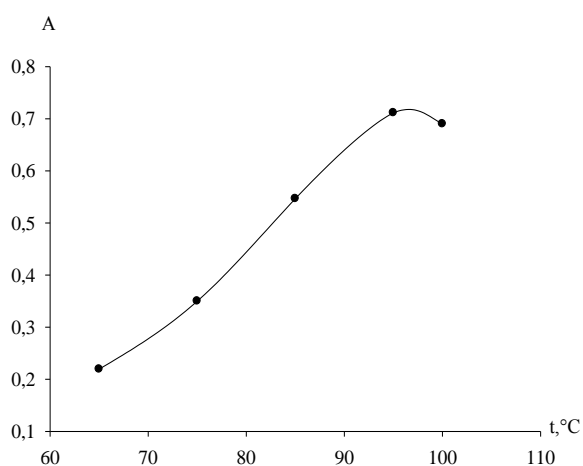


Рис. 3.6. Залежність оптичної густини від температури нагрівання реакційної суміші «реагент – таурин» ( $\lambda_{\max}$  470 нм)

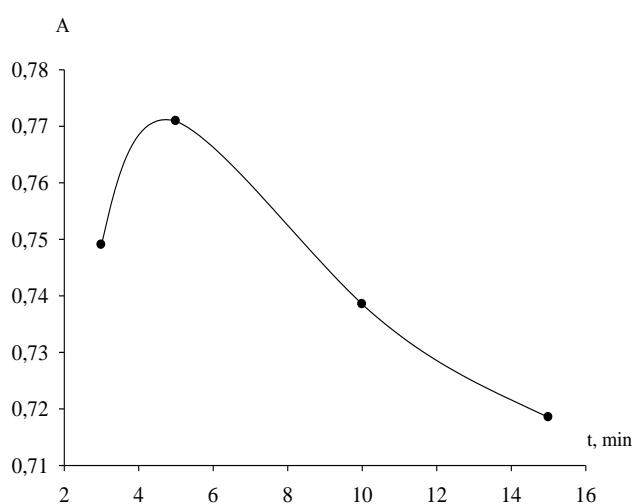


Рис. 3.7. Залежність оптичної густини реакційної суміші «реагент – таурин» від часу нагрівання при 95°C ( $\lambda_{\max}$  470 нм)

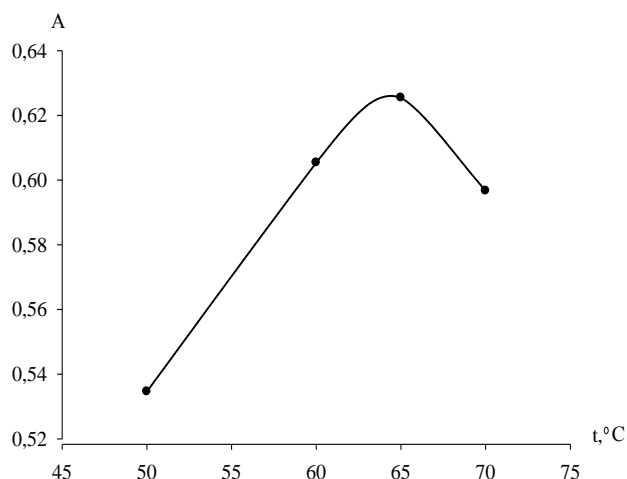


Рис. 3.8. Залежність оптичної густини від температури нагрівання реакційної суміші «реагент – глюкозамін» ( $\lambda_{\max}$  510 нм)

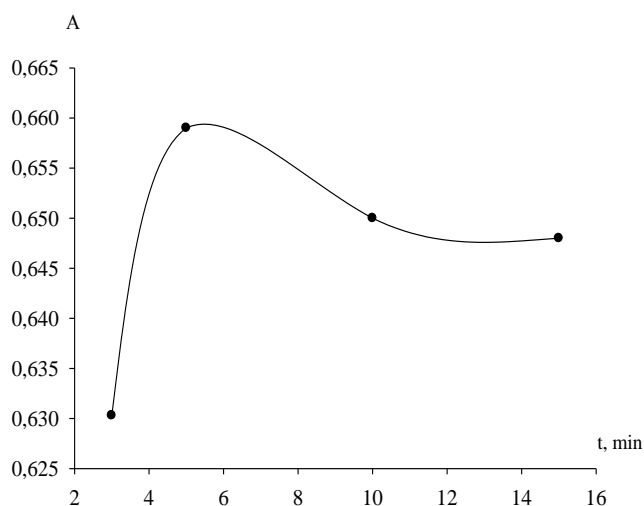


Рис. 3.9. Залежність оптичної густини реакційної суміші «реагент – глюкозамін» від часу нагрівання при 65°C ( $\lambda_{\max}$  510 нм)

Розроблений методичний підхід до визначення оптимальних умов перебігу реакції «реагент – лікарська речовина» було використано й для інших лікарських речовин подібної хімічної будови. Експериментально встановлені оптимальні умови проведення реакцій для кожної з досліджуваних сполук наведені у табл. 3.1.

Обрані лікарські речовини реагують з 0,50–2,0 % водним розчином натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти, доданий об'єм якого складає



від 0,50 до 2,00 мл. Необхідне значення рН (11,1–12,6) середовища створюється додаванням 1,00–3,00 мл 0,01 М, 0,05 М, 0,2 М розчину NaOH. Забарвлений продукт утворюється за кімнатної температури, але потребується достатньо великий проміжок часу (близько 60 хв), що не є доцільним в умовах рутинного контролю якості лікарських засобів, тому реакційну суміш необхідно нагрівати на водяній бані (60–95°C) 3–10 хв. В випадку деяких лікарських речовин, а саме, аміноглікозидів: амікацину, стрептоміцину та канаміцину, реакційну суміш до нагрівання необхідно витримувати близько 10 хв за кімнатної температури. Отримані продукти реакцій стабільні: величина оптичної густини не змінюється протягом 30 і більше хв.

Таблиця 3.1

## Оптимальні умови проведення реакції натрієва сіль 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти – лікарська речовина

Лікарська речовина	Концентрація водного розчину ЛР, %	Концентрація і об'єм розчину реагенту	Концентрація і об'єм розчину NaOH	Температура нагрівання, °С	Час нагрівання, хв	$\lambda_{\max}$ , нм
Амікацину сульфат*	0,16	1,00 мл – 1,0%	3,00 мл – 0,2 М	85	3	530
Глюкозаміну гідрохлорид	0,15	2,00 мл – 0,50%	3,00 мл – 0,01 М	65	5	510
Канаміцину моносульфат*	0,14	1,00 мл – 1,0%	1,00 мл – 0,2 М	85	5	560
Стрептоміцину сульфат*	0,12	1,00 мл – 2,0%	1,00 мл – 0,2 М	85	5	560
Таурин	0,070	0,50 мл – 1,0%	1,00 мл – 0,01 М	95	5	470
$\gamma$ -Аміномасляна кислота	0,10	1,00 мл – 1,0%	1,00 мл – 0,05 М	65	5	470
$\beta$ -Аланін	0,065	1,00 мл – 1,0%	1,50 мл – 0,01 М	60	10	470

Примітка. \* Перед нагріванням реакційну суміш витримують 10 хв

### 3.2 Вивчення оптимальних умов реакцій лікарських речовин, що містять первинну аліфатичну аміногрупу з 2,3-дихлор-1,4-нафтохіноном

Для розробки способів кількісного визначення лікарських речовин за реакцією з дихлоном вивчались такі фактори, як природа розчинника, температура, час нагрівання, концентрація реагенту.

Вивчення впливу вказаних факторів приводимо на прикладі взаємодії дихлону з гліцином.

В якості розчинників, згідно літературних даних та враховуючи розчинність компонентів реакції, використовували етанол, ДМФА, діоксан. Розчин гліцину готували у концентрації 0,002 М у воді очищеній.

1,00 мл гліцину вміщували в мірну колбу ємністю 25,00 мл, обробляли 1,00 мл 0,004 М розчину реагенту в вищенаведених розчинниках. Паралельно проводили дослідження з компенсаційним розчином, який не містив досліджуваної речовини. Візуально, зміни в забарвленні аналізованих розчинів відбувалися лише після нагрівання на киплячій водяній бані протягом 5 хв. При використанні діоксану в якості розчинника, забарвлення залишалось незмінним. Отримані розчини охолоджували, доводили відповідним розчинником до позначки, перемішували. Вимірювали оптичну густину забарвлених розчинів на фоні компенсаційного розчину в інтервалі 400–700 нм (рис. 3.10).

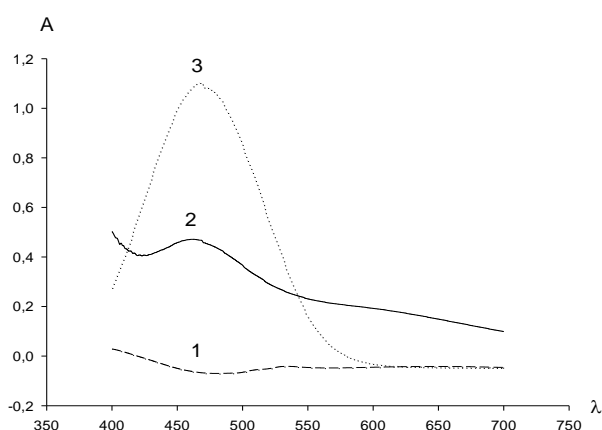


Рис. 3.10. Вплив природи розчинника на спектр поглинання продукту взаємодії дихлону з гліцином: 1 – діоксан; 2 – етанол; 3 – ДМФА

Згідно рис. 3.10 найбільше значення оптичної густини спостерігається при використанні ДМФА в якості розчинника. Максимум світлопоглинання продукту реакції знаходиться при 470 нм.

Для вивчення впливу температури нагрівання на величину абсорбції, до 1,00 мл 0,002 М водного розчину гліцину в мірних колбах ємністю 25,00 мл додавали по 1,00 мл 0,004 М розчину 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону в ДМФА та нагрівали при 40; 60; 80; 100°C протягом 5 хв. Паралельно проводили дослідження з компенсаційними розчинами. Після охолодження забарвлені розчини доводили ДМФА до позначки. Оптичну густину вимірювали при  $\lambda_{\max}=470$  нм.

В зв'язку з тим, що максимальне значення оптичної густини аналізованих розчинів спостерігається при 100°C (рис. 3.11–3.12), було вивчено залежність інтенсивності забарвлення від часу нагрівання.

1,00 мл 0,002 М водного розчину гліцину переносили в мірну колбу ємністю 25,00 мл, обробляли 1,00 мл 0,004 М розчину 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону в ДМФА та нагрівали при 100°C протягом 3, 5, 10, 15 та 20 хв. Паралельно проводили дослідження з компенсаційними розчинами. Після охолодження забарвлені розчини доводили ДМФА до позначки. Оптичну густину вимірювали в діапазоні 450–700 нм (рис. 3.11–3.12).

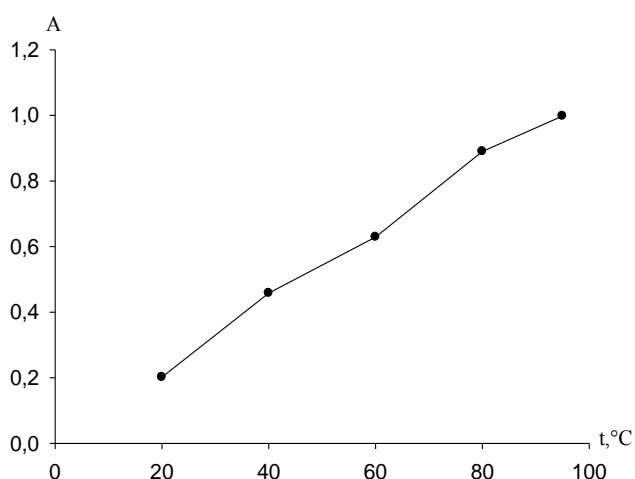


Рис. 3.11. Залежність оптичної густини від температури нагрівання реакційної суміші «реагент – гліцин» ( $\lambda_{\max}=470$  нм)

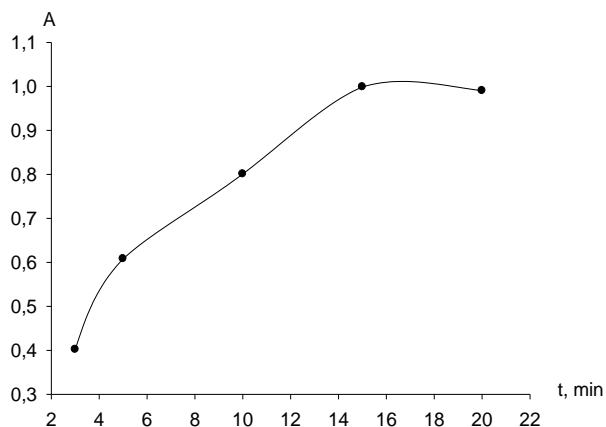


Рис. 3.12. Залежність оптичної густини реакційної суміші «реагент – гліцин» від часу нагрівання при 100°C ( $\lambda_{\max}=470$  нм)

Згідно рис. 3.11–3.12, для перебігу реакції між гліцином та дихлоном достатньо 15 хв нагрівання (за максимальним виходом продукту реакції, тобто за максимальною величиною абсорбції).

Для вивчення впливу кількості реагенту на величину абсорбції, в серію колб ємністю 25,00 мл вміщували по 1,00 мл 0,002 М водного розчину гліцину, додавали 0,50; 1,50; 2,50; 3,50; та 4,50 мл 0,004 М (1,0 %) розчину реагенту в ДМФА та нагрівали протягом 15 хв при 100°C. Після охолодження забарвлені розчини доводили до позначки ДМФА та спектрофотометрували на фоні компенсаційних розчинів. Отримані результати відображені на рис. 3.13.

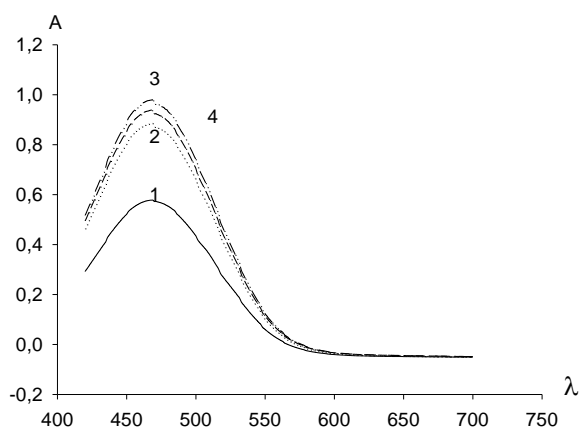


Рис. 3.13. Спектри поглинання продукту реакції гліцину з 2,3-дихлор-1,4-нафтохіноном: 1 – 0,50 мл реагенту; 2 – 1,50 мл; 3 – 2,50 мл; 4 – 3,50 мл за  $\lambda_{\max}$  470 нм

Згідно рис. 3.13, гліцин з дихлоном утворює забарвлений продукт взаємодії з максимумом поглинання при 470 нм, оптична густина якого зростає зі збільшенням кількості реагенту, досягаючи певного значення, а потім починає незначно зменшуватись. Так, оптимальна кількість 1,0 % розчину дихлону в ДМФА для кількісного визначення гліцину складає 2,50 мл.

Описаний вище методичний підхід щодо встановлення оптимальних умов перебігу реакції «реагент – лікарська речовина» було використано й для гентаміцину сульфату. Експериментально встановлені оптимальні умови проведення реакцій для досліджуваних сполук наведені у табл. 3.2.

Таблиця 3.2

### Оптимальні умови проведення реакції

#### дихлон – лікарська речовина

Лікарська речовина	Концентрація розчину ЛР, розчинник	Концентрація і об'єм розчину реагенту	Температура нагрівання, °С	Час нагрівання, хв	$\lambda_{\max}$ , нм
Гентаміцину сульфат	0,15%, вода	4,00 мл–3,0%	100	15	490
Гліцин	0,16%, вода	2,50 мл–1,0%	100	15	470

Обрані лікарські речовини реагують з 1,0–3,0 % розчином 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону в ДМФА, доданий об'єм якого складає від 2,50 до 4,00 мл. Забарвлений продукт утворюється при нагріванні на водяній бані (100°C) 15 хв. Отримані продукти реакцій стабільні: величина оптичної густини не змінюється протягом 30 хв.

3.3 Встановлення аналітичних показників чутливості реакцій досліджуваних лікарських речовин, що містять первинну аліфатичну аміногрупу з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти та 2,3-дихлор-1,4-нафтохіноном

В оптимальних умовах проведення реакцій (див. табл. 3.1, 3.2) між досліджуваними лікарськими речовинами та обраними реагентами (натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти та 2,3-дихлор-1,4-нафтохіноном) були виміряні спектри поглинання продуктів реакцій, встановлені максимуми поглинання та розрахованні показники чутливості даних реакцій (табл. 3.3). Оптичну густину вимірювали в інтервалі довжини хвиль 400–700 нм. Для характеристики чутливості реакцій досліджуваних лікарських речовин з реагентами було розраховано величини:

молярного показника поглинання ( $\varepsilon$ ),

$$\varepsilon = \frac{A}{C_{\text{моль/л}} \cdot l}$$

питомого поглинання ( $a$ ),

$$a = \frac{\varepsilon}{M.м. \cdot 1000}$$

коефіцієнта Сендела ( $W_s$ ),

$$W_s = \frac{M.м.}{\varepsilon}$$

межі виявлення ( $C_{\text{min}}$ , мкг/мл)

$$C_{\text{min}} = \frac{0,05 \cdot M.м.}{\varepsilon \cdot 1000}$$

**Аналітичні показники чутливості реакцій  
лікарська речовина – реагент**

Лікарська речовина	$\lambda_{\max}$ , нм	$\epsilon$	a	$W_s$	$C_{\min}$ , мкг/мл
1	2	3	4	5	6
За реакцією з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти					
Амікацину сульфат	530	$3,51 \cdot 10^3$	0,00599	0,167	8,34
Глюкозаміну гідрохлорид	510	$1,07 \cdot 10^3$	0,00600	0,167	8,33
Канаміцину моносольфат	560	$4,50 \cdot 10^3$	0,00929	0,108	5,38
Стрептоміцину сульфат	560	$1,16 \cdot 10^4$	0,00795	0,125	6,28
Таурин	470	$2,56 \cdot 10^3$	0,0204	0,0488	2,44
$\beta$ -Аланін	470	$2,94 \cdot 10^3$	0,0330	0,0303	1,51
$\gamma$ -Аміномасляна кислота	470	$3,24 \cdot 10^3$	0,0314	0,0318	1,59
За реакцією з 2,3-дихлор-1,4-нафтохіноном					
Гентаміцину сульфат	490	$4,77 \cdot 10^3$	0,00998	0,100	5,00
Гліцин	470	$1,12 \cdot 10^3$	0,0149	0,0669	3,35

Достатньо високі значення молярних коефіцієнтів поглинання та відносно низькі значення меж виявлення свідчать про високу чутливість реакцій досліджуваних лікарських речовин, що містять первинну аліфатичну аміногрупу з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти та 2,3-дихлор-1,4-нафтохіноном.



3.4 Застосування натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти як детектуючого реагенту в тонкошаровій хроматографії для якісного визначення досліджуваних сполук

Опираючись на літературні та експериментально отримані дані щодо реакційної спроможності похідних нафтохінону, натрієва сіль 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти була запропонована в якості детектуючого реагенту в ТШХ для якісного визначення досліджуваних лікарських речовин.

Для ТШХ деяких аліфатичних амінокислот (гліцин, аміналон, таурин,  $\beta$ -аланін), аміноглікозидних антибіотиків та глюкозаміну проводили підбір систем розчинників згідно даних літератури та з урахуванням фізико-хімічних властивостей лікарських речовин [114–115].

Хроматографування деяких аліфатичних амінокислот та глюкозаміну проводили із застосуванням 0,005 М водних розчинів лікарських речовин. Для проявлення плям використовували 1,0 % водний розчин натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти. Після попередніх досліджень було встановлено, що використання 0,01 М розчину NaOH в якості допоміжного проявника не є доцільним, оскільки при його застосуванні плями не ставали більш контрастними.

Хроматограми висушували до повного видалення розчиннику та обробляли розчином натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти. Плями проявлялись після 1–5 хв за температури 70°C та мали помаранчеве або темно-вишневе забарвлення (в залежності від системи). Не всі наведені значення  $R_f$  лікарських речовин для систем в табл. 3.4 та 3.5 знаходяться в межах 0,3–0,7, згідно вимог ДФУ, але слід зазначити, що метою дослідження перш за все було доведення можливості використання розчину натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти в якості реагента-проявника та розрахування меж виявлення ( $\text{мкг} \cdot 10^{-1}$ ) для деяких лікарських речовин, що містять первинну аліфатичну аміногрупу [108].

Значення  $hR_f$  деяких аліфатичних амінокислот та глюкозаміну

Лікарська речовина	Хроматографічні системи*				
	1	2	3	4	5
Гліцин	0,66	0,52	0,33	0,31	0,66
Глюкозаміну гідрохлорид	0,11	0,61	0,16	0,40	0,61
Таурин	0,83	0,60	0,52	0,35	0,73
$\gamma$ -Аміномасляна кислота	0,66	0,53	0,27	0,42	0,58
$\beta$ -Аланін	0,66	0,50	0,30	0,40	0,58

Примітка. \* використовували наступні системи для хроматографування: 1) метанол – вода (7:3); 2) пропанол-1 – вода – оцтова кислота (75:25:5); 3) пропанол-1 – вода (7:3); 4) бутанол-1 – оцтова кислота – вода (4:1:1); 5) пропанол-1 – вода (1:1)

Надалі 1,0 % водний розчин натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти було використано для якісного визначення деяких аміноглікозидних антибіотиків, а саме, амікацину сульфату, гентаміцину сульфату, канаміцину моносульфату.

Хроматографування проводили із застосуванням 0,01 М водних розчинів лікарських речовин, аналогічно визначенню деяких аліфатичних амінокислот та глюкозаміну. Результати проведених досліджень наведені в табл. 3.5.

Значення  $hR_f$  деяких аміноглікозидних антибіотиків

Лікарська речовина	Хроматографічні системи*			
	1	2	3	4
Амікацину сульфат	0,33	0,33	0,30	0,44
Гентаміцину сульфат	-	-	0,11	-
Канаміцину моносульфат	0,66	0,66	0,47	-

Примітка. \* Використовували наступні системи для хроматографування: 1) хлороформ – метанол – 17% розчин аміаку (2:1:1); 2) хлороформ – метанол – конц. розчин аміаку (1:1:1); 3) хлороформ – етанол – 17% розчин аміаку (2:1:1); 4) хлороформ – етанол – конц. розчин аміаку (1:1:1)

Визначення межі виявлення лікарських речовин встановлювали, послідовно розводячи їх початкові розчини водою очищеною, доки не отримували найбільш розведені розчини, які ще чітко проявлялись реактивом на хроматограмах. Експериментально встановлені межі виявлення лікарських речовин ( $\text{мкг} \cdot 10^{-1}$ ) складають від 0,750 (гліцин) до 7,81 (амікацин сульфат), що свідчить про достатньо високу чутливість проявного реагенту (табл. 3.6).

Таблиця 3.6

**Межі виявлення ( $\text{мкг} \cdot 10^{-1}$ ) деяких лікарських речовин при детектуванні натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти**

Лікарська речовина	Межі виявлення ( $\text{мкг} \cdot 10^{-1}$ )
1	2
Амікацину сульфат	7,81
Гентаміцину сульфат	4,77

1	2
Гліцин	0,750
Глюкозаміну гідрохлорид	2,15
Канаміцину моносульфат	4,84
Таурин	1,25
$\beta$ -Аланін	0,890
$\gamma$ -Аміномасляна кислота	1,03

Наведені дані (табл. 3.6) свідчать, що натрієва сіль 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти з успіхом може використовуватися як селективний детектуючий реагент для лікарських речовин, що містять первинну аліфатичну аміногрупу.

3.5 Визначення стехіометричних співвідношень реагуючих компонентів в реакціях лікарських речовин, що містять первинну аліфатичну аміногрупу з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти та 2,3-дихлор-1,4-нафтохіноном

При виконанні спектрофотометричного аналізу виникає необхідність використовувати спектрофотометричні методи для дослідження як самої реакції, так і продукту, що утворюється.

Стехіометричні співвідношення компонентів лікарська речовина – реагент були встановлені на прикладі взаємодії натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти з таурином,  $\beta$ -аланіном, глюкозаміном та 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону з гліцином. З цією метою були використані найбільш поширені спектрофотометричні методи дослідження стехіометричних співвідношень між реагуючими компонентами: метод ізомолярних серій (метод неперервних змін) та метод молярних співвідношень (метод насичення) [116].

Метод ізомолярних серій ґрунтується на визначенні співвідношення ізомолярних концентрацій реагуючих речовин, що відповідають максимальному виходу сполуки, що утворюється –  $MmRn$ . Крива залежності виходу продукту реакції від складу розчину характеризується екстремальною точкою, положення якої пов'язане зі стехіометричними коефіцієнтами  $m$  та  $n$  продукту реакції [116]. Так, приготовлені розчини лікарських речовин та реагентів однакових молярних концентрацій піддавалися змішуванню в співвідношеннях від 1:9 до 9:1 (антибатних співвідношеннях), де загальна кількість молей обох компонентів в сумарному об'ємі залишалася незмінною. Реакції проводили в оптимальних умовах, згідно розроблених методик і вимірювали оптичну густину за відповідної аналітичної довжини хвилі. Опіраючись на експериментально отримані дані будували графіки залежності величини оптичної густини від співвідношення об'ємів компонентів ізомолярної серії (рис. 3.14 – 3.17).

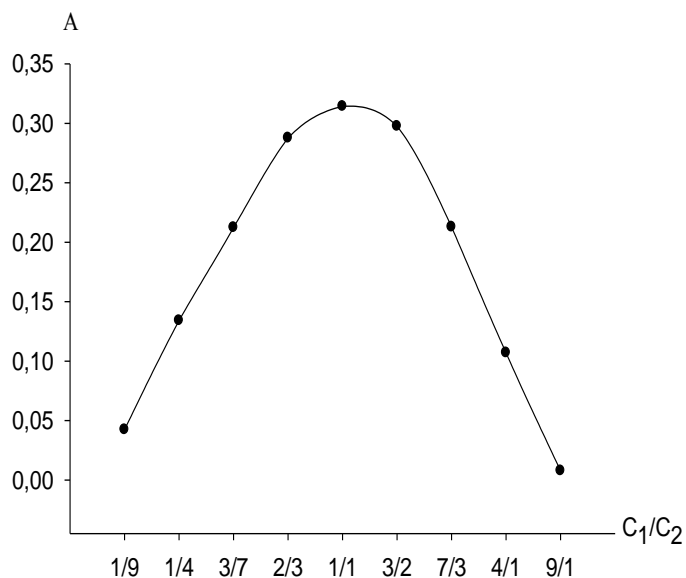


Рис. 3.14. Графік залежності оптичної густини від складу ізомолярного розчину ( $C_1$  – 0,005 М розчин натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфокислоти,  $C_2$  – 0,005 М розчин таурину) при  $\lambda_{\max}=470$  нм

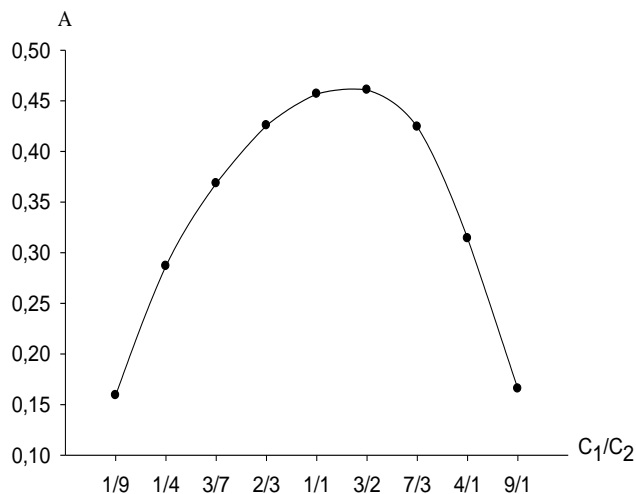


Рис. 3.15. Графік залежності оптичної густини від складу ізомольного розчину ( $C_1$  – 0,007 М розчин натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти,  $C_2$  – 0,007 М розчин  $\beta$ -аланіну) при  $\lambda_{\max}=470$  нм

Метод насичення (метод молярних співвідношень) – найбільш загальний прийом дослідження складу отриманих сполук. Метод базується на встановленні залежності абсорбції від концентрації одного з компонентів при постійній концентрації другого компонента і навпаки. Точка перегину на кривій насичення відповідає відношенню концентрацій реагуючих сполук та дорівнює стехіометричному коефіцієнту компонента, концентрація якого не була постійною. В випадку, коли точка перегину спостерігається нечітко, її визначають екстраполяцією прямолінійних ділянок кривої до взаємного перетину [116].

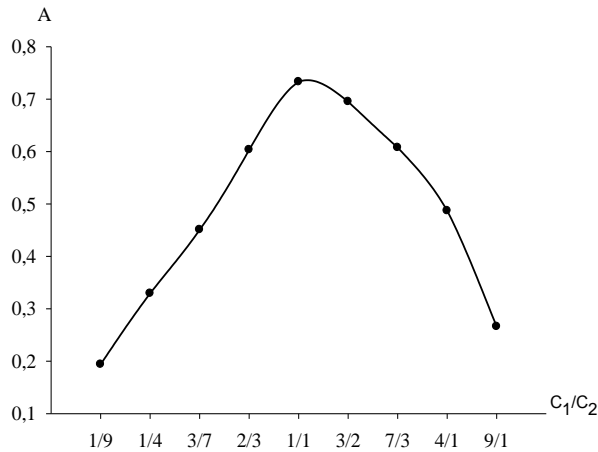


Рис. 3.16. Графік залежності оптичної густини від складу ізомолярного розчину ( $C_1$  – 0,02 М розчин натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти,  $C_2$  – 0,02 М розчин глюкозаміну) при  $\lambda_{\max}=510$  нм

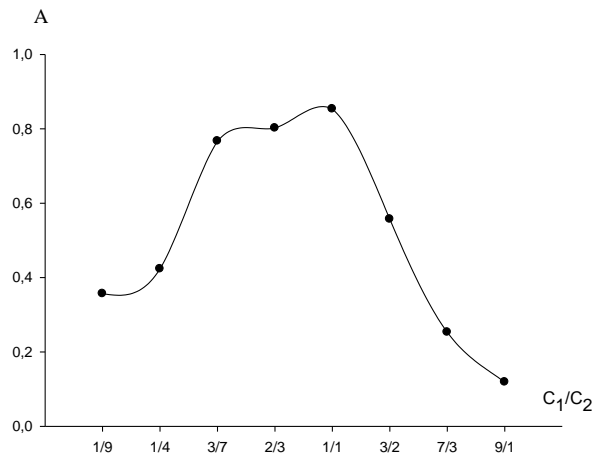


Рис. 3.17. Графік залежності оптичної густини від складу ізомолярного розчину ( $C_1$  – 0,02 М розчин 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону,  $C_2$  – 0,02 М розчин гліцину) при  $\lambda_{\max}=470$  нм

Досліди проводили двома серіями. В першій серії досліду, на прикладі таурину, паралельно у мірні колби ємністю 25,00 мл вміщували 0,20 мл; 0,40; 0,60; 0,80; 1,00; 1,20; 1,40; 1,60; 1,80 та 2,00 мл 0,005 М розчину таурину. До кожної проби додавали по 1,00 мл 0,005 М розчину натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти і далі дослідження проводили згідно методики. Оптичну густину вимірювали за аналітичної довжини хвилі на фоні компенсаційного розчину, що містив 1,00 мл 0,005 М розчину натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти. Наступну серію дослідів готували,

вміщуючи паралельно у мірні колби ємністю 25,00 мл по 1,00 мл 0,005 М розчину таурину, додаючи 0,20 мл; 0,40; 0,60; 0,80; 1,00; 1,20; 1,40; 1,60; 1,80 та 2,00 мл 0,005 М розчину натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти і далі аналізували згідно методики визначення. Абсорбцію вимірювали на фоні компенсаційних розчинів, що містили відповідні об'єми розчину натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти. Згідно отриманих даних будували криві насичення (рис. 3.18). Результати аналогічних досліджень для реакцій між натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти та  $\beta$ -аланіном, глюкозаміном, 2,3-дихлор-1,4-нафтохіноном та гліцином приведені на рис. 3.18–3.21.

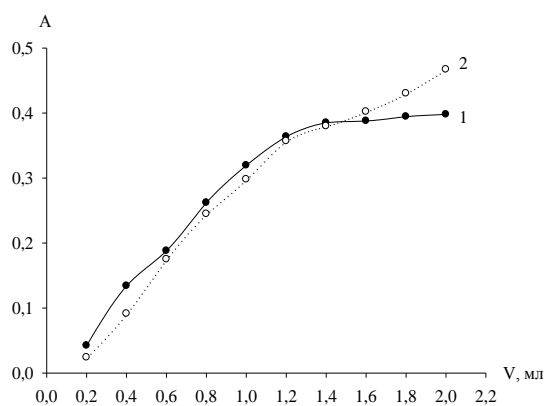


Рис. 3.16. Криві насичення: 1 – натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти при постійній концентрації таурину (1,00 мл 0,005 М розчину); 2 – таурину при постійній концентрації реагенту (1,00 мл 0,005 М розчину) при  $\lambda_{\max}=470$  нм

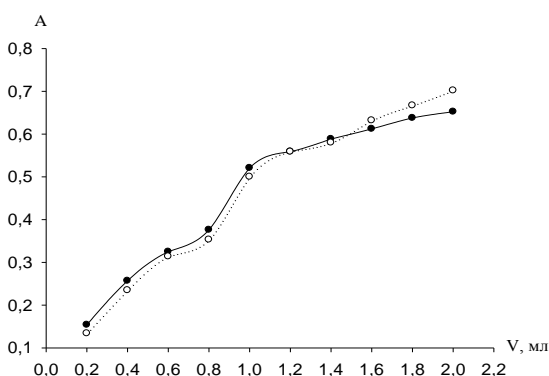


Рис. 3.17. Криві насичення: 1 – натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти при постійній концентрації  $\beta$ -аланіну (1,00 мл 0,007 М розчину); 2 –  $\beta$ -аланіну при постійній концентрації реагенту (1,00 мл 0,007 М розчину) при  $\lambda_{\max}=470$  нм



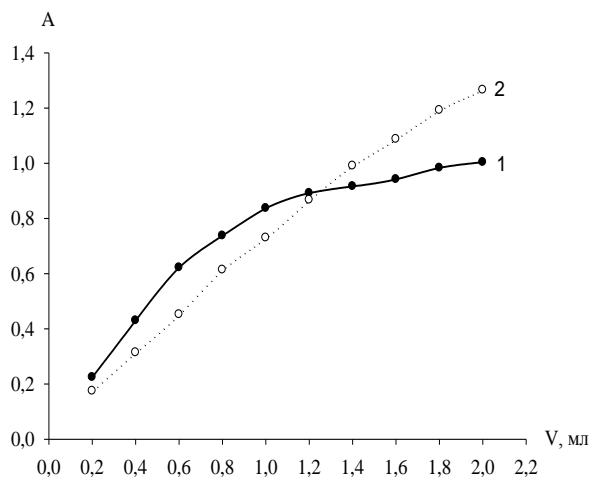


Рис. 3.18. Криві насичення: 1 – натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфокислоти при постійній концентрації глюкозаміну (1,00 мл 0,02 М розчину); 2 – глюкозаміну при постійній концентрації реагенту (1,00 мл 0,02 М розчину) при  $\lambda_{\max}=510$  нм

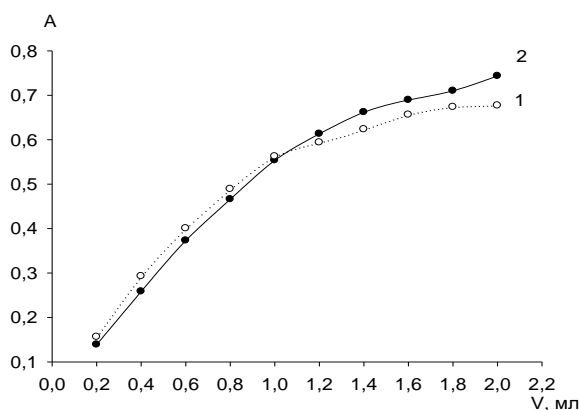


Рис. 3.19. Криві насичення: 1 – 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону при постійній концентрації гліцину (1,00 мл 0,02 М розчину); 2 – гліцину при постійній концентрації реагенту (1,00 мл 0,02 М розчину) при  $\lambda_{\max}=470$  нм

Опираючись на результати вищенаведених методів були встановлені стехіометричні співвідношення реагуючих компонентів «лікарська речовина – реагент», які однозначно узгоджуються між собою.

**Співвідношення компонентів реакції  
«лікарська речовина –реагент»**

Лікарська речовина – реагент	Метод визначення	
	Метод неперервних змін	Метод молярних співвідношень
Таурин – натрієва сіль 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти	1:1	1:1
β-Аланін – натрієва сіль 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти	1:1	1:1
Глюкозамін – натрієва сіль 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти	1:1	1:1
Гліцин – 2,3-дихлор-1,4- нафтохінон	1:1	1:1

3.6 Встановлення складу та препаративний синтез продуктів реакцій натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти та 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону з досліджуваними лікарськими речовинами, що містять первинну аліфатичну аміногрупу

Як наслідок до встановлення стехіометричних співвідношень між учасниками взаємодії лікарська речовина – реагент та оптимальних умов проведення реакцій, були синтезовані, виділені та ідентифіковані забарвлені продукти реакцій таурину, β-аланіну з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти, гліцину з 2,3-дихлор-1,4-нафтохіноном.

Продукт реакції таурину з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти отримували за такою методикою: до розчину 3,1 г таурину (0,025 моль) у 50 мл води очищеної додавали розчин 6,5 г (0,025 моль)

натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти у 50 мл води очищеної. Суміш перемішували, додавали 1,0 г кристалічного NaOH та нагрівали на водяній бані протягом 5 хв при 95°C. Одержану суміш примусово охолоджували та здійснювали відгін насухо за допомогою вакуумного ротаційного випарника. Вихід одержаної сполуки складає 8,0 г (75,47%).

Аналогічно виділяли продукт взаємодії 2,23 г (0,025 моль)  $\beta$ -аланіну та 6,5 г (0,025 моль) натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти. Виключення складала лише температура та час нагрівання (60°C, 10 хв) реакційної суміші, що зумовлено визначенням оптимальних умов перебігу реакції між досліджуваною речовиною та реагентом (див. табл. 3.1). Вихід отриманої сполуки 8,6 г (88,38 %).

Продукти реакцій таурину,  $\beta$ -аланіну та натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти – темно-коричневі кристали, розчинні в воді, ацетатній кислоті, ДМФА, метанолі та етанолі, дуже мало розчинні у ацетоні, діоксані. Т.пл. 125°C.

Для доведення будови продуктів реакції, що утворились при взаємодії натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти (**1**) з таурином та  $\beta$ -аланіном була використана хромато-мас-спектрометрія.

Дані хромато-мас-спектрометрії продуктів взаємодії сполуки **1** з таурином демонструють (рис. 3.20), що результат реакції – суміш продуктів. Зазначені продукти представляють собою моно-(**2**) (36,2 %), бі-(**3**) (4,90 %) та міжмолекулярні біс-похідні (**4**) (22,3 %), які утворились за реакціями нуклеофільного приєднання та заміщення по декількох електрофільних центрах.

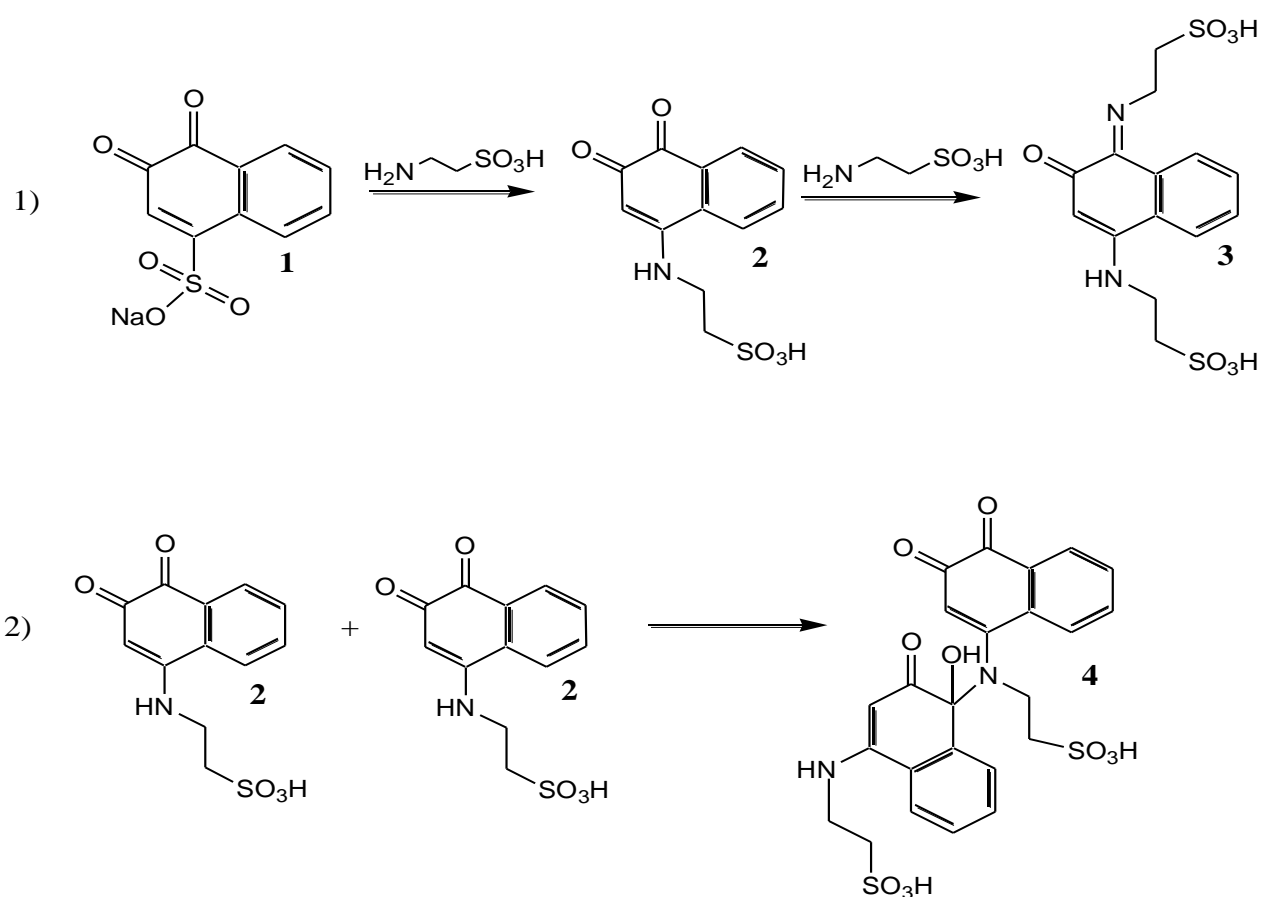


Рис. 3.20. Схема перебігу реакції натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфокислоти (**1**) з таурином

Важливо, що за подібною схемою перебігає реакція взаємодії сполуки з  $\beta$ -аланіном.

Щодо виділення сполуки, що утворилась внаслідок взаємодії між гліцином та 2,3-дихлор-1,4-нафтохіноном, то її отримували за наступною методикою: до розчину 1,87 г гліцину (0,025 моль) у 10 мл води очищеної додавали розчин 5,68 г (0,025 моль) 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону у 250 мл ДМФА, перемішували та нагрівали на водяній бані протягом 15 хв при 95°C. Одержану суміш примусово охолоджували та здійснювали фільтрування з послідовним висушуванням. Вихід одержаної сполуки складає 6,5 г (86,09 %).

Продукт реакції гліцину та 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону – жовті кристали, легко розчинні в ДМФА, нерозчинні в воді, етанолі, ацетоні, дуже мало розчинні у діоксані. Т.пл. 253°C.

Ідентифікування будови сполуки проводили методом хромато-мас-спектроскопії. Взаємодія між лікарською речовиною та реагентом здійснюється шляхом нуклеофільного заміщення та має наступну структуру (рис. 3.19):

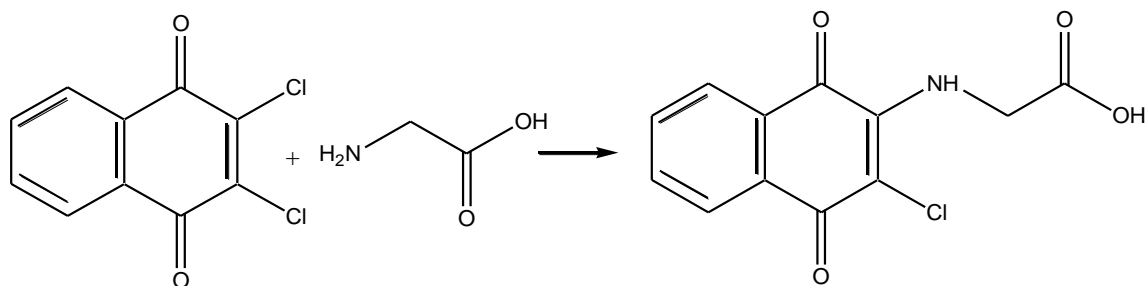


Рис. 3.19. Схема перебігу реакції 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону з гліцином

Слід зазначити, що отриманні дані узгоджуються з результатами досліджень взаємодії 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону з амінокислотами, проведеними під керівництвом проф. Новікова В. П. [119–125].

Матеріали розділу викладені в роботах [126–138].

## ВИСНОВКИ

1. Досліджено умови перебігу спектрофотометричних реакцій натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти та 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону з аналізованими лікарськими речовинами, що містять первинну аліфатичну аміногрупу. Експериментально встановлено, що оптимальними умовами є:

- для реакцій з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти середовище води очищеної, з 2,3-дихлор-1,4-нафтохіноном – вода–ДМФА;
- нагрівання протягом 3–15 хв на водяній бані (60–100°C);
- для реакцій з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти рН (11,1–12,6), яке створюється додаванням 0,01–0,2 М розчину NaOH.

2. Розраховані аналітичні показники чутливості реакцій 9 лікарських речовин з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти та 2,3-дихлор-1,4-нафтохіноном. Реакції характеризуються достатньо високою чутливістю

– межі виявлення становлять 1,51–3,35 мкг/мл для аліфатичних амінокислот та 5,00–8,34 мкг/мл для аміноглікозидних антибіотиків та глюкозаміну.

3. Доведена можливість застосування натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти як проявного реагенту в тонкошаровій хроматографії для обраних лікарських речовин, що містять первинну аліфатичну аміногрупу. Встановлені межі виявлення лікарських речовин ( $\text{мкг} \cdot 10^{-1}$ ) складають від 0,750 (гліцин) до 7,81 (амікацин сульфат), що свідчить про достатньо високу чутливість проявного реагенту.

4. Методами ізомлярних серій та неперервних змін визначені коефіцієнти стехіометричних співвідношень «реагент – лікарська речовина», які становлять 1:1. Виділені та ідентифіковані продукти взаємодії (на прикладі таурин,  $\beta$ -аланін – натрієва сіль 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти та гліцин – 2,3-дихлор-1,4-нафтохінон) та запропоновані хімізми реакцій.

## РОЗДІЛ 4

## РОЗРОБКА МЕТОДИК КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ ЗА ЇХ РЕАКЦІЯМИ З НАТРІЄВОЮ СІЛЛЮ 1,2-НАФТОХІНОН-4-СУЛЬФОКИСЛОТИ ТА 2,3-ДИХЛОР-1,4-НАФТОХІНОНОМ

4.1 Методика визначення питомого показника поглинання лікарських речовин за їх реакцією з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти

Експериментально встановлені оптимальні умови реакції досліджуваних лікарських речовин з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти (див. табл. 3.1) були покладені в основу розробки спектрофотометричних методик кількісного визначення цих речовин у складі лікарських засобів.

Попередньо були знайдені межі концентрацій лікарських речовин, в яких спостерігається підпорядкованість основному закону світлопоглинання та розраховані величини питомих показників поглинання ( $A_{1cm}^{1\%}$ ).

Як приклад, наводимо методику визначення питомого показника поглинання для таурину.

Точну наважку субстанції таурину (0,01000 г) вміщують в мірну колбу ємністю 25,00 мл, розчиняють та доводять до позначки водою очищеною, ретельно перемішують. Із розведення послідовно беруть 0,50; 1,00; ... 3,00 та 3,50 мл водного розчину таурину в колбу ємністю 25,00 мл, додають 0,50 мл 1% водного розчину реагенту, 1,00 мл 0,01 М розчину NaOH та нагрівають на водяній бані при 95°C протягом 5 хв. Після охолодження доводять водою очищеною до позначки. Абсорбцію досліджуваних зразків вимірюють на фоні компенсаційного розчину, що не містить досліджуваної речовини, за аналітичної довжини хвилі 470 нм.

Розрахунок питомого показника поглинання проводять за загальновідомою формулою:

$$A_{1\text{см}}^{1\%} = \frac{A}{C \cdot l}, \quad (4.1)$$

де  $A$  – оптична густина досліджуваного розчину;

$C$  – концентрація розчину в г/100 мл;

$l$  – товщина шару, см.

Для кількісного визначення обирали інтервал концентрацій, в якому одержані значення  $A_{1\text{см}}^{1\%}$  були постійними або в межах допустимих відхилень. Дані розрахунків наведені у табл. 4.1.

Таблиця 4.1

**Значення питомих показників поглинання лікарських речовин та межі концентрацій, в яких спостерігається підпорядкованість світлопоглинання закону Бера**

Лікарська речовина	$\lambda_{\text{max}}$ , нм	Обраний інтервал концентрацій, мг/100 мл	$A_{1\text{см}}^{1\%}(\bar{x} \pm \Delta\bar{x})$
Амікацину сульфат	530	2,56–10,24	60±1
Глюкозаміну гідрохлорид	510	4,80–8,00	60±1
Канаміцину моносульфат	560	4,00–7,20	93±1
Стрептоміцину сульфат	560	2,00–8,00	80±1
Таурин	470	1,80–4,00	205±3
β-Аланін	470	1,60–3,60	330±3
γ-Аміномасляна кислота	470	2,80–5,20	310±3

З метою виключення систематичної похибки, що може бути зумовлена умовами виконання досліду, та отримання більш точних результатів аналізу використовували метод стандарту як більш надійний. Кількісне визначення проводили із застосуванням стандартних розчинів досліджуваних речовин,



які обробляли в умовах аналогічних досліджуваних речовинам. Робочі стандартні розчини готували з субстанцій лікарських речовин, які відповідали вимогам нормативної документації (див. табл. 2.1). Концентрації початкових стандартних розчинів та розчинів, які спектрофотометрували, наведені в табл. 4.2.

Таблиця 4.2

### Значення концентрацій стандартних розчинів

Лікарська речовина	Концентрація	
	початкового розчину, %	розчину, який спектрофотометрують, г/100 мл
Амікацину сульфат	0,16	0,00640
Глюкозаміну гідрохлорид	0,15	0,00640
Канаміцину моносульфат	0,14	0,00560
Стрептоміцину сульфат	0,12	0,00500
Таурин	0,0725	0,00290
$\beta$ -Аланін	0,065	0,00260
$\gamma$ -Аміномасляна кислота	0,10	0,00400

4.2 Методики кількісного визначення амікацину сульфату, канаміцину моносульфату, глюкозаміну гідрохлориду, стрептоміцину сульфату, таурину,  $\beta$ -аланіну та  $\gamma$ -аміномасляної кислоти в лікарських формах

*Приготування робочих стандартних розчинів:* точну наважку субстанції, що відповідала вимогам нормативної документації, відповідної лікарської речовини згідно концентрацій початкових розчинів, вказаних в табл. 4.2, вміщують у мірну колбу ємністю 25,00 мл, розчиняють у воді і доводять водою до позначки, перемішують.

Методика кількісного визначення амікацину сульфату, стрептоміцину сульфату, канаміцину моносульфату у порошках для приготування ін'єкційних розчинів. Точну наважку лікарської форми вміщують у мірну колбу ємністю 25,00 мл (табл. 4.3), доводять до позначки водою та ретельно перемішують. 1,00 мл одержаного розчину переносять у мірну колбу ємністю 25,00 мл, додають встановлені експериментально кількості розчинів реагенту, NaOH (див. табл. 3.1). Одержану суміш витримують у часі протягом 10 хв, нагрівають 3 хв на водяній бані за температури 85°C, охолоджують та доводять очищеною водою до позначки. Паралельно проводять досліди з 1,00 мл робочого стандартного розчину. Абсорбцію розчинів вимірюють на фоні компенсаційного розчину, що не містить досліджуваної речовини за аналітичної довжини хвилі (табл. 4.1). Розрахунок вмісту діючої речовини проводять за формулою 4.2.

Методика кількісного визначення глюкозаміну та  $\gamma$ -аміномасляної кислоти у капсулах. Точну наважку капсульної маси (табл. 4.3) вміщують у мірну колбу ємністю 25,00 мл, розчиняють у воді очищеній, доводять цим же розчинником до позначки, ретельно перемішують. За необхідності (у випадку глюкозаміну) отриманий розчин фільтрують через паперовий беззольний фільтр (синя стрічка), перші порції фільтрату відкидають. 1,00 мл одержаного розчину вміщують у мірну колбу ємністю 25,00 мл, додають необхідну кількість розчину реагенту, розчину NaOH, перемішують. Одержану реакційну суміш нагрівають на водяній бані, охолоджують та доводять очищеною водою до позначки (табл. 3.1). Паралельно проводять дослід з робочим стандартним розчином. Абсорбцію досліджуваних та стандартних розчинів вимірюють на фоні компенсаційного розчину, що не містить досліджуваної речовини, за аналітичної довжини хвилі, вказаної у табл. 4.1. Розрахунок кількісного вмісту діючої речовини в капсулах проводять за формулою 4.2.

Методика кількісного визначення глюкозаміну у пакетиках. Весь вміст саше (1,5 г/4,0 г) переносять у мірну колбу на 100,0 мл, розчиняють у воді

очищеній, доводять цим же розчинником до позначки, перемішують. Одержаний розчин (5,00 мл) вміщують у мірну колбу ємністю 50,00 мл, доводять водою до позначки. 1,00 мл отриманого розчину переносять у колбу ємністю 25,00 мл, додають 2,00 мл 0,5 % водного розчину реагенту, 3,00 мл 0,01 М розчину NaOH. Реакційну суміш нагрівають на водяній бані 3 хв за температури 65°C, охолоджують та доводять водою до позначки. Паралельно проводять дослід з 1,00 мл робочого стандартного розчину. Надалі отриманий розчин, як і стандартний розчин спектрофотометрують на фоні компенсаційного розчину при 510 нм. Розрахунок кількісного вмісту глюкозаміну визначають за формулою 4.3.

Методика кількісного визначення глюкозаміну, амікацину сульфату в розчині для ін'єкцій. 1,00 мл ін'єкційного розчину «Дона» вміщують в мірну колбу ємністю 25,00 мл та доводять водою очищеною до позначки, ретельно перемішують. 5,00 мл одержаного розчину переносять в мірну колбу на 50,00 мл, доводять водою до позначки, перемішують.

0,60 мл ін'єкційного розчину «Лорікацин» вміщують в мірну колбу ємністю 100,0 мл та доводять водою очищеною до позначки, перемішують.

Надалі, аліквотні частини (табл. 4.1) обох отриманих розчинів переносять в мірні колби ємністю 25,00 мл, обробляють відповідною кількістю розчину реагенту, розчином NaOH, нагрівають на водяній бані, охолоджують, доводять водою до позначки (табл. 3.1). Абсорбцію отриманих розчинів та стандартних розчинів вимірюють на фоні компенсаційного розчину, що не містить досліджуваної речовини, за довжини хвилі, вказаної у табл. 4.1. Розрахунок кількісного вмісту проводять за формулою 4.2.

Методика кількісного визначення таурину в очних краплях. При кількісному визначенні таурину в очних краплях 0,90 мл лікарської форми переносять в мірну колбу ємністю 50,00 мл, доводять водою очищеною до позначки, перемішують. Аліквоту отриманого розчину переносять в мірну колбу ємністю 25,00 мл, обробляють 0,50 мл 1 % водного розчину реагенту, додають 1,00 мл 0,01 М NaOH, перемішують. Отриману реакційну суміш

нагрівають на водяній бані 5 хв за температури 95°C, охолоджують та доводять водою до позначки. Оптичну густину вимірюють на фоні компенсаційного розчину, що не містить таурину, при 470 нм. Паралельно проводять дослід з 1,00 мл стандартного розчину таурину. Стандартний розчин таурину (0,0725%) готують шляхом розчинення точної наважки у воді очищеній. Розрахунок кількісного вмісту таурину проводять за формулою 4.3.

Методика кількісного визначення таурину в супозиторіях. 1 супозиторій вміщують в стаканчик ємністю 25 мл, додають 5 мл води очищеної та нагрівають на водяній бані до повного розтоплення супозиторію, потім охолоджують та декантують в мірну колбу ємністю 25,00 мл. Дану операцію повторюють двічі. Вміст колби доводять водою до позначки, ретельно перемішують. Розчин фільтрують через паперовий беззольний фільтр (синя стрічка), перші порції фільтрату відкидають, а з наступних беруть аліквоту, переносять в мірну колбу ємністю 25,00 мл, додають необхідні кількості розчинів реагенту та NaOH, нагрівають на водяній бані та охолоджують (табл. 3.1). Паралельно проводять дослід зі стандартним розчином. Реакційні суміші доводять водою до позначки та вимірюють оптичну густину отриманих розчинів на фоні компенсаційного розчину, що не містить досліджуваної речовини, при 470 нм. Розрахунок кількісного вмісту досліджуваної речовини проводять за формулою 4.2.

Методика кількісного визначення глюкозаміну,  $\gamma$ -аміномасляної кислоти, таурину та  $\beta$ -аланіну у таблетках. Точну наважку ретельно розтертої таблеткової маси (табл. 4.3) вміщують у мірну колбу ємністю 25,00 мл, доводять водою до позначки, за необхідності (у випадку глюкозаміну) отриманий розчин фільтрують через паперовий беззольний фільтр (синя стрічка). 1,00 мл одержаного розчину вміщують у мірну колбу ємністю 25,00 мл, додають необхідну кількість реагенту, розчину NaOH, перемішують. Одержану реакційну суміш нагрівають на водяній бані, охолоджують та доводять очищеною водою до позначки (табл. 3.1). Паралельно проводять

дослід з робочим стандартним розчином. Абсорбцію досліджуваного та стандартного розчинів вимірюють на фоні компенсаційного розчину, що не містить досліджуваної речовини, за довжини хвилі, вказаної у табл. 4.1. Розрахунок кількісного вмісту досліджуваних речовин в таблетці проводять за формулою 4.2.

Таблиця 4.3

**Умови кількісного визначення досліджуваних лікарських речовин у складі лікарських препаратів за реакцією з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфокислоти**

Лікарський препарат	Наважка	Ємність мірної колби для розчинення
1	2	3
Порошок для приготування розчину для ін'єкцій «Аміцил»: амікацину сульфату 0,50 г	0,0150-0,0650 г	25,00
Порошок для приготування розчину для ін'єкцій «Аміцил»: амікацину сульфату 1,0 г	0,0150-0,0650 г	25,00
Порошок для приготування розчину для ін'єкцій «Стрептоміцин»: стрептоміцину сульфату 1,0 г	0,0125-0,0500 г	25,00
Порошок для приготування розчину для ін'єкцій «Канаміцин»: канаміцину моносульфату 1,0 г	0,0250-0,0450 г	25,00
Капсули «Терафлекс»: глюкозаміну 0,50 г	0,0580-0,0968 г	25,00
Капсули «Аміналон-КВ»: $\gamma$ -аміномасляної кислоти 0,25 г	0,0167-0,0310 г	25,00

1	2	3
Порошок у пакетиках «Дона»: глюкозаміну 1,5 г/4,0 г	весь вміст саше 4,0 г	100,0
Порошок у пакетиках «Артифлекс»: глюкозаміну 1,5 г/4,0 г	весь вміст саше 4,0 г	100,0
Розчин для ін'єкцій «Дона»: глюкозаміну 0,40 г/2 мл	1,00 мл	25,00
Розчин для ін'єкцій «Лорікацин»: амікацину сульфату 0,25 г/мл	0,60 мл	100,0
Краплі очні «Тауфон» 4 % (Фармак): таурину 40 мг/мл	0,90 мл	50,00
Краплі очні «Тауфон» 4 % (ДЗ «ГНЦЛС»): таурину 40 мг/мл	0,90 мл	50,00
Супозиторії «Генферон»: таурину 10 мг	1 супозиторій	25,00
Таблетки «Аб'юфен»: β-аланіну 0,40 г	0,0100-0,0225 г	25,00
Таблетки «Кратал»: таурину 0,87 г	0,0112-0,0250 г	25,00
Таблетки «Хондромакс»: глюкозаміну 0,50 г	0,0864-0,144 г	25,00
Таблетки «Аміналон»: γ-аміномасляної кислоти 0,25 г	0,0358-0,0666 г	25,00

Розрахунок вмісту досліджуваних речовин у лікарських препаратах у грамах проводять за формулою:

$$x = \frac{A \cdot p_{заг}}{A_0 \cdot p \cdot l \cdot 100} \cdot k, \quad (4.2)$$

$$x = \frac{A}{A_0 \cdot l \cdot 100} \cdot k, \quad (4.3)$$

де  $A$  – оптична густина досліджуваного розчину;

$p_{заг}$  – середня маса лікарської форми;

$A_0$  – оптична густина розчину порівняння;

$p$  – наважка лікарської форми, г або мл;

$l$  – товщина шару, см;

$k$  – розрахунковий коефіцієнт з урахуванням розведень та концентрації розчину порівняння.

У випадку лікарських форм, де до складу входить глюкозаміну сульфат, а в розчин порівняння – глюкозаміну гідрохлорид, у формулі до коефіцієнту перерахунку ( $k$ ) додається відношення молекулярних мас.

Результати кількісного визначення лікарських речовин у складі лікарських препаратів наведено в табл. 4.4.

Таблиця 4.4

**Результати кількісного визначення лікарських речовин у  
лікарських препаратах  
(n=6, p=0,95)**

Лікарський препарат (допустимий вміст лікарської речовини за МКЯ)	Наважка, г (мл)	Знайдено, г	Метрологічні характеристики
1	2	3	4
Порошок для приготування розчину для ін'єкцій «Аміцил»: амікацину сульфату 0,50 г (0,450-0,550 г)	0,0159 0,0284 0,0342 0,0410 0,0526 0,0643	0,500 0,501 0,502 0,501 0,489 0,502	$\bar{X}=0,501$ $S=7,62 \cdot 10^{-3}$ $S_x=3,11 \cdot 10^{-3}$ $\Delta x=1,95 \cdot 10^{-2}$ $\Delta \bar{x}=7,99 \cdot 10^{-3}$ $\bar{\varepsilon}=1,59$

1	2	3	4
Порошок для приготування розчину для ін'єкцій «Аміцил»: амікацину сульфату 1,0 г (0,900-1,110 г)	0,0160 0,0285 0,0344 0,0411 0,0529 0,0647	0,995 1,00 0,995 0,999 0,999 1,00	$\bar{X}=0,998$ $S=2,36 \cdot 10^{-3}$ $S_x=9,63 \cdot 10^{-4}$ $\Delta x=6,06 \cdot 10^{-3}$ $\Delta \bar{x}=2,47 \cdot 10^{-3}$ $\bar{\varepsilon}=0,247$
Порошок для приготування розчину для ін'єкцій «Стрептоміцин»: стрептоміцину сульфату 1,0 г (0,900-1,10 г)	0,0126 0,0215 0,0261 0,0305 0,0397 0,0490	0,104 0,101 0,101 0,100 0,104 0,104	$\bar{X}=0,102$ $S=1,86 \cdot 10^{-3}$ $S_x=7,59 \cdot 10^{-4}$ $\Delta x=4,78 \cdot 10^{-3}$ $\Delta \bar{x}=1,95 \cdot 10^{-3}$ $\bar{\varepsilon}=1,91$
Порошок для приготування розчину для ін'єкцій «Канаміцин»: канаміцину моносульфату 1,0 г (0,850-1,15 г)	0,0260 0,0305 0,0330 0,0350 0,0400 0,0450	0,998 1,00 0,995 0,998 1,00 1,00	$\bar{X}=0,998$ $S=1,97 \cdot 10^{-3}$ $S_x=8,04 \cdot 10^{-4}$ $\Delta x=5,05 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x}=2,06 \cdot 10^{-4}$ $\bar{\varepsilon}=0,0200$
Капсули «Терафлекс»: глюкозаміну 0,50 г (0,450-0,550 г)	0,0581 0,0680 0,0727 0,0780 0,0873 0,0967	0,495 0,498 0,500 0,500 0,503 0,498	$\bar{X}=0,499$ $S=2,68 \cdot 10^{-3}$ $S_x=1,09 \cdot 10^{-3}$ $\Delta x=6,88 \cdot 10^{-3}$ $\Delta \bar{x}=2,81 \cdot 10^{-3}$ $\bar{\varepsilon}=0,563$
Капсули «Аміналон-КВ»: $\gamma$ -аміномасляної кислоти 0,25 г (0,225-0,275 г)	0,0168 0,0206 0,0221 0,0244 0,0274 0,0305	0,250 0,249 0,250 0,250 0,248 0,250	$\bar{X}=0,249$ $S=8,37 \cdot 10^{-4}$ $S_x=3,41 \cdot 10^{-4}$ $\Delta x=2,15 \cdot 10^{-3}$ $\Delta \bar{x}=8,77 \cdot 10^{-4}$ $\bar{\varepsilon}=0,352$
Порошок у пакетиках «Дона»: глюкозаміну 1,5 г/4,0 г (1,42-1,57 г)	0,900 0,950 0,975 1,00 1,10 1,20	1,50 1,50 1,49 1,50 1,51 1,49	$\bar{X}=1,50$ $S=7,52 \cdot 10^{-3}$ $S_x=3,06 \cdot 10^{-3}$ $\Delta x=1,93 \cdot 10^{-2}$ $\Delta \bar{x}=7,89 \cdot 10^{-3}$ $\bar{\varepsilon}=0,526$



1	2	3	4
Порошок у пакетиках «Артифлекс»: глюкозаміну 1,5 г/4,0 г (1,42-1,57 г)	0,900 0,950 0,975 1,00 1,10 1,20	1,49 1,49 1,49 1,50 1,50 1,49	$\bar{X}=1,49$ $S=5,16 \cdot 10^{-3}$ $S_x=2,10 \cdot 10^{-3}$ $\Delta x=1,32 \cdot 10^{-2}$ $\Delta \bar{x}=5,41 \cdot 10^{-3}$ $\bar{\varepsilon}=0,363$
Розчин для ін'єкцій «Дона»: глюкозаміну 0,40 г/2 мл (0,380-0,420 г)	1,60 1,80 1,90 2,00 2,20 2,40	0,400 0,396 0,400 0,400 0,401 0,399	$\bar{X}=0,399$ $S=1,75 \cdot 10^{-3}$ $S_x=7,14 \cdot 10^{-4}$ $\Delta x=4,49 \cdot 10^{-3}$ $\Delta \bar{x}=1,83 \cdot 10^{-3}$ $\bar{\varepsilon}=0,460$
Розчин для ін'єкцій «Лорікацин»: амікацину сульфату 0,50 г/2 мл (0,450-0,550 г)	0,80 0,90 1,00 1,10 1,20 1,30	0,501 0,512 0,501 0,500 0,513 0,501	$\bar{X}=0,504$ $S=6,08 \cdot 10^{-3}$ $S_x=2,48 \cdot 10^{-3}$ $\Delta x=1,56 \cdot 10^{-2}$ $\Delta \bar{x}=6,37 \cdot 10^{-3}$ $\bar{\varepsilon}=1,26$
Краплі очні «Тауфон» 4 % (Фармак): таурину 40 мг/мл (0,0360-0,0440 г/мл)	0,70 0,80 0,90 1,00 1,20 1,30	0,0399 0,0400 0,0402 0,0397 0,0399 0,0399	$\bar{X}=0,0399$ $S=1,63 \cdot 10^{-4}$ $S_x=6,65 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x=4,19 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x}=1,71 \cdot 10^{-4}$ $\bar{\varepsilon}=0,428$
Краплі очні «Тауфон» 4 % (ДЗ «ГНЦЛС»): таурину 40 мг/мл (0,0360-0,0440 г/мл)	0,70 0,80 0,90 1,00 1,20 1,30	0,0401 0,0408 0,0408 0,0401 0,0408 0,0408	$\bar{X}=0,0405$ $S=3,61 \cdot 10^{-4}$ $S_x=1,47 \cdot 10^{-4}$ $\Delta x=9,27 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x}=3,78 \cdot 10^{-4}$ $\bar{\varepsilon}=0,935$
Супозиторії «Генферон»: таурину 10 мг	1,20 1,40 1,60 1,80 2,00 2,40	0,0105 0,011 0,010 0,010 0,0105 0,010	$\bar{X}=0,0103$ $S=4,08 \cdot 10^{-4}$ $S_x=1,66 \cdot 10^{-4}$ $\Delta x=1,04 \cdot 10^{-3}$ $\Delta \bar{x}=4,28 \cdot 10^{-4}$ $\bar{\varepsilon}=0,415$
Таблетки «Аб'юфен»: β-аланіну 0,40 г (0,380-0,420 г)	0,0202 0,0255 0,0274 0,0309 0,0346 0,0384	0,400 0,400 0,400 0,406 0,400 0,401	$\bar{X}=0,401$ $S=2,40 \cdot 10^{-3}$ $S_x=9,79 \cdot 10^{-4}$ $\Delta x=6,16 \cdot 10^{-3}$ $\Delta \bar{x}=2,51 \cdot 10^{-3}$ $\bar{\varepsilon}=0,628$

1	2	3	4
Таблетки «Кратал»: таурину 0,87 г (0,826-0,913)	0,0160 0,0197 0,0213 0,0234 0,0267 0,0300	0,867 0,867 0,867 0,870 0,870 0,860	$\bar{X}=0,866$ $S=3,65 \cdot 10^{-3}$ $S_x=1,48 \cdot 10^{-3}$ $\Delta x=9,38 \cdot 10^{-3}$ $\Delta \bar{x}=3,82 \cdot 10^{-3}$ $\bar{\varepsilon}=0,442$
Таблетки «Хондромакс»: глюкозаміну 0,50 г (0,450-0,550)	0,0870 0,103 0,110 0,119 0,129 0,140	0,500 0,500 0,498 0,500 0,488 0,501	$\bar{X}=0,497$ $S=4,91 \cdot 10^{-3}$ $S_x=2,00 \cdot 10^{-3}$ $\Delta x=1,26 \cdot 10^{-2}$ $\Delta \bar{x}=5,00 \cdot 10^{-3}$ $\bar{\varepsilon}=1,03$
Таблетки «Аміналон»: γ-аміномасляної кислоти 0,25 г (0,231-0,268 г)	0,0363 0,0439 0,0476 0,0516 0,0589 0,0663	0,247 0,250 0,250 0,250 0,250 0,253	$\bar{X}=0,250$ $S=1,89 \cdot 10^{-3}$ $S_x=7,71 \cdot 10^{-4}$ $\Delta x=4,85 \cdot 10^{-3}$ $\Delta \bar{x}=1,98 \cdot 10^{-3}$ $\bar{\varepsilon}=0,793$

#### 4.3 Методика визначення питомого показника поглинання лікарських речовин за їх реакцією з 2,3-дихлор-1,4-нафтохіноном

В оптимальних умовах проведення реакцій 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону з досліджуваними лікарськими речовинами були розроблені спектрофотометричні методики їх кількісного визначення в лікарських засобах.

Попередньо були знайдені межі концентрацій лікарських речовин, в яких спостерігається підпорядкування світлопоглинання закону Бера та розраховані величини питомих показників поглинання. Як приклад, наводимо методику визначення для гліцину.

Точну наважку субстанції гліцину (0,04000 г) вміщують в мірну колбу ємністю 25,00 мл, розчиняють в 7,00 мл води очищеної та доводять ДМФА до позначки, ретельно перемішують. Із розведення послідовно беруть 0,70;

0,90; ... 1,30 мл розчину гліцину в колбу ємністю 25,00 мл, додають 2,50 мл 1% розчину 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону в ДМФА та нагрівають на водяній бані за 95°C протягом 15 хв. Після охолодження доводять ДМФА до позначки. Паралельно проводять дослід без досліджуваної речовини. Абсорбцію досліджуваних зразків вимірюють при 470 нм.

Розрахунок питомого показника поглинання проводять за загальновідомою формулою (4.1).

Отримані дані, а також межі концентрацій, в яких спостерігається підпорядкування закону Бера, наведені в табл. 4.5.

Таблиця 4.5

**Значення питомих показників поглинання лікарських речовин та межі концентрацій, в яких спостерігається підпорядкованість світлопоглинання закону Бера**

Лікарська речовина	$\lambda_{\max}$ , нм	Обраний інтервал концентрацій, мг/100 мл	$A_{1\text{см}}^{1\%}(\bar{x} \pm \Delta\bar{x})$
Гентаміцину сульфат	490	4,00-8,00	100±1
Гліцин	470	5,00-8,00	150±3

У табл. 4.6 наведені концентрації розчинів порівняння (стандартних розчинів), та розчинів, які спектрофотометрують, значення яких необхідні для кількісного визначення даних лікарських речовин.

Таблиця 4.6

**Значення концентрацій стандартних розчинів**

Лікарська речовина	Концентрація	
	початкового розчину, %	розчину, який спектрофотометрують, г/100 мл
Гентаміцину сульфат	0,15	0,00600
Гліцин	0,16	0,00650

#### 4.4 Методики кількісного визначення гліцину та гентаміцину сульфату в лікарських формах

*Приготування робочих стандартних розчинів:* точну наважку субстанції, що відповідала вимогам АНД, відповідної лікарської речовини згідно концентрацій початкових розчинів, вказаних в табл. 4.6, вміщують у мірну колбу ємністю 25,00 мл, розчиняють у 7,00 мл води очищеної та доводять ДМФА до позначки, перемішують.

Методика кількісного визначення гліцину в капсулах. Точну наважку капсульної маси (табл. 4.7) вміщують у мірну колбу ємністю 25,00 мл, розчиняють у 7,00 мл води очищеної та доводять ДМФА до позначки, ретельно перемішують. 1,00 мл одержаного розчину вміщують у мірну колбу ємністю 25,00 мл, додають 2,50 мл 1% розчину реагенту, перемішують. Одержану реакційну суміш нагрівають на водяній бані протягом 15 хв за 95°C, охолоджують та доводять ДМФА до позначки (табл. 3.2). Паралельно проводять дослід із робочим стандартним розчином. Абсорбцію досліджуваних та стандартних розчинів вимірюють на фоні компенсаційного розчину, що не містить досліджуваної речовини, за довжини хвилі, вказаної у табл. 4.5. Розрахунок кількісного вмісту діючої речовини в капсулах проводять за формулою 4.2.

Методика кількісного визначення гліцину в пакетиках. Весь вміст саше (7,0 г гліцину) переносять у мірну колбу на 500,0 мл, розчиняють в 7,00 мл води очищеної, доводять ДМФА до позначки, перемішують. Одержаний розчин (10,00 мл) вміщують у мірну колбу ємністю 100,0 мл, доводять ДМФА до позначки, перемішують. 1,00 мл одержаного розчину вміщують у мірну колбу ємністю 25,00 мл, додають 2,50 мл 1% розчину 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону, перемішують. Одержану реакційну суміш нагрівають на водяній бані (95°C, 15 хв), охолоджують та доводять ДМФА до позначки. Паралельно проводять дослід з 1,00 мл робочого стандартного розчину. Абсорбцію досліджуваного та стандартного розчину вимірюють на фоні

компенсаційного розчину, що не містить досліджуваної речовини, за довжини хвилі 470 нм. Розрахунок кількісного вмісту гліцину визначають за формулою 4.3.

Методика кількісного визначення гентаміцину сульфату в розчині для ін'єкцій. 1,00 мл ін'єкційного розчину вміщують в мірну колбу ємністю 25,00 мл, додають 6,00 мл води очищеної та доводять ДМФА до позначки. 1,00 мл одержаного розчину переносять в мірну колбу на 25,00 мл, додають 4,00 мл 3% реагенту, перемішують. Реакційну суміш нагрівають при 100°C на протязі 20 хв, охолоджують та доводять ДМФА до позначки. Паралельно проводять дослід з 1,00 мл робочого стандартного розчину. Оптичну густину вимірюють на фоні компенсаційного розчину, що не містить досліджуваної речовини, при 490 нм. Розрахунок кількісного вмісту проводять за формулою 4.2.

Методика кількісного визначення гентаміцину сульфату в очних краплях. 2,00 мл лікарської форми переносять в мірну колбу ємністю 10,00 мл та доводять ДМФА до позначки. Аліквоту отриманого розчину переносять в мірну колбу ємністю 25,00 мл, обробляють 4,00 мл 3% розчину реагенту та перемішують. Отриману реакційну суміш нагрівають на водяній бані 20 хв за температури 100°C, охолоджують та доводять ДМФА до позначки. Оптичну густину вимірюють на фоні компенсаційного розчину, що не містить гентаміцину, при 490 нм. Паралельно проводять дослід з 1,00 мл стандартного розчину гентаміцину сульфату. Розрахунок кількісного вмісту досліджуваної речовини проводять за формулою 4.3.

Методика кількісного визначення гентаміцину в мазі. Точну наважку мазі (7,50 г) вміщують в стаканчик ємністю 25 мл, додають 5,00 мл води очищеної та нагрівають на водяній бані до повного розтоплення, потім охолоджують та декантують в мірну колбу ємністю 10,00 мл. Дану операцію повторюють. Вміст колби доводять водою до позначки, ретельно перемішують. Розчин фільтрують. Аліквоту отриманого розчину переносять в колбу ємністю 25,00 мл, додають необхідну кількість розчину реагенту,

нагрівають на водяній бані та охолоджують (табл. 3.2). Паралельно проводять дослід з робочим стандартним розчином. Реакційні суміші доводять ДМФА до позначки та вимірюють оптичну густину отриманих розчинів на фоні компенсаційного розчину, що не містить досліджуваної речовини, при 490 нм. Розрахунок кількісного вмісту досліджуваної речовини проводять за формулою 4.2.

Методика кількісного визначення гліцину в таблетках. Точну наважку таблеткової маси (табл. 4.7) вміщують у мірну колбу ємністю 25,00 мл, розчиняють в 7,00 мл води очищеної та доводять ДМФА до позначки. 1,00 мл одержаного розчину вміщують у мірну колбу ємністю 25,00 мл, додають 2,50 мл 1 % розчину реагенту, перемішують. Одержану реакційну суміш нагрівають на водяній бані (95°C, 15 хв), охолоджують та доводять ДМФА до позначки. Паралельно проводять дослід з робочим стандартним розчином. Абсорбцію досліджуваного та стандартного розчину вимірюють на фоні компенсаційного розчину, що не містить досліджуваної речовини, при 470 нм. Розрахунок кількісного вмісту досліджуваної речовини в таблетці проводять за формулою 4.2.

Таблиця 4.7

**Умови кількісного визначення досліджуваних лікарських речовин у складі лікарських препаратів за реакцією з 2,3-дихлор-1,4-нафтохіноном**

Лікарський препарат	Наважка	Ємність мірної колби для розчинення
1	2	3
Капсули «Доппельгерц актив»: гліцину 0,50 г	0,0312-0,0500 г	25,00
Порошок у пакетиках «Медихронал-Дарниця»: гліцину 7,0 г	весь вміст саше 10,5 г	500,0

1	2	3
Розчин для ін'єкцій «Гентаміцину сульфат» (ПАТ Дарниця): гентаміцину сульфату 40 мг/мл	1,00 мл	25,00
Розчин для ін'єкцій «Гентаміцину сульфат» (Корпорація ARTERIUM): гентаміцину сульфату 40 мг/мл	1,00 мл	25,00
Краплі очні «Декса-гентаміцин»: гентаміцину сульфату 5,0 мг/мл	2,00 мл	10,00
Мазь «Кремген»: гентаміцину сульфату 0,1 г/1,0 г	7,50 г	10,00
Таблетки «Гліцин»: гліцину 0,10 г	0,0312-0,0500 г	25,00
Таблетки «Гліцисед»: гліцину 0,10 г	0,0312-0,0500 г	25,00

Результати кількісного визначення лікарських речовин у складі лікарських препаратів наведено в табл. 4.8.

Таблиця 4.8

**Результати кількісного визначення лікарських речовин у  
лікарських препаратах (n=6, p=0,95)**

Лікарський препарат (допустимий вміст лікарської речовини за МКЯ)	Наважка, г (мл)	Знайдено, г	Метрологічні характеристики
1	2	3	4
Капсули «Доппельгерц актив»: гліцину 0,50 г (0,45-0,55 г)	0,0159 0,0284 0,0342 0,0410 0,0526 0,0643	0,508 0,500 0,500 0,507 0,500 0,507	$\bar{X} = 0,503$ $S = 4,03 \cdot 10^{-3}$ $S_x = 1,64 \cdot 10^{-3}$ $\Delta \bar{x} = 1,03 \cdot 10^{-2}$ $\Delta x = 4,22 \cdot 10^{-3}$ $\bar{\varepsilon} = 0,840$

1	2	3	4
Порошок у пакетиках «Медихронал-Дарниця»: гліцину 7,0 г (6,6-7,3 г)	0,90 1,00 1,10 1,20 1,30 1,40	7,02 6,99 7,00 7,00 7,03 6,99	$\bar{X}=7,00$ $S=1,64 \cdot 10^{-2}$ $S_x=6,69 \cdot 10^{-3}$ $\Delta \bar{x}=4,21 \cdot 10^{-2}$ $\Delta x=1,72 \cdot 10^{-2}$ $\bar{\varepsilon}=0,245$
Розчин для ін'єкцій «Гентаміцину сульфат» (ПАТ Дарниця): гентаміцину сульфату 40 мг/мл (0,0360-0,0440 г)	0,80 0,90 1,00 1,10 1,20 1,30	0,0410 0,0400 0,0400 0,0390 0,0390 0,0400	$\bar{X}=0,0396$ $S=7,53 \cdot 10^{-4}$ $S_x=3,07 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x}=1,92 \cdot 10^{-3}$ $\Delta x=7,90 \cdot 10^{-4}$ $\bar{\varepsilon}=1,98$
Розчин для ін'єкцій «Гентаміцину сульфат» (Корпорація ARTERIUM): гентаміцину сульфату 40 мг/мл (0,0360-0,0440 г)	0,80 0,90 1,00 1,10 1,20 1,30	0,0410 0,0400 0,0400 0,0390 0,0400 0,0400	$\bar{X}=0,0400$ $S=6,32 \cdot 10^{-4}$ $S_x=2,57 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x}=1,62 \cdot 10^{-3}$ $\Delta x=6,63 \cdot 10^{-4}$ $\bar{\varepsilon}=1,65$
Краплі очні «Декса-гентаміцин»: гентаміцину сульфату 5,0 мг/мл	1,20 1,30 1,40 1,50 1,60 1,70	0,00513 0,00510 0,00513 0,00510 0,00511 0,00510	$\bar{X}=0,00511$ $S=1,47 \cdot 10^{-5}$ $S_x=6,00 \cdot 10^{-5}$ $\Delta \bar{x}=3,77 \cdot 10^{-4}$ $\Delta x=1,54 \cdot 10^{-4}$ $\bar{\varepsilon}=0,301$
Мазь «Кремген»: гентаміцину сульфату 0,1 г/1,0 г	1,40 1,60 1,80 2,00 2,20 2,40	0,00100 0,000999 0,000999 0,00100 0,00101 0,00100	$\bar{X}=0,00100$ $S=4,27 \cdot 10^{-6}$ $S_x=1,74 \cdot 10^{-6}$ $\Delta \bar{x}=1,09 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x=4,48 \cdot 10^{-6}$ $\bar{\varepsilon}=0,448$
Таблетки «Гліцин»: гліцину 0,10 г (0,0900-0,110 г)	0,0321 0,0365 0,0386 0,0408 0,0451 0,0494	0,100 0,101 0,100 0,100 0,101 0,0999	$\bar{X}=0,100$ $S=5,31 \cdot 10^{-4}$ $S_x=2,16 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x}=1,36 \cdot 10^{-3}$ $\Delta x=5,57 \cdot 10^{-4}$ $\bar{\varepsilon}=0,557$
Таблетки «Гліцисед»: гліцину 0,10 г (0,0900-0,110 г)	0,0326 0,0372 0,0400 0,0418 0,0462 0,0507	0,0999 0,0999 0,101 0,101 0,101 0,100	$\bar{X}=0,100$ $S=5,85 \cdot 10^{-4}$ $S_x=2,38 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x}=1,50 \cdot 10^{-3}$ $\Delta x=6,13 \cdot 10^{-4}$ $\bar{\varepsilon}=0,613$



Аналіз даних табл. 4.4 та 4.8 показує, що результати кількісного визначення обраних лікарських речовин в 25 готових лікарських формах є достатньо точними та вірогідними.

Результати досліджень за даним розділом наведені в роботах [126–131, 139–153].

## ВИСНОВКИ

1. Визначено величини питомих показників поглинання і знайдено межі концентрацій, в яких спостерігається підпорядкованість основному закону світлопоглинання для 9 лікарських речовин, що містять первинну аліфатичну аміногрупу на основі реакцій з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти і 2,3-дихлор-1,4-нафтохіноном.

2. Запропоновано загальну методику кількісного визначення досліджуваних лікарських речовин з використанням натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти і 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону. Вперше для кількісного визначення аміноглікозидних антибіотиків, глюкозаміну та деяких аліфатичних амінокислот в якості реагентів були застосовані похідні нафтохінону, а саме, натрієва сіль 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти та 2,3-дихлор-1,4-нафтохінон.

3. Розроблено методики кількісного визначення 9 досліджуваних речовин у складі 25 сучасних лікарських препаратів промислового виробництва. Методики є простими у виконанні, експресними та не потребують особливих умов.

## РОЗДІЛ 5

### ВАЛІДАЦІЯ МЕТОДИК КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН, ЩО МІСТЯТЬ ПЕРВИННУ АЛІФАТИЧНУ АМІНОГРУПУ

Основною умовою гарантування якості та надійності результатів, одержаних за розробленими методиками, є валідація. Згідно ДФУ, лише валідовані методики є коректними та придатними щодо виконання запланованих завдань. Виходячи з цього, запропоновані методики кількісного визначення лікарських речовин, що містять первинну аліфатичну аміногрупу, в подальшому були перевірені за основними валідаційними характеристиками, зокрема, специфічністю, лінійністю, діапазоном застосування, правильністю, точністю та робасністю [107–108].

#### 5.1 Специфічність

Специфічність встановлювали на початку розробки методик, з урахуванням властивостей досліджуваної сполуки та матриці (зразка). Методика кількісного визначення є специфічною, якщо дозволяє точно і правильно встановлювати вміст аналізованої речовини за присутності інших компонентів (домішки, допоміжні речовини, продукти розкладу) [155–164]. Якщо випробування недостатньо специфічне відносно певних речовин, ДФУ рекомендує коректувати (або враховувати) їх вплив іншими методами. Також для підвищення специфічності методики може бути застосовано відповідний спосіб пробопідготовки, такий як осадження, екстракція, а також, наприклад, окремий підхід до обробки отриманих результатів – одержання похідних.

Існує два основних підходи щодо визначення специфічності: прямий та непрямий [108]. Прямий підхід демонструє відсутність (або припустимість) впливу інших речовин. В непрямому підході висновок про специфічність роблять, якщо представлені припустимі результати визначення правильності.

Інша можливість полягає у порівнянні результатів визначень з арбітражною методикою (фармакопейною або іншою валідованою методикою).

При використанні прямого підходу проводили випробування з розчином «плацебо» і розраховували його відсотковий вклад до величини оптичної густини зразку препарату відповідної концентрації. Звичайно, частка сумарного поглинання в оптичному поглинанні зразка за аналітичної довжини хвилі не має перевищувати десятої частини допусків вмісту аналізованого компонента. Як приклад, на рис. 5.1 наведено спектри поглинання, зареєстровані при взаємодії натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфокислоти з розчинами «плацебо» для розчинів глюкозаміну в лікарських препаратах «Дона», (спектр 1, 2) та відповідними розчинами зразків, що аналізувались (спектри 3, 4).

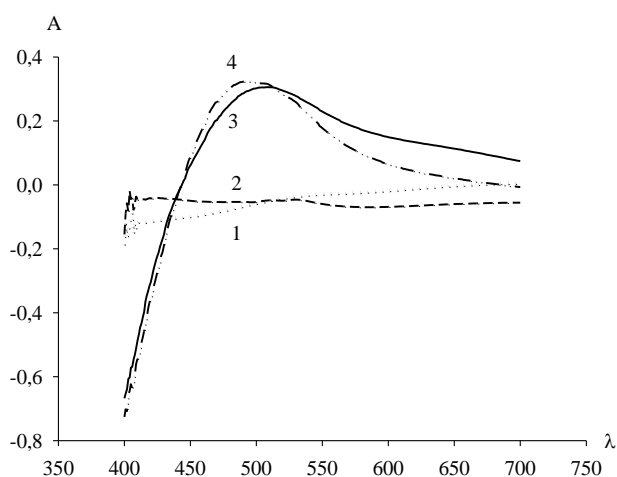


Рис. 5.1. Визначення специфічності методики кількісного аналізу глюкозаміну у препаратах «Дона»: 1, 3 – спектри розчинів «плацебо» та препарату порошку у пакетиках «Дона», 2, 4 – спектри розчинів «плацебо» та препарату розчину для ін'єкцій «Дона»

Як видно з рис. 5.1, допоміжні речовини в даному випадку не поглинають в області спектра, в якій спостерігаються максимуми поглинання діючої речовини, та їх внесок у величину оптичної густини зразків складає менше 1%.

Числові розрахунки впливу допоміжних речовин в інших лікарських препаратах наведено в табл. 5.1 [107–108].

Таблиця 5.1

**Дослідження впливу «плацебо» на результати визначень**

Лікарський засіб	Склад «плацебо»	Вплив «плацебо»
1	2	3
Капсули «Аміналон-КВ»: γ-аміномасляної кислоти 0,25 г	Метилцелюлоза, кальцію стеарат	0%
Порошок у пакетиках: глюкозаміну 1,5 г/4,0 г	Сорбітол, натрію хлорид, кислота лимонна безводна, макрогол 4000, аспартам	0,0860%
Порошок у пакетиках «Медихронал-Дарниця»: гліцину 7,0 г	Натрію форміат, повідон	0,0950%
Розчин для ін'єкцій «Дона»: глюкозаміну 0,40 г/2 мл	Натрію хлорид, лідокаїну гідрохлорид, вода для ін'єкцій	0,0550%
Розчин для ін'єкцій «Лорікацин»: амікацину сульфату 0,25 г/мл	Натрію цитрат, натрію метабісульфіт (Е 223), кислота сірчана 30 %, вода для ін'єкцій	0,512%
Розчин для ін'єкцій «Гентаміцину сульфат» гентаміцину сульфату 40 мг/мл	Натрію метабісульфіт (Е 223), динатрію едетат, вода для ін'єкцій	0,450%

1	2	3
Краплі очні «Тауфон» 4% таурину 40 мг/мл	Метилпарагідроксибензоат (Е 218), вода для ін'єкцій	0,520%
Таблетки «Аб'юфен»: β-аланіну 0,40 г	Магнію стеарат, гліцерину пальмітостеарат, кремнію диоксид колоїдний водний, крохмаль пшеничний	0,230%
Таблетки «Кратал»: таурину 0,87 г	Густий екстракт плодів глоду, густий екстракт собачої кропиви, целюлоза мікрокристалічна, магнію стеарат, кремнію диоксид, спирт полівініловий, макрогол, тальк, титану диоксид, заліза оксид (Е 172)	0,502%
Таблетки «Аміналон»: γ-аміномасляної кислоти 0,25 г	Цукор, борошно пшеничне, магнію карбонат легкий, повідон, желатин, титану диоксид, тальк, віск жовтий	0,986%
Таблетки «Гліцин»: гліцину 0,10 г	Метилцелюлоза водорозчинна, магнію стеарат	0%
Таблетки «Гліцисед»: гліцину 0,10 г	Віск монтановий гліколевий, повідон, кальцію стеарат	0%

Лікарські форми глюкозаміну – таблетки «Терафлекс» та «Хондромакс гербал»; гентаміцину – очні краплі «Декса-гентаміцин» та мазь «Кремген»; таурину – супозиторії «Генферон», а також «Доппельгерц актив Гліцин+В-Вітаміни» таблетки гліцину відрізнялися складністю составу, тому приготувати для них модельні суміші та «плацебо» не вдалося можливим. У разі цього був використаний непрямий підхід визначення специфічності. Висновок щодо достатньої специфічності запропонованих методик робили

після визначення правильності методик (розділ 5.3), застосовуючи метод добавок.

Розроблені спектрофотометричні методики кількісного визначення лікарських речовин у складі лікарських форм не дозволяють одночасно визначати можливі домішки, тому досліджувані лікарські препарати мають проходити додаткові випробування на їх наявність. В роботі використовувались лікарські засоби, вільні від неприпустимих кількостей домішок, про що свідчили сертифікати якості виробників.

## 5.2 Лінійність

Згідно ДФУ, лінійність – це здатність методики давати величини, прямо пропорційні концентрації (кількості) аналізованої речовини в зразку [108]. Валідація лінійності аналітичної методики передбачає виявлення неприпустимих відхилень від лінійної залежності шляхом виконання регресійного аналізу [155-164]. Лінійну залежність досліджували у межах діапазону методик для розрахунку критичних значень параметрів лінійності (80–120 % від номінального вмісту) [108]. Розчини з відомою концентрацією (не менше п'яти), отриманих шляхом розведення стандартного розчину (табл. 4.2, 4.6), аналізували за вищезазначеними методиками. За одержаними даними будували графіки залежності оптичної густини ( $A$ ) від концентрації лікарської речовини ( $C$ , мг/100 мл). Згідно рис. 5.2–5.10, отримані залежності мають виключно лінійний вигляд. Для кожної залежності методом найменших квадратів розраховували рівняння лінійної регресії, що мали загальний вигляд:  $y = a + b \cdot x$ , де  $y$  – вимірювана величина (оптична густина),  $x$  – концентрація досліджуваної лікарської речовини,  $a$  – вільний член лінійної регресії, або точка перетину з віссю ординат,  $b$  – кутовий коефіцієнт, або коефіцієнт регресії.

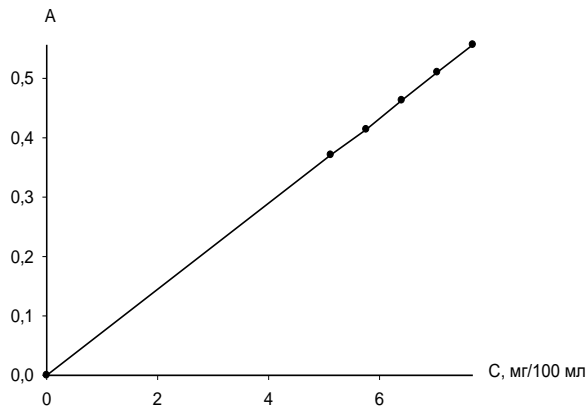


Рис. 5.2. Графік залежності оптичної густини від концентрації амікацину сульфату за реакцією з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти

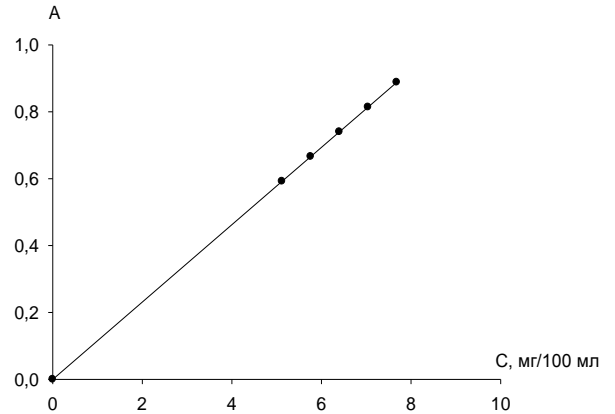


Рис. 5.3. Графік залежності оптичної густини від концентрації гентаміцину сульфату за реакцією з 2,3-дихлор-1,4-нафтохіноном

Кількісну оцінку відтворюваності результатів визначень лінійної моделі проводять за числовими показниками лінійної залежності. Такими показниками є коефіцієнт кореляції  $r$ , залишкова сума квадратів відхилень  $s_y$ , вільний член лінійної регресії  $a$ , кутовий коефіцієнт  $b$ .

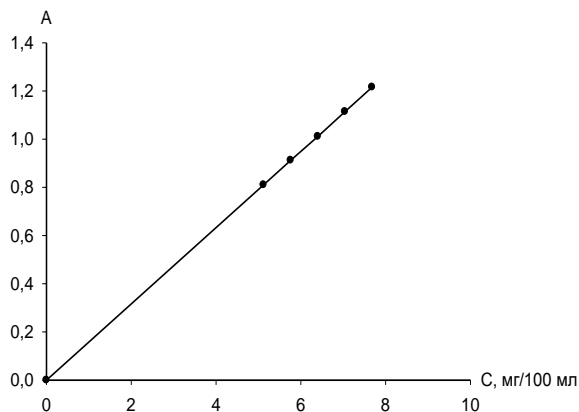


Рис. 5.4. Графік залежності оптичної густини від концентрації гліцину за реакцією з 2,3-дихлор-1,4-нафтохіноном

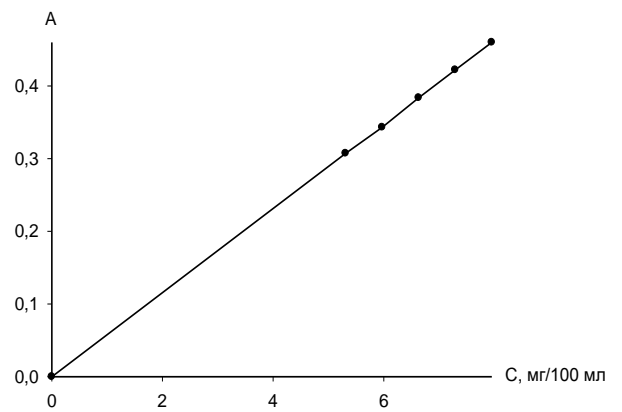


Рис. 5.5. Графік залежності оптичної густини від концентрації глюкозаміну гідрохлориду за реакцією з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти

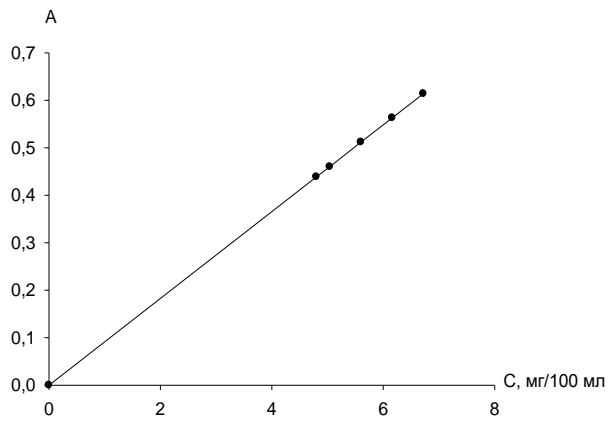


Рис. 5.6. Графік залежності оптичної густини від концентрації канаміцину моносульфату за реакцією з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти

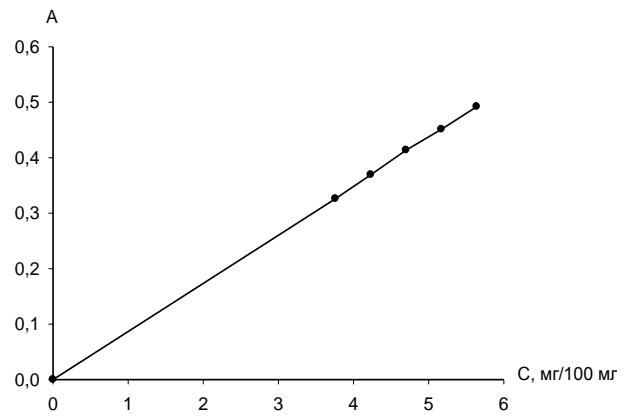


Рис. 5.7. Графік залежності оптичної густини від концентрації стрептоміцину сульфату за реакцією з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти

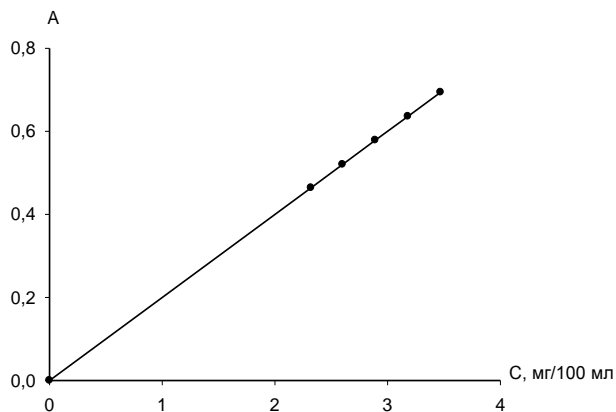


Рис. 5.8. Графік залежності оптичної густини від концентрації таурину за реакцією з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти

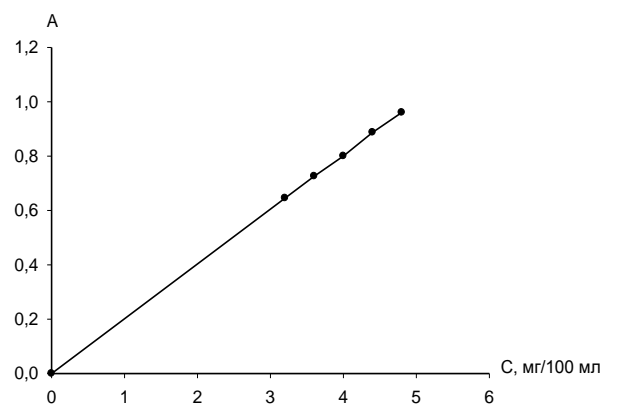


Рис. 5.9. Графік залежності оптичної густини від концентрації γ-аміномасляної кислоти за реакцією з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти

Кутовий коефіцієнт  $b$  характеризує собою коефіцієнт чутливості регресії  $\varepsilon$  ( $\text{моль}^{-1} \cdot \text{л} \cdot \text{см}^{-1}$ ) та, відповідно, і метода, що валідується.



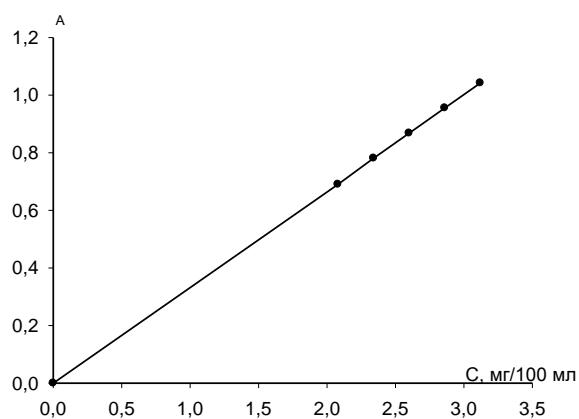


Рис. 5.10. Графік залежності оптичної густини від концентрації β-аланіну за реакцією з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти

Щодо коефіцієнту кореляції ( $r$ ), то він не є єдиним критерієм для доказу лінійності, тому що його величина залежить від кількості визначень, діапазону концентрацій та від кутового коефіцієнту. Чим ближче абсолютна величина  $|r|$  до одиниці, тим менш випадково спостережуваною є лінійна залежність. Тому, коефіцієнт кореляції дозволяє оцінювати жорсткість лінійного зв'язку між величинами  $x$  та  $y$ . В літературі, для аналітичних цілей використовують лінійну залежність з коефіцієнтом кореляції  $\geq 0,997$  [126]. При одержанні критеріїв для коефіцієнта кореляції ДФУ пропонує використовувати загальний індекс кореляції  $R_c$ , окремим випадком якого і є коефіцієнт кореляції  $r$  [108].

Залишкове стандартне відхилення ( $s_y$ ), що має розмірність сигналу та залишкове стандартне відхилення по осі абсцис ( $s_{x,0}$ ), що має таку ж розмірність, що і вміст речовини характеризують статистичну якість отриманої лінійної моделі.  $s_{x,0}(\%)$  має бути порівняне з RSD одержаним при визначенні точності методики на рівні збіжності результатів. Згідно ДФУ,  $s_{x,0}(\%)$  не повинно перевищувати  $\Delta_{As}(\%)/t(95;n-2)$  [107–108].

Основною умовою застосування методу стандарту є відсутність систематичної похибки, про що свідчить критерій статистичної незначущості. В цьому випадку калібрувальна пряма повинна проходити

через нульову точку в системі координат, а значення вільного члену  $a$  повинне не перевищувати свій довірчий інтервал ( $|a| \leq \Delta a$ ). Якщо спостерігається невиконання даного критерію, ДФУ пропонує перевіряти критерій практичної незначущості для вільного члена лінійної регресії.

Згідно вимог ДФУ було розраховано усі вищезазначені показники лінійної залежності. Отримані значення свідчать про те, що виконуються всі вимоги щодо параметрів лінійної залежності абсорбції від концентрації лікарської речовини, тобто лінійність методик підтверджується у обраних діапазонах концентрацій (табл. 5.2).

Таблиця 5.2

### Числові показники лінійної залежності

Величина	Значення	Критерії	Висновок
1	2	3	4
<b>Амікацину сульфат</b>			
$b \pm (s_b)$	0,0726±(0,0003)	–	–
$a \pm (s_a)$	0,0012±(0,0006)	$ a  \leq \Delta a = t(95\%;3) \cdot s_a = 0,0014$	відповідає
$s_{x,0}(\%)$	0,180	$\leq \Delta_{A_s}(\%) / t(95\%;3) = 1,360$	« »
$r$	1,000	$\geq 0,9962$	« »
<b>Гентаміцину сульфат</b>			
$b \pm (s_b)$	0,1156±(0,0005)	–	–
$a \pm (s_a)$	0,0004±(0,0005)	$ a  \leq \Delta a = t(95\%;3) \cdot s_a = 0,0011$	відповідає
$s_{x,0}(\%)$	0,0270	$\leq \Delta_{A_s}(\%) / t(95\%;3) = 1,360$	« »
$r$	1,000	$\geq 0,9985$	« »
<b>Гліцин</b>			
$b \pm (s_b)$	0,1583±(0,0006)		
$a \pm (s_a)$	0,0004±(0,0039)	$ a  \leq \Delta a = t(95\%;3) \cdot s_a = 0,0009$	відповідає
$s_{x,0}(\%)$	0,118	$\leq \Delta_{A_s}(\%) / t(95\%;3) = 1,360$	« »
$r$	1,000	$\geq 0,9560$	« »

1	2	3	4
Глюкозаміну гідрохлорид			
$b \pm (s_b)$	0,0383±(0,0007)	–	–
$a \pm (s_a)$	0,0048±(0,0029)	$ a  \leq \Delta a = t(95\%;3) \cdot s_a = 0,0068$	відповідає
$s_{x,0}(\%)$	0,775	$\leq \Delta_{A_s}(\%) / t(95\%;3) = 1,360$	« »
$r$	0,9994	$\geq 0,9976$	« »
Канаміцину моносульфат			
$b \pm (s_b)$	0,0914±(0,0002)	–	–
$a \pm (s_a)$	-0,0004±(0,0013)	$ a  \leq \Delta a = t(95\%;3) \cdot s_a = 0,0030$	відповідає
$s_{x,0}(\%)$	0,0781	$\leq \Delta_{A_s}(\%) / t(95\%;3) = 1,360$	« »
$r$	0,9999	$\geq 0,9963$	« »
Стрептоміцину сульфат			
$b \pm (s_b)$	0,0880±(0,0013)	–	–
$a \pm (s_a)$	0,0070±(0,0034)	$ a  \leq \Delta a = t(95\%;3) \cdot s_a = 0,0080$	відповідає
$s_{x,0}(\%)$	0,531	$\leq \Delta_{A_s}(\%) / t(95\%;3) = 1,360$	« »
$r$	0,9996	$\geq 0,9560$	« »
Таурин			
$b \pm (s_b)$	0,1999±(0,0003)	–	–
$a \pm (s_a)$	0,0003±(0,0008)	$ a  \leq \Delta a = t(95\%;4) \cdot s_a = 0,0018$	відповідає
$s_{x,0}(\%)$	0,0519	$\leq \Delta_{A_s}(\%) / t(95\%;3) = 1,360$	« »
$r$	1,000	$\geq 0,9555$	« »
γ-Аміномасляна кислота			
$b \pm (s_b)$	0,1978±(0,0028)	–	–
$a \pm (s_a)$	0,0124±(0,0111)	$ a  \leq \Delta a = t(95\%;3) \cdot s_a = 0,0261$	відповідає
$s_{x,0}(\%)$	0,4420	$\leq \Delta_{A_s}(\%) / t(95\%;3) = 1,360$	« »
$r$	0,9997	$\geq 0,9924$	« »
β-Аланін			
$b \pm (s_b)$	0,3377±(0,0018)	–	–
$a \pm (s_a)$	-0,0109±(0,0048)	$ a  \leq \Delta a = t(95\%;4) \cdot s_a = 0,0112$	відповідає
$s_{x,0}(\%)$	0,1700	$\leq \Delta_{A_s}(\%) / t(95\%;3) = 1,360$	« »
$r$	1,000	$\geq 0,9560$	« »

### 5.3 Прецизійність

Прецизійність методики визначається близькістю (або розкидом) результатів для серії вимірів, виконаних за даною методикою на різних пробах одного і того самого однорідного зрізка, та обумовлюється наявністю випадкових похибок [159]. Згідно ДФУ, прецизійність методики

розглядається на трьох рівнях: внутрішньолабораторна прецизійність, збіжність та відтворюваність. Внутрішньолабораторна прецизійність характеризує вплив різноманітних варіацій в межах лабораторії (різні дні, різні аналітики, різне обладнання). При виконанні методики в одних і тих самих умовах, зокрема одним і тим самим аналітиком або групою аналітиків, протягом невеликого проміжку часу, прецизійність характеризує збіжність. Відтворюваність характеризує прецизійність методики у міжлабораторному експерименті. Дана валідаційна характеристика повинна вивчатися на вірогідно однорідних (істинних) зразках, якими в випадку кількісного визначення лікарських речовин є готові лікарські засоби.

Прецизійність розроблених методик визначали на рівні збіжності. Для цього проводили 9 паралельних визначень (з трьох наважок готували три розчини, з кожним з яких проводили три паралельних виміри в оптимальних умовах при зазначеній аналітичній довжині хвилі). Паралельно встановлювали оптичну густину розчинів порівняння, концентрація яких наведена в табл. 4.2 та 4.6. Вміст досліджуваних речовин у грамах розраховували за типовими формулами 4.2, 4.3.

Метрологічні характеристики збіжності розроблених методик наведені в табл. 5.3. Були розраховані стандартне відхилення ( $S$ ) та відносне стандартне відхилення у відсотках ( $RSD$ ), що характеризують ступінь розкиду результатів відносно середнього значення ( $\bar{X}$ ). Також обчислювали відносний довірчий інтервал одиничного ( $\Delta_{x,r}$ ) та середнього ( $\Delta_{x,r}^-$ ) значення, для оцінки ступеню невизначеності щодо справжнього значення  $\mu$  величини, що визначається. Однобічний довірчий інтервал одиничного значення ( $\Delta_{x,r}$ ), згідно ДФУ, не має бути більшим за максимальну припустиму невизначеність аналізу ( $\Delta_{As}\%$ ), що складає третю частину відносного допуску вмісту ( $B\%$ ) аналізованої речовини готового лікарського засобу:  $\Delta_{As}\% = 0,32 \cdot B$ .

Відповідно до вимог ДФУ, однобічний довірчий інтервал середнього значення ( $\Delta_{x,r}^-$ ) має становити близько 1%.

Таблиця 5.3

**Визначення збіжності результатів кількісного визначення  
досліджуваних лікарських речовин в лікарських засобах  
(n=9, p=0,95)**

Лікарський препарат	Метрологічні характеристики					
	$\bar{X}$	$S$	$RSD$	$\Delta_{x,r}$	$\Delta_{x,r}^-$	$\Delta_{As} \%$
1	2	3	4	5	6	7
«Аміцил»: амікацину сульфату 0,50 г	0,501	$3,95 \cdot 10^{-3}$	0,788	1,46	0,489	3,20
«Аміцил»: амікацину сульфату 1,0 г	0,998	$1,06 \cdot 10^{-2}$	1,06	1,98	0,658	3,20
«Стрептоміцин»: стрептоміцину сульфату 1,0 г	1,03	$1,09 \cdot 10^{-3}$	1,06	1,97	0,658	3,20
«Канаміцин»: канаміцину моносульфату 1,0 г	1,04	$3,94 \cdot 10^{-3}$	0,378	0,705	0,234	3,20
«Терафлекс»: глюкозаміну 0,50 г	0,499	$6,97 \cdot 10^{-3}$	1,39	2,59	0,866	3,20
«Аміналон-КВ»: γ-аміномасляної кислоти 0,25 г	0,249	$1,20 \cdot 10^{-3}$	0,483	0,898	0,299	3,20
Порошок у пакетиках «Дона»: глюкозаміну 1,5 г/4,0 г	1,50	$7,25 \cdot 10^{-3}$	0,483	0,903	0,301	1,60
«Артифлекс»: глюкозаміну 1,5 г/4,0 г	1,49	$9,39 \cdot 10^{-3}$	0,627	1,167	0,389	1,60

1	2	3	4	5	6	7
Розчин для ін'єкцій «Дона»: глюкозаміну 0,40 г/2 мл	0,398	$2,66 \cdot 10^{-3}$	0,672	1,24	0,416	1,60
«Лорікацин»: амікацину сульфату 0,50 г/2 мл	0,505	$8,32 \cdot 10^{-3}$	1,64	3,06	1,02	1,60
«Тауфон» 4 % (Фармак): таурину 40 мг/мл	0,0399	$2,88 \cdot 10^{-4}$	0,722	1,34	0,440	1,60
«Тауфон» 4 % (ДЗ «ГНЦЛС»): таурину 40 мг/мл	0,0405	$6,57 \cdot 10^{-4}$	1,62	3,01	1,00	1,60
«Генферон»: таурину 10 мг	0,00101	$9,28 \cdot 10^{-6}$	0,918	1,70	0,569	3,20
«Аб'юфен»: β-аланіну 0,40 г	0,402	$3,24 \cdot 10^{-3}$	0,806	1,49	0,499	3,20
«Кратал»: таурину 0,87 г	0,867	$4,72 \cdot 10^{-3}$	0,544	1,01	0,330	1,60
«Хондромакс»: глюкозаміну 0,50 г	0,496	$2,59 \cdot 10^{-3}$	0,522	0,971	0,324	3,20
«Аміналон»: γ-аміномасляної кислоти 0,25 г	0,250	$2,82 \cdot 10^{-3}$	1,12	2,09	0,699	3,20
«Доппельгерц актив»: гліцину 0,50 г	0,503	$4,60 \cdot 10^{-3}$	0,914	1,70	0,567	3,20
«Медихронал-Дарниця»: гліцину 7,0 г	7,01	$3,37 \cdot 10^{-2}$	0,481	0,895	0,298	1,60
«Гентаміцину сульфат» (ПАТ Дарниця): гентаміцину сульфату 40 мг/мл	0,0401	$2,61 \cdot 10^{-4}$	0,650	1,21	0,404	1,60
«Гентаміцину сульфат» (Корпорація ARTERIUM): гентаміцину сульфату 40 мг/мл	0,0401	$3,01 \cdot 10^{-4}$	0,770	1,43	0,477	1,60

1	2	3	4	5	6	7
«Декса-гентаміцин»: гентаміцину сульфату 5,0 мг/мл	0,00500	$9,60 \cdot 10^{-4}$	0,958	1,78	0,736	1,60
«Кремген»: гентаміцину сульфату 0,1 г/1,0 г	0,100	$1,08 \cdot 10^{-3}$	0,711	1,32	0,547	3,20
«Гліцин»: гліцину 0,10 г	0,100	$1,68 \cdot 10^{-3}$	1,68	3,12	1,04	3,20
«Гліцисед»: гліцину 0,10 г	0,100	$1,22 \cdot 10^{-3}$	1,22	2,28	0,759	3,20

#### 5.4 Правильність

Згідно вимог до ДФУ, таку валідаційну характеристику як правильність розроблених методик кількісного визначення лікарських речовин у складі лікарських препаратів встановлювали методом модельних сумішей та методом добавок.

Аналізували модельні суміші допоміжних речовин, до яких було додано відомі кількості досліджуваного активного компоненту. Кількості допоміжних речовин залишали незмінними, а досліджувані активні інгредієнти вносили у кількостях близько 80, 100 та 120 % від номінального вмісту, охоплюючи весь діапазон застосування методики. Визначення з кожною з модельних сумішей повторювали тричі – таким чином, усього 9 визначень для кожної лікарської форми.

Результати визначення правильності методик шляхом приготування модельних сумішей наведені в табл. 5.4.

Таблиця 5.4

## Результати визначення правильності методом модельних сумішей

Модельні суміші	$\bar{Z}$	<i>RSD</i>	$\Delta_{\bar{Z}}$	$ \bar{Z} - 100 $	$0,32 \cdot \Delta_{As}$
Порошок у пакетиках «Дона»: глюкозаміну 1,5 г/4,0 г	100,3	1,11	1,01	0,3	1,024
Розчин для ін'єкцій «Дона»: глюкозаміну 0,40 г/2мл	99,86	1,42	1,09	0,14	1,024
«Кратал»: таурину 0,87 г	100,1	0,688	0,427	0,1	1,024

Загальною метою методу добавок при визначенні правильності методик є виявлення можливих систематичних похибок, які виникають в результаті впливу на результати визначень допоміжних речовин, що входять до складу лікарського засобу [155–164].

В ході експерименту до трьох рівних проб відповідної лікарської форми додавали різні кількості відповідного робочого стандартного розчину та аналізували тричі (9 визначень для кожного засобу).

Результати визначення правильності методик методом добавок наведені в табл. 5.5.

Таблиця 5.5

## Результати визначення правильності методом добавок

Лікарський препарат	Взято, мг/100 мл	Добавка, мг/100 мл	$Z^*$	$\bar{Z} \pm \Delta_{\bar{Z}}$	$ \bar{Z} - 100 $
1	2	3	4	5	6
«Аміцил»: амікацину сульфату 0,50 г	2,40	0,256	99,60	99,88±0,519	0,12
	2,40	0,384	99,93		
	2,40	0,512	100,1		



1	2	3	4	5	6
«Аміцил»: амікацину сульфату 1,0 г	2,40 2,40 2,40	0,256 0,384 0,512	100,0 99,89 100,0	99,96±0,039	0,04
«Стрептоміцин»: стрептоміцину сульфату 1,0 г	2,00 2,00 2,00	0,200 0,300 0,400	99,56 98,63 100,0	99,20±1,07	0,80
«Канаміцин»: канаміцину моноссульфату 1,0 г	4,00 4,00 4,00	0,560 1,68 2,80	99,65 99,96 100,0	99,87±0,131	0,13
«Терафлекс»: глюкозаміну 0,50 г	4,80 4,80 4,80	0,640 1,28 2,56	99,96 100,5 99,33	99,93±0,395	0,07
«Аміналон-КВ»: γ-аміномасляної кислоти 0,25 г	2,80 2,80 2,80	0,280 0,840 1,40	99,72 100,4 99,77	99,96±0,235	0,04
«Аміналон»: γ-аміномасляної кислоти 0,25 г	2,80 2,80 2,80	0,280 0,840 1,40	99,66 99,70 99,97	99,78±0,305	0,22
Порошок у пакетиках «Дона»: глюкозаміну 1,5 г/4,0 г	4,80 4,80 4,80	0,640 1,28 2,56	100,4 100,3 100,2	100,3±0,688	0,3
«Артифлекс»: глюкозаміну 1,5 г/4,0 г	4,80 4,80 4,80	0,640 1,28 2,56	101,0 98,72 101,1	100,3±0,884	0,3
Розчин для ін'єкцій «Дона»: глюкозаміну 0,40 г/2мл	4,80 4,80 4,80	0,640 1,28 2,56	99,90 99,90 99,78	99,86±0,880	0,14
«Лорікацин»: амікацину сульфату 0,50 г/2 мл	2,40 2,40 2,40	0,256 0,384 0,512	100,0 99,66 97,19	98,94±1,06	1,06

1	2	3	4	5	6
«Тауфон» 4 % (Фармак): таурину 40 мг/мл	1,80 1,80 1,80	0,580 1,16 1,74	100,0 99,86 99,48	99,78±0,305	0,22
«Тауфон» 4 % (ДЗ «ГНЦЛС»): таурину 40 мг/мл	1,80 1,80 1,80	0,580 1,16 1,74	100,1 100,0 100,1	100,1±0,178	0,1
«Генферон»: таурину 10 мг	1,80 1,80 1,80	0,580 1,16 1,74	99,46 100,0 100,0	99,82±0,190	0,18
«Аб'юфен»: β-аланіну 0,40 г	1,60 1,60 1,60	0,0520 0,104 0,156	100,0 100,1 100,0	100,8±0,375	0,8
«Кратал»: таурину 0,87 г	1,80 1,80 1,80	0,580 1,16 1,74	100,0 100,1 100,0	100,0±0,427	0,05
«Хондромакс»: глюкозаміну 0,50 г	4,80 4,80 4,80	0,640 1,28 2,56	99,66 100,0 99,83	99,83±0,639	0,17
«Доппельгерц актив»: гліцину 0,50 г	5,00 5,00 5,00	0,650 1,30 2,60	99,5 100,0 99,33	99,61±0,560	0,39
«Медихронал- Дарниця»: гліцину 7,0 г	5,00 5,00 5,00	0,650 1,30 2,60	100,0 99,40 99,64	99,68±0,972	0,32
«Гентаміцину сульфат» (ПАТ Дарниця): гентаміцину сульфату 40 мг/мл	4,00 4,00 4,00	1,20 1,80 2,40	99,90 99,78 99,90	99,86±0,880	0,14
«Гентаміцину сульфат» (Корпорація ARTERIUM): гентаміцину сульфату 40 мг/мл	4,00 4,00 4,00	1,20 1,80 2,40	99,66 100,0 97,19	98,94±1,06	1,06
«Декса-гентаміцин»: гентаміцину сульфату 5,0 мг/мл	4,00 4,00 4,00	1,20 1,80 2,40	100,0 99,85 99,48	99,78±0,305	0,22

1	2	3	4	5	6
«Кремген»: гентаміцину сульфату 0,1 г/1,0 г	4,00	1,20	100,3	100,3±0,917	0,3
	4,00	1,80	100,1		
	4,00	2,40	100,3		
«Гліцин»: гліцину 0,10 г	5,00	0,650	100,5	99,78±0,223	0,22
	5,00	1,30	99,80		
	5,00	2,60	99,04		
«Гліцисед»: гліцину 0,10 г	5,00	0,650	101,0	100,8±1,06	0,8
	5,00	1,30	100,8		
	5,00	2,60	100,6		

Примітка. \* Середнє для трьох визначень

Правильність представляє собою характеристику близькості середнього результату величини, яка вивчається до постульованого істинного значення [107-108], тому експериментально отримані дані щодо вмісту досліджуваних речовин («знайдено») виражали у відсотках ( $Z$ ) від доданої кількості, розраховували середнє значення ( $\bar{Z}$ ) та обчислювали відносно 100% (табл. 5.5).

Щоб визначитися зі статистично значущою або незначущою різницями між відомим справжнім та отриманим значенням проводили  $t$ -тест (враховуючи, що значення дисперсії генеральної сукупності  $\sigma^2$  невідоме, а обсяг вибірки невеликий ( $n=9$ ), тестова статистика орієнтовно має  $t$ -розподіл з  $n-1$  ступенями свободи). В випадку критерію статистичної незначущості ( $|\bar{Z} - 100| \leq \Delta_{\bar{Z}}$ ), відхилення  $\bar{Z}$  від 100% не перевищує свій довірчий інтервал ( $\Delta_{\bar{Z}}$ ), тобто систематична похибка статистично не відрізняється від нуля. Якщо довірчий інтервал не включає теоретичне значення концентрації 100 %, тобто вказана умова не виконується та спостерігається наявність значущої різниці між одержаним та істинним значенням, ДФУ пропонує розраховувати критерій практичної незначущості ( $|\bar{Z} - 100| \leq 0,32 \cdot \Delta_{As}$ ), де

$|\bar{Z}-100|$  оцінюють відносно максимально припустимої невизначеності аналізу ( $\Delta_{As}\%$ ) [108].

### 5.5 Діапазон застосування

Згідно ДФУ, діапазон застосування аналітичної методики – це інтервал між мінімальною і максимальною концентраціями (кількостями) аналізованої речовини у зразку, включаючи ці концентрації, для якого показано, що дана методика має потрібну правильність, прецизійність і лінійність. Для кількісного визначення лікарських форм, мінімально допустимим діапазоном застосування методики є 80–120 % від номінального вмісту [108]. За результатами проведених досліджень була підтверджена лінійність, збіжність та правильність розроблених методик у діапазонах концентрацій, що перевищують мінімально допустимий за вимогами ДФУ.

### 5.6 Робасність

Робасність представляє собою показник надійності методики при її використанні у зазначених умовах та є здатністю аналітичної методики не зазнавати впливу малих контрольованих аналітиком змін в умовах виконання методики [108].

Оцінку робасності проводили на етапі розробки запропонованих методик в ході встановлення оптимальних умов перебігу реакцій та визначення факторів, які здатні впливати на величину абсорбції, а саме: кількості доданих реагентів та розчинників, температури та часу нагрівання, стабільності розчинів у часі (розд. 3.1).

Як приклад, наводимо значення абсорбції аналізованих розчинів таурину, що зазнали незначних коливань в об'ємах доданих реагентів (табл.

5.7), а також залежність оптичної густини від часу нагрівання (рис. 5.11) та стабільність розчинів протягом часу (рис. 5.12).

Таблиця 5.7

**Залежність оптичної густини продукту реакції «таурин – реагент» від зміни кількості доданих реагентів ( $\pm 10-20\%$  від оптимального)**

Змінюваний реагент	V реагенту, мл	% от А оптим.	A
1	2	3	4
натрієва сіль 1,2-нафтохінон-4- сульфо кислоти	0,40	80	0,7131
	0,50	100	0,7131
	0,60	120	0,7133
0,01 М NaOH	0,90	90	0,7022
	1,00	100	0,7024
	1,10	110	0,7024

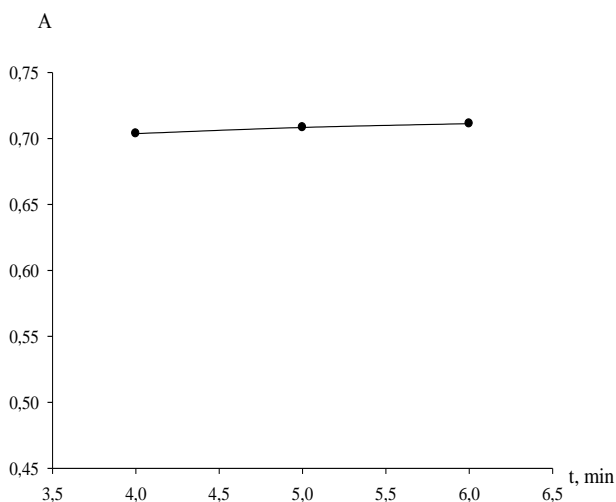


Рис. 5.11. Залежність оптичної густини аналізованих розчинів продукту таурину з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти від часу нагрівання

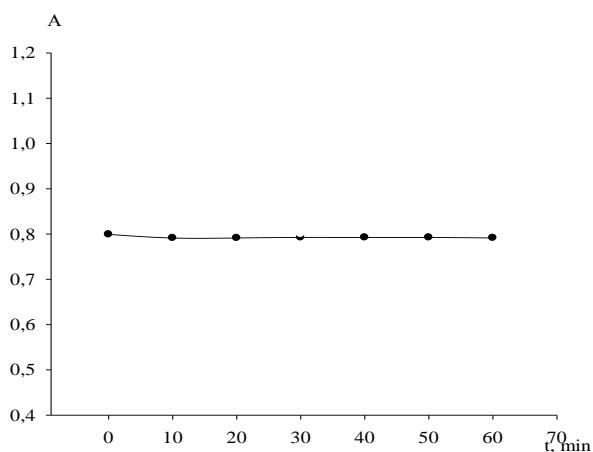


Рис. 5.12. Залежність оптичної густини продукту реакції таурину з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти від часу

На прикладі взаємодії глюкозаміну з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти наводимо залежність значень оптичної густини аналізованих розчинів від коливань кількості доданих реагентів (табл. 5.8), температури (рис. 5.13) та часу нагрівання (рис. 5.14).

Таблиця 5.8

**Залежність оптичної густини продукту реакції «глюкозамін – реагент» від зміни кількості доданих реагентів ( $\pm 10\%$  від оптимального)**

Змінюваний реагент	V реагенту, мл	% от А оптим.	A
натрієва сіль 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти	1,80	90	0,6275
	2,00	100	0,6276
	2,20	110	0,6275
0,01 М NaOH	2,70	90	0,6274
	3,00	100	0,6276
	3,30	110	0,6276

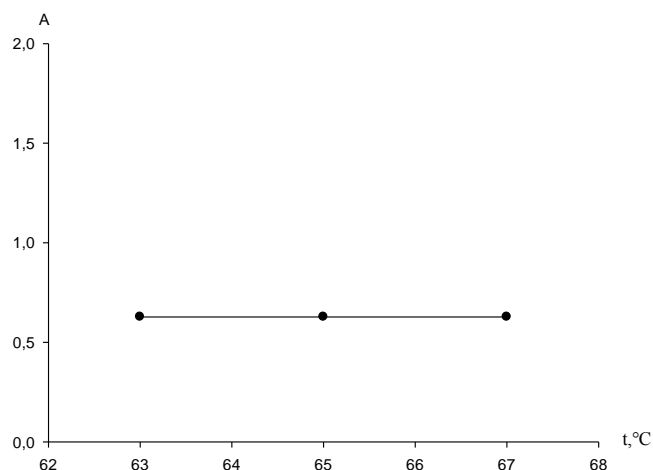


Рис. 5.13. Залежність оптичної густини аналізованих розчинів продукту реакції глюкозаміну з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти від температури нагрівання

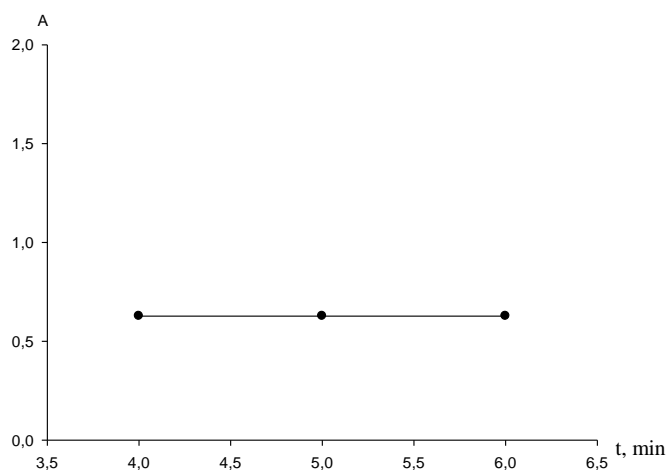


Рис. 5.14. Залежність оптичної густини аналізованих розчинів продукту реакції глюкозаміну з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти від часу нагрівання

Для доведення стабільності продуктів взаємодії лікарських речовин з 2,3-дихлор-1,4-нафтохіноном в часі (рис. 5.15), а також демонстрування несуттєвих відхилень значень абсорбції від оптимальних при коливанні кількості реагенту (табл. 5.9), наводимо приклад «гліцин – 2,3-дихлор-1,4-нафтохінон».

**Залежність оптичної густини продукту реакції «гліцин – реагент» від зміни кількості доданого реагенту ( $\pm 10\%$  від оптимального)**

Змінюваний реагент	V реагенту, мл	% от А оптим.	A
2,3-дихлор-1,4-нафтохінон	2,20	90	1,0168
	2,50	100	1,0168
	2,80	110	1,0167

Було встановлено, що аналізовані розчини стабільні в часі щонайменше 30 хв, коливання кількості доданих реагентів в межах  $\pm 10\%$  (розчинів натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфо кислоти, 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону, NaOH) та незначна зміна часу і температури нагрівання, в порівнянні з наведеними в табл. 3.1, 3.2, не суттєво впливатимуть на величину абсорбції. Отже, запропоновані методики є робастними.

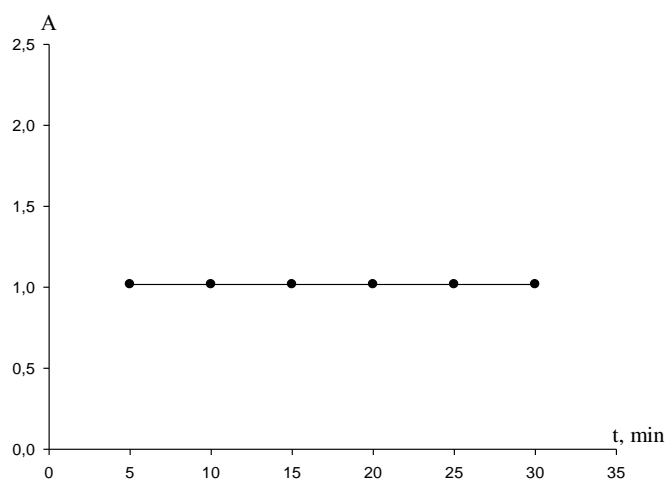


Рис. 5.15. Залежність оптичної густини аналізованого розчину продукту гліцину з 2,3-дихлор-1,4-нафтохіноном від часу



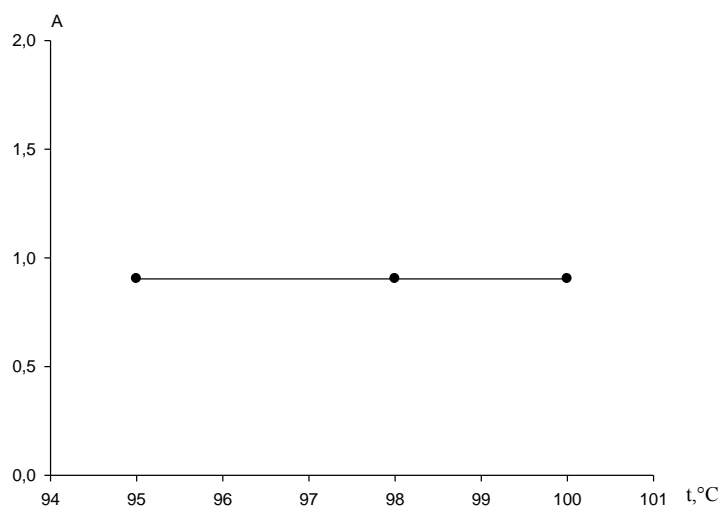


Рис. 5.16. Залежність оптичної густини аналізованих розчинів продукту реакції гліцину з 2,3-дихлор-1,4-нафтохіноном від температури нагрівання

Дослідження за даним розділом наведені в роботах [126–131, 154].

## ВИСНОВКИ

1. Встановлено, що розроблені методики кількісного визначення відзначаються достатньою специфічністю відносно допоміжних речовин та лікарських речовин, які не містять первинної аміногрупи і придатні для кількісного визначення досліджуваних лікарських речовин в складі лікарських препаратів.

2. Доведена лінійність розроблених методик в обраних діапазонах робочих концентрацій на основі обчислених значень показників лінійної залежності, таких як коефіцієнту кореляції ( $r$ ), залишкової суми квадратів відхилень ( $s_y$ ), вільного члену лінійної регресії ( $a$ ) та кутового коефіцієнту ( $b$ ).

3. Методами добавок та модельних сумішей підтверджено правильність методик шляхом обчислення практичної та систематичної незначущості систематичної похибки, величини яких свідчать, що методики є правильними згідно ДФУ.

4. Доведено на рівні збіжності, що розроблені методики є прецизійними, тому що однобічний довірчий інтервал ( $\Delta_x$ ) не перевищує максимально допустиму невизначеність аналізу ( $\Delta_{As} \%$ ).

5. Показано, що такі валідаційні характеристики запропонованих методик як прецизійність, лінійність та правильність встановлені в інтервалах робочих концентрацій, які відповідали мінімально допустимим діапазонам застосування методик для кількісного визначення готових лікарських форм згідно до вимог ДФУ.

## ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

Вперше науково обґрунтована та експериментально доведена можливість застосування в практиці фармацевтичного аналізу натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти та 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону як високочутливих аналітичних кольорореагентів для глюкозаміну, аміноглікозидних антибіотиків та деяких амінокислот, встановлена направленість перебігу реакцій та будова продуктів реакцій, на підставі чого розроблені доступні, чутливі, валідні методики визначення досліджуваних лікарських речовин в промислових лікарських формах.

1. На основі аналізу літературних джерел обґрунтована доцільність розробки нових методик кількісного визначення речовин, що містять первинну аліфатичну аміногрупу, із застосуванням похідних нафтохінону в якості кольорореагентів.

2. Досліджені оптимальні умови фотометричних реакцій натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти та 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону з 9 аналізованими лікарськими речовинами, що містять первинну аліфатичну аміногрупу. Експериментально встановлено, що обрані лікарські речовини реагують з розчинами натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти у середовищі води очищеної за присутності водного розчину NaOH, а з розчином 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону у середовищі вода-ДМФА при нагріванні на водяній бані (60–100°C).

3. За результатами розрахунків аналітичних показників чутливості досліджуваних реакцій встановлено, що межі виявлення становлять 1,51–3,35 мкг/мл для аліфатичних амінокислот та 5,00–8,34 мкг/мл для аміноглікозидних антибіотиків та глюкозаміну.

4. Доведена можливість застосування натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти як проявного реагенту в тонкошаровій хроматографії для обраних лікарських речовин, що містять первинну аліфатичну аміногрупу.

Експериментально встановлені умови детектування для 8 лікарських речовин, в яких межі виявлення становлять 0,0750–0,781 мкг.

5. Визначено коефіцієнти стехіометричних співвідношень «реагент – лікарська речовина», які складають 1:1, виділено та встановлено будову продуктів взаємодії (на прикладі таурин,  $\beta$ -аланін – натрієва сіль 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти та гліцин – 2,3-дихлор-1,4-нафтохінон) та запропоновано хімізми реакцій.

6. Розроблено і валідовано методики кількісного визначення 9 лікарських речовин у складі 25 лікарських препаратів. Методики не потребують особливих умов, є експресними та простими у виконанні.

7. Доведено, що розроблені методики кількісного визначення досліджуваних лікарських речовин за такими характеристиками, як специфічність, лінійність, правильність, діапазон застосування, прецизійність та робастність є валідними.

8. Обґрунтовано можливість застосовування запропонованих методик для визначення якості лікарських засобів, зокрема в роботі Державних служб з лікарських засобів та ВТК хіміко-фармацевтичних заводів.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Яворський М. П. Барвні реакції натрій-1,2-нафтохінон-4-сульфонату з лікарськими препаратами / Яворський М. П. // Фармац. журн. – 1965. – № 1. – С. 29-33.
2. Mallapu E. Rani. Spectrophotometric determination of cefadroxil with 2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone / Mallapu E. Rani. // World Journal of Pharmaceutical Research. – 2014. – Vol. 3, № 9. – P. 1196-1200.
3. Spectrophotometric determination of ampicillin and cloxacillin in pure and fixed dosage forms through charge transfer complexation / Chigozie C. Ezeanokete, Kenneth Gerald Ngwoke, Festus Basden C. Okoye, Patience O. Osadebe. // European Chemical Bulletin. – 2013. – Vol. 2, № 12. – 1520 p.
4. Theia'a N. Al-Sabha. Spectrophotometric determination of amikacin sulphate via charge transfer complex formation reaction using tetracyanoethylene and 2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone reagents / Theia'a N. Al-Sabha. // The Arabian Journal for Science and Engineering. – 2010. – Vol. 35, № 2A. – P. 27-40.
5. Kudige N. Prashanth. Utility of p-chloranilic acid and 2,3-dichloro-5,6-dicyano-p-benzoquinone for the spectrophotometric determination of Rizatriptan Benzoate / Kudige N. Prashanth, Kanakapura Basavaiah. // ISRN Analytical Chemistry. – 2012. – Vol. 2012. – P. 849-856.
6. Refat M. S. Spectrophotometric and electrical studies of charge-transfer complexes of sodium flucloxacillin with pi-acceptors / Refat M. S., El-Didamony A. M. // Spectrochim. Acta a Mol. Biomol. Spectrosc. – 2006. – Vol. 65, № 3. – P. 732-741.
7. Shaik Sarfaraz. Method development, validation and determination of Alprazolam in its pharmaceutical dosage by 2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone / Shaik Sarfaraz, Ch. Venkata Ramana Reddy, K. M. A. Shareef. // Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. – 2014. – Vol. 6, № 9. – P. 411-418.

8. Development of simple spectrophotometric method for the determination of propranolol in bulk and dosage forms / M. Suman, C. Narasimha Rao, K. Siva Kumar, P. Venkateswarlu. // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. – 2013. – Vol. 4, № 2. – P. 369.

9. Rahman N. Validated spectrophotometric methods for the determination of amlodipine besylate in drug formulations using 2,3-dichloro- 5,6-dicyano-1,4-benzoquinone and ascorbic acid / Rahman N., Nasrul Hoda M. // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2003. – Vol. 31, № 2. – P. 381-392.

10. Коренман И. М. Фотометрический анализ: Методы определения органических соединений. – М.: Химия, 1975. – 359 с.

11. A new spectrophotometric method for the determination of methyldopa / E. A. Gadkariem, K. E. E. Ibrahim, N. A. A. Kamil [et al.]. // *Saudi Pharm J.* – 2009. – Vol. 17, № 4. – P. 289-293.

12. El-Enany N. Novel spectrophotometric method for the assay of captopril in dosage forms using 2,6-dichloroquinone-4-chlorimide / El-Enany N., Belal F., Rizk M. // *Int. J. Biomed. Sci.* – 2008. – Vol. 4, № 2. – P. 147-154.

13. Development of spectrophotometric method for determination of dopamine hydrochloride in bulk and injectable forms / Riham Moa Idris, Elrasheed A. Gadkariem, Kamal Ee Ibrahim, Magdi A. Mohamed. // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. – 2012. – Vol. 3, № 4. – P. 1135.

14. 2,6-dichloroquinone chlorimide and 7,7',8,8'-tetracyanoquinodimethane reagents for the spectrophotometric determination of salbutamol in pure and dosage forms / Mohamed G. G., Khalil S. M., Zayed M. A., El-Shall M. A. // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2002. – Vol. 28, № 6. – P. 1127-1133.

15. Reaction of 2,6-dichloroquinone-4-chloroimide (Gibbs reagent) with permethrin – an optical sensor for rapid detection of permethrin in treated wood / Mohamad Nasir Mat Arip, Lee Yook Heng, Musa Ahmad, Siti Aishah Hasbullah. // *Chemistry Central Journal*. – 2013. – Vol. 7, № 122. – P. 153-161.

16. Spectrophotometric determination of pregabalin using Gibb's and MBTH reagent in pharmaceutical dosage form / K. Sowjanya, J. C. Thejaswini, B. M. Gurupadayya, M. Indupriya. // *Der Pharma Chemica*. – 2011. – Vol. 3, № 1. – P. 112-122.

17. Utility of certain nucleophilic aromatic substitution reactions for the assay of pregabalin in capsules / Walash M. I., Belal F. F., El-Enany N. M., El-Maghrabey M.H. // *Chem. Cent. J.* – 2011. – Vol. 5. – P. 36-45.

18. Spectrophotometric stability-indicating methods for the determination of leflunomide in the presence of its degradates / Abbas S. S., Bebawy L. I., Fattah L. A., Refaat H. H. // *J. AOAC. Int.* – 2006. – Vol. 89, № 6. – P. 1524-1531.

19. Васюк С. А. Разработка способов количественного определения некоторых лекарственных средств по реакции с производными нафтохинона: дис. кандидата фарм. наук: 15.00.02 / Васюк С. А. – Запорожье, 1989. – 170 с.

20. Яворский Н. П. Хиноны как реактивы для анализа органических фармацевтических препаратов / Яворский Н. П. // *Аптечное дело*. – 1964. – Т. 13, № 1. – С. 81-84.

21. Abdalla A. Optimization and validation of spectrofluorimetric method for determination of cefadroxile and cefuroxime sodium in pharmaceutical formulations / Abdalla A., Shazalia M. A., Hassan Y. // *Luminescence*. – 2013. – Vol. 2. – P. 25-36.

22. Ayman A. Spectrophotometric methods for determination of cefdinir in pharmaceutical formulations via derivatization with 1,2-naphthoquinone-4-sulfonate and 4-chloro-7-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazole / Ayman A. Gouda, Hisham Hashem, Wafaa Hassan. // *Drug Testing and Analysis*. – 2012. – Vol. 4, № 12. – P. 991-1000.

23. Novel spectrophotometric determination of valacyclovir and cefotaxime using 1,2-naphthoquinone-4-sulfonic acid sodium in bulk and pharmaceutical dosage form / Aswani C. H., Kumar T., Anil Kumar B. M., Gurupadayya S. // *Arch. Appl. Sci. Res.* – 2010. – Vol. 2. – P. 278-287.

24. Gouda A. A. Spectrophotometric methods for determination of cefdinir in pharmaceutical formulations via derivatization with 1,2-naphthoquinone-4-sulfonate and 4-chloro-7-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazole / Gouda A. A., Hashem H., Hassan W. // *Drug Test. Anal.* – 2011. – Vol. 3. – P. 290-297.

25. Ahmed S. M. A. New spectrophotometric method for determination of cephalosporins in pharmaceutical formulations / Ahmed S. M. A., Elbashir A. A., Aboul-Enein H. Y. // *Arabian J. Chem.* – 2011. – Vol. 5. – P. 56-59.

26. Safwan Ashour. Novel spectrophotometric method for determination of some macrolide antibiotics in pharmaceutical formulations using 1,2-naphthoquinone-4-sulphonate / Safwan Ashour, Roula Bayram. // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy.* – 2012. – Vol. 99. – P. 74-80.

27. Abdalla A. Elbashir. Spectrophotometric method for determination of l-dopa in pharmaceutical formulation using 1,2-naphthoquinone-4-sulphonate as a chromogenic reagent / Abdalla A. Elbashir, Banan Elshiekh, Alsied Basheir. // *Projournal of natural science research.* – 2014. – Vol. 2, № 3. – P. 27-39.

28. I. Muszalska. 1,2-naphthoquinone-4-sulfonic acid sodium salt as a reagent for spectrophotometric determination of rimantadine and memantine / I. Muszalska, A. Sobczak, I. Kiaszewicz. // *Journal of Analytical Chemistry.* – 2015. – Vol. 70, № 3. – P. 320-327.

29. Ulu S. T. Spectrophotometric and spectrofluorimetric determination of atomoxetine in pharmaceutical preparations / Ulu S. T. // *Pharmazie.* – 2011. – Vol. 66, № 11. – P. 831-835.

30. Spectrophotometric study for the reaction between fluvoxamine and 1,2-naphthoquinone-4-sulphonate: Kinetic, mechanism and use for determination of fluvoxamine in its dosage forms / Darwish I. A., Abdine H. H., Amer S. M., Al-Rayes L. I. // *Spectrochim. Acta. A Mol. Biomol. Spectrosc.* – 2009. – Vol. 72, № 4. – P. 897-902.



31. Simple spectrophotometric method for determination of paroxetine in tablets using 1,2-naphthoquinone-4-sulphonate as a chromogenic reagent / Darwish I. A., Abdine H. H., Amer S. M., Al-Rayes L. I. // *Int. J. Anal. Chem.* – 2009. – Vol. 29. – P. 965-972.

32. Starczewska B. Study and analytical application of ionpairformation in the system fluoxetine-pyrocatechol violet and fluvoxamine-pyrocatechol violet / Starczewska B., Jasińska A., Białous B. // *Pharmazie.* – 2003. – Vol. 58. – P. 245–248.

33. Starczewska B. Application of chrome azurol S for the extractive spectrophotometric determination of fluoxetine and fluvoxamine / Starczewska B., Mielech K. // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2000. – Vol. 23. – P. 243–247.

34. Li Q. M. Spectrophotometric determination of aminomethylbenzoic acid using sodium 1,2-naphthoquinone-4-sulfonate as the chemical derivative chromogenic reagent / Li Q. M., Yang Z. J. // *Spectrochim. Acta. A Mol. Biomol. Spectrosc.* – 2007. – Vol. 66, № 3. – P. 656-661.

35. Mahmure Ustun Ozgur. A spectrophotometric method for the determination of prazosin hydrochloride in tablets / Mahmure Ustun Ozgur, A. Sungur. // *Turk. J. Chem.* – 2002. – Vol. 26. – P. 691-696.

36. Quanmin Li. Study of the sensitization of tetradecyl benzyl dimethyl ammonium chloride for spectrophotometric determination of dopamine hydrochloride using sodium 1,2-naphthoquinone-4-sulfonate as the chemical derivative chromogenic reagent / Quanmin Li, Juan Li, Zhanjun Yang. // *Analytica Chimica Acta.* – 2007. – Vol. 583, № 1. – P. 147-152.

37. New spectrophotometric methods for the determination of moxifloxacin in pharmaceutical formulations / Elbashir A. A., Ebraheem S. A., Elwagee A. H., Aboul-Enein H. Y. // *Acta. Chim. Slov.* – 2013. – Vol. 60, № 1. – P. 159-165.

38. Ebraheem S. A. M. Spectrophotometric methods for the determination of gemifloxacin in pharmaceutical formulation / Ebraheem S. A. M., Elbashir A.

A., Aboul-Enein H. Y. // *Acta Pharmaceutica Sinica*. – 2011. – Vol. 1. – P. 248-253.

39. Validated stability indicating assay of gemifloxacin and lomefloxacin in tablet formulations by capillary electrophoresis / Elbashir A. A., Saad B., Ali A. S. M., Al-Azzam K. M. M. // *J. Liq. Chrom. Relat. Tech.* –2008. –Vol. 31. –P. 1465–1477.

40. P. Saifulla Khan. Visible spectrophotometric methods for the determination of zolmitriptan in bulk and pharmaceutical formulations using aromatic aldehydes and folin's reagent / P. Saifulla Khan, P. Raveendra Reddy, V. Krishna Reddy. // *International Journal of Chem. Tech. Research*. – 2013. – Vol. 5, № 6. – P. 2941-2946.

41. K. Raghu Babu. Spectrophotometric determination of doripenem in bulk and injection formulations by 1,2-naphthoquinone 4-sulphonic acid sodium salt (NQS) reagent in alkaline medium / K. Raghu Babu, N. Aruna Kumari. // *Der Pharma Chemica*. – 2013. – Vol. 5, № 6. – P. 312-316.

42. Wang H. Y. Spectrophotometric determination of dapsone in pharmaceutical products using sodium 1,2-naphthoquinone-4-sulfonic as the chromogenic reagent / Wang H. Y., Xu L. X., Xiao Y. // *C. of Chemistry, Chemical Engineering and Materials Science*. – 2012. – Vol. 2. – P. 102-108.

43. Li Q. Spectrophotometric determination of tiopronin using its catalytic reaction between sodium 1,2-naphthoquinone-4-sulfonate and hydroxyl ion / Li Q., Gao L. // *Anal. Sci.* – 2009. – Vol. 1. – P. 89-93.

44. Nagaraja P. Spectrophotometric method for the determination of paracetamol and phenacetin / Nagaraja P., Murthy K. C., Rangappa K. S. // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2000. – Vol. 17, № 3. – P. 501-506.

45. Sameer A. Sensitive and selective spectrophotometric assay of gabapentin in capsules using sodium 1,2-naphthoquinone-4-sulfonate / Sameer A., M. Abdulrahman, Kanakapura Basavaiah. // *Drug Testing and Analysis*. – 2011. – Vol. 3, № 10. – P. 748-754.

46. Visible spectrophotometric methods for determination of sitagliptine in tablets / Prasad Ch. H., Chandy Sushma P., Devala Rao G., Sudhakara Sai Babu G. // *Orient. J. Chem.* – 2010. – Vol. 26. – P. 1211–1213.

47. Abdalla A. Elbashir. Spectrophotometric determination of pyrimethamine (PYM) in pharmaceutical formulation using 1,2-naphthoquinone-4-sulfonate (NQS) / Abdalla A. Elbashir, Alawia H. E. Elwagee. // *Journal of the Association of Arab Universities for Basic and Applied Sciences.* – 2012. – Vol. 11, № 1. – P. 32-36.

48. 1,2-Naphthoquinone-4-sulphonic acid sodium salt (NQS) as an analytical reagent for the determination of pharmaceutical amine by spectrophotometry / Abdalla Ahmed Elbashir, Abir Abdalla Ahmed, Shazalia M. Ali Ahmed, Hassan Y. Aboul-Enein. // *Applied Spectroscopy Reviews.* – 2012. – Vol. 47, № 3. – P. 219-232.

49. Hasani M. A kinetic spectrophotometric method for simultaneous determination of glycine and lysine by artificial neural networks / Hasani M., Yaghoubi L., Abdollahi H. // *Anal. Biochem.* – 2007. – Vol. 365, № 1. – P. 74-81.

50. A new spectrophotometric method for the determination of cardiovascular drugs in dosage forms / By Ali, Abir Abdalla, Ahmed Elbashir, Abdalla Ahmed. // *Academic journal article.* – 2013. – Vol. 5, № 1. – P. 179-185.

51. Thabit S. Al-Ghabsha. The use of 2,3-dichloro-1,4-naphthoquinone for the spectrophotometric determination of some primary aliphatic amines in aqueous solution. / Thabit S. Al-Ghabsha, Theia'a N. Al-Sabha, Usra I. Al-Neaimy. // *J. Edu. & Sci.* – 2009. – Vol. 22, № 1. – P. 43-53.

52. Mallapu Rani. Spectrophotometric analysis of some fluoroquinolone antibacterials in bulk drugs and their dosage forms / Mallapu Rani. // *World Journal of Pharmaceutical Research.* – 2014. – Vol. 3, № 9. – P. 1196-1200.

53. Darwish I. A. Development and validation of spectrophotometric methods for determination of fluoxetine, sertraline, and paroxetine in pharmaceutical dosage forms / Darwish I. A. // *J. AOAC Int.* – 2005. – Vol. 88, № 1. – P. 28-45.

54. Mukherjee Asok K. Spectrophotometric study of a charge transfer complex of 4-acetamidophenol with 2,3-dichloro-1,4-naphthoquinone in pure ethanol medium / Mukherjee Asok K., Pal Purnendu, Mukherjee Dulal C. // Journal of the Indian Chemical Society. – 2008. – Vol. 85, № 12. – P. 1327-1331.

55. Gururaj Neelgund. EDA complexes of 2,3-dichloro-1,4-naphthoquinone with some substituted anilines / Gururaj Neelgund, Abhay S. Kulkarni, M. L. Budni. // Monatshefte für Chemie. – 2004. – Vol. 135, № 4. – P. 343-355.

56. El-Yazbi F. A. Spectrophotometric and spectrofluorometric methods for the assay of lisinopril in single and multicomponent pharmaceutical dosage forms / El-Yazbi F. A., Abdine H. H., Shaalan R. A. // J. Pharm. Biomed. Anal. – 2000. – Vol. 19, № 6. – P. 819-827.

57. Abdalla Ahmed Elbashir. A new spectrophotometric method for determination of penicillamine in pharmaceutical formulation using 1,2-naphthoquinone-4-sulfonate / Abdalla Ahmed Elbashir, Salwa Fwad Awad. // Journal of Pharmacovigilance. – 2013. – Vol. 1, № 2. – P. 18-22.

58. Св. М. Коваленко. Валідація ВЕРХ методики визначення тіоктової кислоти в комбінованому лікарському засобі для лікування діабетичних ускладнень/ Св. М. Коваленко, С. А. Шкляєв, С. М. Коваленко. // Управління економіки та забезпечення якості в фармації. – 2012. – Vol. 4, № 24. – P. 19-24.

59. M. Y. Khuhawar. Liquid chromatographic determination of  $\gamma$ -aminobutyric acid in cerebrospinal fluid using 2-hydroxynaphthaldehyde as derivatizing reagent / M. Y. Khuhawar, A. D. Rajper. // University of Sindh. Jamshoro. – 1998. – Vol. 46, № 4. – P. 452-456.

60. High-performance liquid chromatographic determination of beta-alanine, beta-aminoisobutyric acid and gamma-aminobutyric acid in tissue extracts and urine of normal and (aminooxy) acetate-treated rats / Abe T., Kurozumi Y., Yao W. B. [et al.]. // Journal of Chromatography B. – 1998. – Vol. 712, № 1. – P. 43-49.

61. André B. P. Van Kuilenburg. Simultaneous determination of F- $\beta$ -alanine and  $\beta$ -alanine in plasma and urine with dual-column reversed-phase high-performance liquid chromatography / André B. P. Van Kuilenburg, Alida E. M. Stroomer, Godefridus J. Peters. // *Journal of Chromatography B.* – 2001. – Vol. 759, № 1. – P. 51-61.

62. Jeffrey H. Baxter. Determination of Free Arginine, Glutamine, and  $\beta$ -alanine in Nutritional Products and Dietary Supplements / Jeffrey H. Baxter, Paul W. Johns. // *Food Analytical Methods.* – 2012. – Vol. 5, № 4. – P. 821-827.

63. Зенкова Е. А. 1,2,3,4-тетрагидро-1,4-диоксо-2,2,3,3-тетрагидроксифталин как реагент для обнаружения биогенных аминов методом ТСХ и источник получения нингидринового реактива / Зенкова Е. А., Дегтерев Е. В. // *Хим.-фарм. журн.* – 2000. – Т. 34, № 2. – С. 46-48.

64. Costin Jason W. Selective determination of amino-acids using flow injections analysis coupled with chemiluminescence detection / Costin Jason W., Francis Paul S., Lewis Simon W. // *Anal. Chim. Acta.* – 2003. – Vol. 48, № 1. – P. 67-77.

65. Tsukagoshi Kazuhiko. Determination of  $\alpha$ -amino-acid using a 1,10-phenanthroline-hydrogen peroxide-osmium (VIII) chemiluminescence / Tsukagoshi Kazuhiko, Fukuoka Takao, Nakajima Riichiro. // *Sci. and Eng. Rev. Doshisha Univ.* – 2000. – Vol. 41, № 3. – P. 32-36.

66. Коржова А. С. Аналіз лікарських речовин з первинною аліфатичною аміногрупою та солей слабких органічних кислот по реакції з 1,3-диметил-алоксаном та похідними бензоілгідразону-1,4-бензохіноноксиму: дис. кандидата фарм. наук: 15.00.02 / Коржова А. С. – Запорож'є, 2005. – 172 с.

67. Ошкая В. П. Нингидриновые реакции / Ошкая В. П. // Рига: Зинатне. – 1974. – 176 с.

68. Shah S.A. Spectrophotometric methods for determination of cefdinir in pharmaceutical formulations via derivatization with 1,2-naphthoquinone-4-sulfonate and 4-chloro-7-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazole / Shah S. A., Rathod I. S.,

Dharitri Kanakia. // *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences.* – 2007. – Vol. 69, № 3. – P. 462-464.

69. Simple spectrophotometric method for determination of paroxetine in tablets using 1,2-naphthoquinone-4-sulphonate as a chromogenic reagent / Darwish I. A., Abdine H. H., Amer S. M., Al-Rayes L. I. // *Int. J. Anal. Chem.* – 2009. – Vol. 92, № 12. – P. 256-264.

70. Shah S. A. Spectrophotometric methods for determination of cefdinir in pharmaceutical formulations via derivatization with 1,2-naphthoquinone-4-sulfonate and 4-chloro-7-nitrobenzo-2-oxa-1, 3-diazole / Shah S. A., Rathod I. S., Dharitri Kanakia. // *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences.* – 2007. – Vol. 69, № 3. – P. 462-464.

71. Ветютнева Н. О. Кількісне визначення цистеїну та метіоніну за допомогою 18-краун-6 / Ветютнева Н. О. // *Фармац. журн.* – 1996. – № 3. – С. 80-81.

72. B. Zhang Felicia. Colorimetric detections of thiol-containing amino acids using gold nanoparticulates / B. Zhang Felicia, G. Daras Jason, M. Maye Mathew // *Analyst.* – 2002. – Vol. 127, № 4. – P. 462-465.

73. Спектрофотометрическое и флуориметрическое определение аминокислот по реакции с о-фталевым альдегидом в присутствии сульфит- и цианид- ионов / В. И. Бекетов, Р. Д. Воронина, Д. Г. Филатова, Н. Б. Зоров // *Журн. по аналит. химии.* – 2000. – Т. 55, № 2. – С. 1277-1280.

74. Lahuerta Zamora L. Flow injection spectrophotometric determination of amino-acids based on an immobilized copper (II)-zincon system / Lahuerta Zamora L., Martinez-Calatayud J. // *Anal. Chim. Acta.* – 1993. – Vol. 281, № 3. – P. 601-605.

75. Snežana S. Mitić. Quantitative determination of glycine in commercial dosage forms by kinetic spectrophotometry / Snežana S. Mitić, Aleksandra N. Pavlović, Snežana B. Tošić. // *Journal of Analytical Chemistry.* – 2009. – Vol. 64. – P. 683-689.

76. Hasani M. A kinetic spectrophotometric method for simultaneous determination of glycine and lysine by artificial neural networks / Hasani M., Yaghoubi L., Abdollahi H. // *Anal. Biochem.* – 2007. – Vol. 365 (1). – P. 74-81.

77. Zhongming Liang. Determination of the nutraceutical, glucosamine hydrochloride, in raw materials, dosage forms and plasma using pre-column derivatization with ultraviolet HPLC / Zhongming Liang, James Leslie, Abimbola Adebawale. // *School of Pharmacy.* – 2009. – Vol. 63, № 4. – P. 275-285.

78. Wang X. Optimizing high-performance liquid chromatography method for quantification of glucosamine using 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate derivatization in rat plasma: application to a pharmacokinetic study / Wang X., Chen X., Chen L. // *Biomed Chromatogr.* – 2008. – Vol. 22, № 11. – P. 1265-1271.

79. Zhou J. Z. Determination of glucosamine in raw materials and dietary supplements containing glucosamine sulfate and/or glucosamine hydrochloride by high-performance liquid chromatography with Fmoc-Su derivatization: collaborative study / Zhou J. Z., Waszkuc T., Mohammed F. // *NOW Natural Foods.* – 2004. – Vol. 18, № 9. – P. 132-137.

80. Aghazadeh-Habashi A. High performance liquid chromatographic determination of glucosamine in rat plasma / Aghazadeh-Habashi A., Sattari S., Pasutto F. W. // *J. Pharm. Sci.* – 2002. – Vol. 5, № 2. – P. 176-80.

81. Zhang Z. D. High performance liquid chromatographic analysis of hexosamines, hexosaminitols, n-acetylhexosamines and n-acetylhexosaminitols by ultraviolet and fluorescence detection at picomolelevels / Zhang Z. D., Zhang R. E., Liu G.Q. // *J. Chromatogr.* – 1996. – Vol. 73, № 1. – P. 107-114.

82. Anumula K. R. Quantitative determination of monosaccharides in glycoproteins by high performance liquid chromatography with high sensitive fluorescence detection / Anumula K. R. // *Anal. Biochem.* – 1994. – Vol. 220, № 2. – P. 275-283.

83. Makatsori E. Determination Glucosamine and Galactosamine in blood serum and glycoconjugates by HPLC / Makatsori E., Karamanos N. K.

Anastassiou E. D. // J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol. – 1998. – Vol. 21, № 19. – P. 3031-3045.

84. Way K. W. Determination of Glucosamine in nutritional supplements by reversed phase High Performance Liquid Chromatography / Way K. W., Gibson K. G., Breite A. G. // J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol. – 2000. – Vol. 23, № 18. – P. 2861-2871.

85. El-Saharty Y. S. High Performance liquid chromatographic determination of nutraceuticals, glucosamine sulfate and chitosan, in raw materials and dosage forms / El-Saharty Y. S., Bary A. A. // Anal. Chim. Acta. – 2002. – Vol. 46, № 1. – P. 125-131.

86. Shao Y.A. stability-indicating HPLC method for the determination of glucosamine in pharmaceutical formulations / Shao Y., Alluri R., Mummert M. // J. Pharm. Biomed. Anal. – 2004. – Vol. 35, № 3. – P. 625-631.

87. Davydova, S. L. Application of copper-selective electrodes in the determination and investigation of monomeric and polymeric amino-sugars / Davydova, S.L., Cheevina, L. V. // Zn. Anal. Khim. – 2004. – Vol. 47, № 6. – P. 1076-1082.

88. Компанцев Д. В. Разработка методик качественного и количественного определения глюкозамина гидрохлорида / Компанцев Д. В., Дерхо А. Э., Компанцева Е. В. // Журнал «Вестник», ВГУ. – 2006. – № 2. – С. 267-270.

89. Yamaguchi T. Spectrophotometric determination of glucosamine and its analogous amino sugars with o-hydroxyhydroquinonephthalein and palladium (II) / Yamaguchi T., Inoue M., Miyachi K. // Anal. Sci. – 2004. – Vol. 20. – P. 387-389.

90. Priya Gaonkar. Spectrophotometric method for determination of glucosamine in tablets / Priya Gaonkar, Vineeta Khanvilkar, Rajani Shettigar // Indian J. Pharm. Sci. – 2006. – Vol. 68, № 1. – P. 83-84

91. Юрченко Д. М. Розробка Спектрофотометричного визначення глюкозаміну гідрохлориду за реакцією з алоксаном / Юрченко Д. М.



Васюк С. О. // Запорожский медицинский журнал. – 2010. – Т. 12, № 2. – С. 153-155.

92. Turnipseed S. B. Analysis of aminoglycoside residues in bovine milk by liquid chromatography electrospray ion trap mass spectrometry after derivatization with phenyl isocyanate / Turnipseed S. B., Clark S. B., Karbiwnyk C. M. // J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci. – 2009. – Vol. 877, № 14. – P. 1487-1493.

93. Jeffrey H. Baxter Determination of Free Arginine, Glutamine, and  $\beta$ -alanine in Nutritional Products and Dietary Supplements / Jeffrey H. Baxter, Paul W. Johns // Food Analytical Methods. – 2012. – Vol. 5, № 4. – P. 821-827.

94. Development of a multicommutated flow system with chemiluminometric detection for quantification of gentamicin in pharmaceuticals / Lúcia L. M. Santos, A. N. Araújo, Boaventura Reis, S. M. Montenegro. // Journal of Automated Methods and Management in Chemistry. – 2010. – Vol. 2010. – P. 202-208.

95. Safila Naveed. Short communication simple uv spectrophotometric assay of new formulation gentamycin / Safila Naveed, ShabanaNaz Shah, Fatima Qamar. // Journal of Applied Pharmacy. – 2014. – Vol. 6, № 4. – P. 407-410.

96. Highly sensitive spectrofluorimetric method for determination of certain aminoglycosides in pharmaceutical formulations and human plasma / Mahmoud A. Omar, Dalia M. Nagy, Mohamed A. Hammad, Alshymaa A. Aly. // AAPS Pharm. Sci. Tech. – 2013. – Vol. 14, № 2. – P. 828-837.

97. Szaniszló B. Indirect determination of gentamicin by derivative spectrophotometry / Szaniszló B., Cristina Iuga Bojiță M. // Acta. Medica Marisiensis. – 2011. – Vol. 57, № 5. – P. 516.

98. Complexation of aminoglycoside antibiotics with metal cations as a derivatization reaction: Determination of gentamicin by equilibrium electrochemical and spectrophotometric methods / O. M. Petrukhin, M. V. Kostitsyna, T. G. Dzherayan [et al.]. // Journal of Analytical Chemistry. – 2009. – Vol. 64, № 9. – P. 951-957.

99. Indirect spectrophotometric determination of neomycin based on the reaction with cerium (IV) sulfate / Iulia Gabriela David, V. David, A. A. Ciucud, Adela Ciobanu. // *Nalele Universitatii Bucuresti.* – 2010. – Vol. 19, № 1. – P. 61.

100. A spectrophotometric flow injection system for streptomycin determination in veterinary samples / Frugeri P. M., Do Lago A. C., Wisniewski C., Luccas P. O. // *Spectrochim. Acta. A Mol. Biomol. Spectrosc.* – 2014. – Vol. 117. – P. 304-308.

101. Spectrophotometric determination of antibiotics in pharmaceutical products with turbidimetry method by using pb 4+ and tangesto phosphoric acid / Bakhtiar Khodavirdilo, Samaneh, Khodavirdilo, Magsoud Ziayie. // *Drug Testing and Analysis.* – 2012. – Vol. 3, № 1. – P. 187-198.

102. Suchitra S. Sampathand. Comparison of new and existing spectrophotometric methods for the analysis of tobramycin and other aminoglycosides / Suchitra S. Sampathand, Dennis H. Robinson. // *Journal of Pharmaceutical Sciences.* – 1990. – Vol. 79, № 5. – P. 428-431.

103. Wang H. Use of P-dimethylaminobenzalhyde as a coloured reagent for determination of gentamycin / Wang H., Ren J., Zhang Y. // *Talanta.* – 1993. – Vol. 40, № 6. – P. 851-853.

104. Validated spectrophotometric methods for determination of certain aminoglycosides in pharmaceutical formulations / Mahmoud A. Omar, Dalia M. Nagy, Mohamed A. Hammad, Alshymaa A. Aly. // *Journal of Applied Pharmaceutical Science.* – 2013. – Vol. 3, № 3. – P. 151-161.

105. Sayed M. N. Moalla. Colorimetric microdetermination of some aminoglycosides in pure and in their pharmaceutical formulations / Sayed M. N. Moalla, Nasser M. Hosny, Eman R. Mostafa. // *International Journal of Advanced Research in Chemical Science.* – 2014. – Vol. 1, № 10. – P. 21-30.

106. Державна Фармакопея України. – 1-е вид. – Х. : РІРЕГ, 2001. – 556 с.

107. Державна Фармакопея України. – 1-е вид. – Х. : РІРЕГ, 2001. – Доповнення 1. – 2004. – 520 с.

108. Державна Фармакопея України. – 1-е вид. – Х. : Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр", 2008. – Доповнення 2. – 2008. – 620 с.
109. Державна Фармакопея України. – 1-е вид. – Х. : Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр", 2008. – Доповнення 3. – 2009. – 256 с.
110. Державна Фармакопея України. – 1-е вид. – Х. : Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр", 2008. – Доповнення 4. – 2010. – 536 с.
111. United States Pharmacopeia 26. – USP Convention Inc. – Rockville, 2003.
112. British Pharmacopeia. – Her Majesty's Stationery Office. – London, 2000.
113. Japanese Pharmacopoeia 15. – The National Institute of Health Sciences. – 2007.
114. Кирхнер Ю. Тонкослойная хроматография / Кирхнер Ю.; пер. с англ. Соколова Д. Н. – М.: Мир, 1981. – Т. 1. – С. 120–550.
115. Гейсс Ф. Основы тонкослойной хроматографии / Гейсс Ф.; пер. с англ. М. А. Кошевник и Б. П. Лапина. – М.: Мир, 1987. – Т. 1. – 405 с.
116. Булатов М. И. Практическое руководство по фотометрическим методам анализа – 5-е изд. / Булатов М. И., Калинин И. П. – Л.: Химия, 1986. – 432 с.
117. Машковский М. Д. Лекарственные средства: [в 2 т.]. – М: Новая волна, 2000. – Т. 1. – С. 140, 231–233.
118. Компендиум 2008 – Лекарственные препараты / Под ред. В. Н. Коваленко, А. П. Викторова. – К.: МОРИОН, 2008. – 2250 с.
119. Синтез та властивості хіноїдних сполук. Галогенування та реакції хіноїдних сполук з N-нуклеофільними реагентами / М. С. Курка, О. Б. Миколів, О. П. Бондарчук, М. В. Стасевич. // Журнал органічної та фармацевтичної хімії. – 2010. – Т. 8, №4 (32). – С. 40–50.

120. Пат. на корисну модель 44953 Україна. МПК А61К 31/00. Застосування калієвих солей 2-а-аланіно- та 2-гліцино-3-хлор-1,4-нафтохінону як актопротекторних засобів / Степанюк Г. І., Руда Н. В., Драчук О. П., Черноіван Н. Г.; № 200903466; Заявл. 10.04.2009. Опубл. 26.10.2009. – Бюл. № 20. – 6 с.

121. Модифікація 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону нуклеофільними реагентами / С. В. Половкович, М. С. Курка, О. П. Боднарчук, Р. Б. Винницька. // Українська науково-практична конференція, (до 95-річчя з дня народження) «Проблеми синтезу біологічно активних речовин та створення на їх основі лікарських субстанцій»: Тези допов.: – Харків, 2009. – С. 72.

122. Синтез нових амінокислотних похідних хінонів / Н. Г. Марінцова, М. С. Курка, О. Б. Миколів, Л. Р. Журахівська. // XXII Укр. конф. з орг. хімії: Тези допов.: - Ужгород, 2010. – С. 105.

123. Синтез та дослідження гострої токсичності деяких похідних 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону / А. Ель Ідріссі, І. О. Бринь, Н. Г. Марінцова, В. П. Новіков. // Вісник Національного університету «Львівська політехніка». Хімія, технологія речовин та їх застосування. – 2002. – № 461. – С. 218-220.

124. Synthesis, hightoxicity, antihypoxic and antiischemic activity of new aminoacid derivatives of 1.4-nafthoquinone / Zhurahivs'ka L. R., Komarovs'ka-Porohnyavac O. Z., Marintsowa N. G., Novikov V. P. // Pharmaceutic Journal. – 2005. – Vol. 3. – P. 67-73.

125. Sulfennaphthoquinones / Maryna Stasevych, Marjana Semenyuk, Iryna Mandzya, Maksym Plotnikov. // Chemistry and chemical technology. – 2007. – Vol. 1, № 1. – P. 35-40.

126. К. П. Портна. Спектрофотометричне визначення глюкозаміну в препараті «Дона» / К. П. Портна, С. О. Васюк // Фармацевтичний часопис. – 2013. – № 1 (25). – С. 137-140.

127. К. П. Портна. Кількісне визначення глюкозаміну спектрофотометричним методом / К. П. Портна, С. О. Васюк // Актуальні

питання фармацевтичної і медичної науки і практики. – 2013. – № 2 (12). – С. 117-121.

128. К. Р. Portna. Spectrophotometric determination  $\beta$ -alanine in reaction with 1,2-naphthoquinone-4-sulfonic acid sodium salt / К. Р. Portna, S. О. Vasyuk // Zaporozhye medical journal. – 2015. – № 1 (88). – P. 95-98.

129. К. Р. Portna. Aminoalcohol quantitative determination in drug dosage forms by spectrophotometric method / К. Р. Portna, S. О. Vasyuk // The pharmaceutical innovation journal. – 2014. – № 3 (3). – P. 13-17.

130. Е. П. Портная. Применение натриевой соли 1,2-нафтохинон-4-сульфо кислоты для спектрофотометрического определения таурина в лекарственных формах / Е. П. Портная, С. А. Васюк // Химико-фармацевтический журнал. – 2014. – Т. 48, № 8. – С. 52-56.

131. К. Р. Portna. Spectrophotometric determination amikacin in reaction with 1,2-naphthoquinone-4-sulfonic acid sodium salt / К. Р. Portna, S. О. Vasyuk, А. S. Korzhova // International journal of current research in chemistry and pharmaceutical sciences. – 2015. – № 2 (4). – P. 15-18.

132. Пат. на корисну модель 78204 Україна, МПК G01N 21/78. Спектрофотометричний спосіб кількісного визначення глюкозаміну / Портна К. П., Васюк С. О. ; заявник та патентовласник Запорізь. держ. мед. ун-т та автори. – № u201210826 ; заявл. 17.09.12 ; опубл. 11.03.13, Бюл. № 5. – 4 с.

133. Пат. на корисну модель 94770 Україна, МПК G01N 21/78. Спосіб спектрофотометричного визначення амікацину / Портна К. П., Васюк С. О. ; заявник та патентовласник Запорізь. держ. мед. ун-т та автори. – № u201407521 ; заявл. 04.07.14 ; опубл. 25.11.14, Бюл. № 22. – 4 с.

134. К. П. Портна. Спектрофотометричне визначення гентаміцину за реакцією з дихлоном / К. П. Портна, Ю. В. Монайкіна, О. О. Тарханова // Матеріали 71 Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю, присвячена Дню науки, 12-13 трав. 2011 року. – Запоріжжя, 2011. – С. 179.

135. К. П. Портна. Спектрофотометричне визначення глюкозаміну / К. П. Портна // Матеріали 72 Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю, присвячена Дню науки «Медицина та фармація XXI століття – крок у майбутнє», 19-20 квіт. 2012 року. – Запоріжжя, 2012. – С. 213-214.

136. Портна К. П. Застосування натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти для спектрофотометричного визначення аміналону / Портна К. П. // Матеріали XII міжнар. мед. конгресу студентів і молодих вчених, 22-24 квіт. 2013 року. – Т., 2013. – С. 321.

137. К. П. Портна. Застосування натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти для спектрофотометричного визначення таурину / К. П. Портна, С. О. Васюк // Матеріали наук.-практ. конф. «Сучасні аспекти медицини і фармації півдня України», груд. 2013 року. – О., 2013. – С. 93-94.

138. Портна К. П. Застосування 2,3-дихлор-1,4-нафтохінону для спектрофотометричного визначення гентаміцину / Портна К. П., Васюк С. О. // Тези доповідей Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2014». – Запоріжжя, 2014. – С. 186.

139. Портна К. П. Спектрофотометричне визначення глюкозаміну у капсулах / Портна К. П. // Матеріали I міжнар. інтерн.-конф. «Современные достижения медицинской и фармацевтической науки». – Запоріжжя, 2012. – С. 124.

140. Портна К. П. Розробка спектрофотометричної методики кількісного визначення амікацину / Портна К. П., Васюк С. О. // Український медичний альманах. – Т. 16, № 1. – 2013. – С. 166-167.

141. К. П. Портна. Розробка та валідація спектрофотометричних методик кількісного визначення речовин з первинною та вторинною аміногрупами / К. П. Портна, Ю. М. Жук // Матеріали X міжнар. студ. наук. конф. «Перший крок в науку – 2013». – Вінниця, 2013. – С. 292.

142. Портна К. П. Розробка методики кількісного визначення таурину / Портна К. П. // Матеріали 73 Всеукр. наук.-практ. конф. молодих

вчених та студентів з міжнар. участю, присвячена Дню науки «Медицина та фармація XXI століття – крок у майбутнє», 16-17 трав. 2013 року. – С. 231.

143. К. П. Портна. Спектрофотометричне визначення таурину в очних краплях / Портна К. П., Васюк С. О. // Матеріали 5-ї наук.-практ. конф. з міжнар. участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів». – Т., 2013. – С. 191-193.

144. Portna K. P. Development and validation of spectrophotometric methods of substances quantitative determination with primary amino group / Portna K. P. // 3 rd International conference and Workshop « Plant – the source of research material». – Lublin, 2013. – С. 68.

145. Портна К. П. Спектрофотометричне визначення амікацину в препараті «Аміцил» / Портна К. П., Васюк С. О. // Матеріали 67 міжнар. наук.-практ. конгресу студентів та молодих вчених «Актуальні проблеми сучасної медицини», жовт. 2013 року. – К., 2013. – С. 325-326.

146. Розробка та валідація спектрофотометричних методик кількісного визначення речовин в лікарських формах на основі взаємодії з сульфогталеїновими барвниками та похідними хінону / Васюк С. О., Загородній С. Л., Портна К. П., Жук Ю. М. // Матеріали Укр. наук.-практ. конф., присвяченої 100-річчю з дня народження доктора хімічних наук, професора П. О. Петюніна». – Х., 2014. – С. 88.

147. Портна К. П. Розробка спектрофотометричної методики кількісного визначення гліцину в препараті «Медихронал-Дарниця» / К. П. Портна // Матеріали III регіональної наук.-практ. конф. студентів, аспірантів та молодих вчених «Актуальні проблеми та перспективи розвитку медичних, фармацевтичних та природничих наук – 2014». – Запоріжжя, 2014. – С. 199-200.

148. Розробка та валідація методики кількісного визначення амікацину в розчині для ін'єкцій / Васюк С. О., Портна К. П., Мяснікова Г. Г., Вьюник Ю. А. // Матеріали міжнар. наук.-практ. інтерн.-конф. «Аналітична хімія в фармації», 19-20 квіт. 2015 року. – Х., 2015. – С. 23-24.

149. Вьюник Ю. А. Метод кількісного визначення гентаміцину сульфату в фармацевтичних препаратах / Вьюник Ю. А., Мяснікова Г. Г., Портна К. П. // Тези доповідей Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю, присвячена Дню науки «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2015». – Запоріжжя, 2015. – С. 147-148.

150. Портна К. П. Розробка методики кількісного визначення  $\beta$ -аланіну в таблетках // Портна К. П., Васюк С. О. // Збірник матеріалів міжнар. наук.-практ. конф. «Медична наука та практика на сучасному історичному етапі». – К., 2015. – С. 119..

151. Портная Е. П. Разработка спектрофотометрических методик количественного определения лекарственных веществ в фармацевтических препаратах на основе реакций с сульфоталеиновыми красителями и производными хинона / Портная Е. П., Загородний С. Л., Васюк С. А. // Медицинский журнал Западного Казахстана. – № 1 (45). – 2015. – С. 25.

152. Васюк С. О. Спектрофотометричне визначення гліцину в лікарських формах / Васюк С. О., Портна К. П. // Матеріали XXXII Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів», 21 трав. 2015 року. – Х., 2015. – С. 24.

153. Портна К. П. Розробка спектрофотометричної методики кількісного визначення гентаміцину сульфату в препараті «Кремген» / Портна К. П., Мирошніченко Ю. О., Васюк С. О. // Матеріали підсумкової наук.-практ. конф. «Здобутки клінічної та експериментальної медицини», 17 черв. 2015 року. – Т., 2015. – С. 215-216.

154. К. П. Портна. Визначення деяких валідаційних характеристик для спектрофотометричної методики кількісного визначення глюкозаміну / К. П. Портна // Матеріали I регіональної наук.-практ. конф. студентів, аспірантів та молодих вчених «Актуальні проблеми та перспективи розвитку природничих наук». – Запоріжжя, 2012. – С. 155-156.



155. Method Validation in Pharmaceutical Analysis. A Guide to Best Practice / [ed. by J. Ermer, J. H. McB. Miller]. – Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., 2005. – P. 3–227.

156. Analytical method validation and instrument performance verification / [ed. by Chung Chow Chan et al.]. – John Wiley & Sons, Inc. – 2004. – P. 11–51.

157. Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств / Под. ред. член-кор. НАН Украины В. П. Георгиевского. – Х. : изд. «НТМТ», 2011. – Т. 1. – 464 с.

158. Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств / Под. ред. член-кор. НАН Украины В. П. Георгиевского. – Х. : изд. «НТМТ», 2011. – Т. 3. – 520 с.

159. Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств / Под. ред. Н. В. Юргеля, А. Л. Младенцева, А. В. Бурдейна, М. А. Гетьмана. – М., 2007. – 46 с.

160. Леонтьев Д. А. Валидация аналитических методик и испытаний. Система Фармакопейных стандартных образцов Государственной Фармакопеи Украины / Д. А. Леонтьев // Фармаком. – 2002. – № 1. – С. 36-43.

161. Гризодуб А. И. Валидация спектрофотометрических методик количественного анализа лекарственных средств в соответствии с требованиями ГФУ/ А. И. Гризодуб // Фармаком. – 2002. – № 3. – С. 42-50.

162. Арзамасцев А. П. Валидация аналитических методов / А. П. Арзамасцев, Н. П. Садчикова, Ю. Я. Харитонов // Фармация. – 2006. – № 4. – С. 8-12.

163. Гризодуб А. И. Стандартные процедуры валидации методик контроля качества лекарственных средств / А. И. Гризодуб // Фармаком. – 2006. – № 1/2. – С. 22-30.

164. Стандартизованная процедура валидации методик количественного анализа лекарственных средств методом стандарта /

Гризодуб А. И., Леонтьев Д. А., Денисенко Н. В., Подпрудников Ю. В. // Фармаком. – 2004. – № 3. – С. 5-16.

Додаток А



Додаток Б



## Додаток В

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи  
Запорізького державного медичного  
університету  
д.мед.н., проф. Туманський В. О.



*[Signature]*  
« 28 » серпня 2015 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Спосіб спектрофотометричного визначення амікацину.
2. **Установа, автор:** Запорізький державний медичний університет, пр. Маяковського, 26, м. Запоріжжя, 69121, Портна Катерина Павлівна, Васюк Світлана Олександрівна.
3. **Джерело інформації:** патент на корисну модель № 94770, МПК G01N21/78. Спосіб спектрофотометричного визначення амікацину // Промислова власність.-2014.-№ 15.
4. **Впроваджено за 2015 р. в науково-педагогічний процес кафедри фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету.**
5. **Строки впровадження:** з 01.03.2015 р. по 01.05.2015 р.
6. **Ефективність впровадження:** студенти IV та V курсів фармацевтичного факультету на кафедрі фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету з цікавістю сприйняли нову методику спектрофотометричного визначення амікацину, що дозволяє швидко та з високою точністю встановити його кількісний вміст в лікарських формах при аналізі та стандартизації лікарських препаратів.
7. **Зауваження, додатки:** включити інформацію про нову методику визначення амікацину у науково-педагогічний процес фармацевтичних та хімічних кафедр інших навчальних закладів країни.

Відповідальний за впровадження:  
завідувач кафедри фармацевтичної хімії  
д. фарм. н.

*[Signature]*

Л. І. Кучеренко

« 28 » серпня 2015 р.

## Додаток Д

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи  
 Запорізького державного  
 медичного університету

професор

« 10 » грудня 2017 р.



## АКТ

**впровадження результатів наукових досліджень К.П. Портної в  
 науково-педагогічний процес кафедри фармацевтичної хімії  
 Запорізького державного медичного  
 університету**

На кафедрі аналітичної хімії Запорізького державного медичного університету аспірантом Портною К.П. розроблено новий спосіб кількісного визначення глюкозаміну (патент на корисну модель № 78204) на підставі реакції з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфоокислоти у видимій області спектра.

Розроблені способи впроваджені в науково-педагогічний процес студентів III – V курсів фармацевтичного факультету Запорізького державного медичного університету і використовуються при читанні лекцій, практичних занять студентів, інтернів.

Завідувач кафедри фармацевтичної хімії  
 Запорізького державного  
 медичного університету  
 д. фарм. н.

Л.І. Кучеренко

## Додаток Е

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи  
Запорізького національного  
університету

д.і.н., проф. Васильчук Г. М.



« 05 » « червня » 2015 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Кількісне визначення аміналону в складі лікарських форм спектрофотометричним методом
2. **Установа, автор:** Запорізький державний медичний університет, кафедра аналітичної хімії, Портна К. П., Васюк С. О.
3. **Джерела інформації:** The pharma innovation journal. – 2014. – № 3 (3). – Р.13-17.
4. **Впроваджено:** в науково-педагогічний процес кафедри хімії
5. **Термін впровадження:** 05.05-05.06.2015 р.
6. **Ефективність впровадження:** студенти на кафедрі хімії Запорізького національного університету з зацікавленістю сприйняли новий спектрофотометричний метод кількісного визначення аміналону в складі лікарських форм.
7. **Зауваження, пропозиції:** \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Відповідальний за впровадження  
професор кафедри хіміїОмельяничук  
Омельяничук Людмила Олександрівна

« 05 » « червня » 2015 р.

## Додаток Ж

  
Проректор з наукової роботи  
Національного фармацевтичного  
університету  
професор  С. М. Коваленко  
« 07 »  2013 р.

## Акт

**впровадження результатів наукових досліджень К. П. Портної в  
науково-педагогічний процес кафедри фармацевтичної хімії  
Національного фармацевтичного університету**

На кафедрі аналітичної хімії Запорізького державного медичного університету аспірантом Портною К.П. розроблено новий спосіб кількісного визначення глюкозаміну (патент на корисну модель № 78204) на підставі реакції з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти у видимій області спектра.

Розроблені способи впроваджені в науково-педагогічний процес студентів III, IV та V курсів кафедри фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету і використовуються в лекціях, лабораторних заняттях студентів, інтернів, слухачів курсів підвищення кваліфікації.

Завідувач кафедри фармацевтичної хімії  
Національного фармацевтичного університету  
професор



В. А. Георгіянец



## Додаток 3

«ЗАТВЕРДЖУЮ»  
 перший проректор Львівського  
 національного медичного університету  
 імені Данила Галицького  
 чл.-кор. НАМН України, професор  
 М.Р. Гжегоцький  
 « 20 » березня 2014 р.



## АКТ

**впровадження результатів наукових досліджень К.П. Портної в  
 науково-педагогічний процес кафедри фармацевтичної, органічної і  
 біоорганічної хімії Львівського національного медичного університету  
 імені Данила Галицького**

На кафедрі аналітичної хімії Запорізького державного медичного університету аспірантом Портною К.П. розроблено новий спосіб кількісного визначення глюкозаміну (стаття: К. П. Портна Кількісне визначення глюкозаміну спектрофотометричним методом / Портна К. П., Васюк С. О. // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки і практики. – 2013. – № 2 (12). – С. 117-121) на основі реакції з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти у видимій області спектра.


Розроблені способи впроваджені в науково-педагогічний процес студентів III, IV та V курсів фармацевтичного факультету Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького і використовуються в лекціях та лабораторних заняттях.

Професор кафедри фармацевтичної,  
 органічної і біоорганічної хімії  
 Львівського національного медичного  
 університету імені Данила Галицького,  
 доктор фармацевтичних наук, професор

 Р. Б. Лесик

## Додаток И

«ЗАТВЕРДЖУЮ»  
 Проректор з наукової роботи Тернопільського  
 державного медичного  
 університету ім. І. Я. Горбачевського  
 професор В. П. Марценюк  
 « 8 » Відень 2014 р.



## АКТ

**впровадження результатів наукових досліджень Портної К.П. в науково-педагогічний процес кафедри фармації ННІ післядипломної освіти Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського**

На кафедрі аналітичної хімії Запорізького державного медичного університету аспірантом Портною К.П. розроблено новий спосіб кількісного визначення глюкозаміну (стаття: К. П. Портна Кількісне визначення глюкозаміну спектрофотометричним методом / Портна К. П., Васюк С. О. // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки і практики. – 2013. – № 2 (12). – С. 117-121) на основі реакції з натрієвою сіллю 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти у видимій області спектра.

Розроблені способи впроваджені в науково-педагогічний процес кафедри фармації ННІ післядипломної освіти Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського і використовуються при читанні лекцій, проведенні практичних занять з інтернами і курсантами.

Завідувач кафедри фармації  
 ННІ післядипломної освіти  
 Тернопільського державного медичного  
 університету ім. І.Я. Горбачевського  
 професор



Л. С. Фіра

## Додаток К

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор Національної  
медичної академії післядипломної  
освіти імені П. Л. Шупика  
член-кор. НАМН України, професор  
Вдовиченко Ю. П.



« 10 » 2015 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Spectrophotometric determination  $\beta$ -alanine in reaction with 1,2-naphthoquinone-4-sulfonic acid sodium salt
2. **Установа, автор:** Запорізький державний медичний університет, кафедра аналітичної хімії, К. П. Портна, С. О. Васюк
3. **Джерела інформації:** Запорожский медицинский журнал. – 2015. – №1 (88). – С. 95-99
4. **Впроваджено:** в педагогічний процес кафедри контролю якості і стандартизації лікарських засобів на циклі інтернатура «Загальна фармація»
5. **Термін впровадження:** 2.02-26.06.2015р.
6. **Ефективність впровадження:** слухачі циклу – провізори інтерни, випускники Національного медичного університету імені О.О.Богомольця, Запорізького державного медичного університету, Національного фармацевтичного університету та Вінницького національного медичного університету імені М.І.Пирогова з цікавістю сприйняли новий спектрофотометричний метод визначення  $\beta$ -аланіну для кількісного визначення цієї субстанції в лікарських формах з використанням натрієвої солі 1,2-нафтохінон-4-сульфоїкислоти в якості кольорореагенту
7. **Зауваження, пропозиції:** включити інформацію у навчання циклів провізорів-інтернів та інших циклів, спрямованих на підготовку фахівців, що займаються оптовою та роздрібною реалізацією ліків, відповідають за систему забезпечення якості лікарських засобів

**Відповідальний за впровадження**  
Зав. кафедри контролю якості і  
стандартизації лікарських засобів  
професор

Ветютнева Наталія Олександрівна  
«10» 06 2015 р.

## Додаток Л

«ЗАТВЕРДЖУЮ»


Перший проректор Національної  
медичної академії післядипломної  
освіти імені П. Л. Шупика  
член-кор. НАМН України, професор  
Вдовиченко Ю. П.

« 06 » 2015 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Применение натриевой соли 1,2-нафтохинон-4-сульфокислоты для спектрофотометрического определения таурина в лекарственных формах
2. **Установа, автор:** Запорізький державний медичний університет, кафедра аналітичної хімії, К. П. Портна, С. О. Васюк
3. **Джерела інформації:** Химико-фармацевтический журнал. – 2014. – Т. 48, №8. – С. 52-56
4. **Впроваджено:** в педагогічний процес кафедри контролю якості і стандартизації лікарських засобів на циклі інтернатура «Загальна фармація»
5. **Термін впровадження:** 2.02-26.06.2015р.
6. **Ефективність впровадження:** слухачі циклу – провізори інтерни, випускники Національного медичного університету імені О.О.Богомольця, Запорізького державного медичного університету, Національного фармацевтичного університету та Вінницького національного медичного університету імені М.І.Пирогова з цікавістю сприйняли новий спектрофотометричний метод визначення таурину для кількісного визначення цієї субстанції в лікарських формах з використанням натрієвої солі 1,2-нафтохинон-4-сульфокислоти в якості кольорореагенту
7. **Зауваження, пропозиції:** включити інформацію у навчання інших циклів спрямованих на підготовку провізорів-інтернів та провізорів, які займаються оптовою та роздрібною реалізацією ліків, відповідають за систему забезпечення якості лікарських засобів

**Відповідальний за впровадження**  
Зав. кафедри контролю якості і  
стандартизації лікарських засобів  
професор

  
Ветютнева Наталія Олександрівна  
« 06 » 2015 р.


## Додаток М



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Количественное определение аминалона в лекарственных формах спектрофотометрическим методом.
2. **Установа, автор:** Запорізький державний медичний університет, пр. Маяковського, 26, м. Запоріжжя, 69121, Портна Катерина Павлівна, Васюк Світлана Олександрівна.
3. **Джерело інформації:** Portna K. P. Aminalon quantitative determination in drug dosage forms by spectrophotometric method / K. P. Portna, S. O. Vasyuk // The pharma innovation journal. – 2014. – № 3 (3).
4. **Впроваджено:** в практичну роботу Державної служби з лікарських засобів у Запорізькій області.
5. **Строки впровадження:** з 04.08.15 р. по 04.09.15 р.
6. **Ефективність впровадження:** розроблений спосіб кількісного визначення аміналону дозволяє економічно та з достатньо високою точністю встановити його кількісний вміст в лікарських формах.
7. **Зауваження, додатки:** \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Відповідальний за впровадження:

«04» Вересня 2015 р.  
(підпис)Зав. лабораторією Кесятинік І.М.  
(І.І.Б.)

## Додаток Н

«УЗГОДЖЕНО»  
В.о. Начальника Державної служби з  
лікарських засобів  
у Запорізькій області  
Єрохіна О. В.

«04» Вересня 2015 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Спосіб спектрофотометричного визначення амікацину.
2. **Установа, автор:** Запорізький державний медичний університет, пр. Маяковського, 26, м. Запоріжжя, 69121, Портна Катерина Павлівна, Васюк Світлана Олександрівна.
3. **Джерело інформації:** патент на корисну модель № 94770, МПК G01N 21/78, Спектрофотометричний спосіб кількісного визначення амікацину // Промислова власність.-2014.-№ 22.
4. **Впроваджено:** в практичну роботу Державної служби з лікарських засобів у Запорізькій області.
5. **Строки впровадження:** з 04.08.15 р. по 04.09.15 р.
6. **Ефективність впровадження:** розроблений спосіб кількісного визначення амікацину дозволяє економічно та з достатньо високою точністю встановити його кількісний вміст в лікарських формах.
7. **Зауваження, додатки:** \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Відповідальний за впровадження:

«04» Вересня 2015 р.

(підпис)

Зав. лабораторії Владимир І. М.  
(П.І.Б.)

## Додаток П

## Зміст реєстру галузевих нововведень МОЗ України за 2014 рік

12	ПОХІДНІ 1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ІОЛІВ, ЩО ПРОЯВЛЯЮТЬ АКТОПРОТЕКТОРНУ АКТИВНІСТЬ.	169/1/14
13	ПРОТИВИРАЗКОВИЙ ТА ПРОТИЗАПАЛЬНИЙ ЗАСІБ.	170/1/14
14	СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНИЙ СПОСІБ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ГЛЮКОЗАМІНУ.	171/1/14
15	СПОЛУКА 5-(2-(2-(2-ГІДРОКСИБЕНЗОЇЛ)ГІДРАЗОНО)ЕТИЛТІО)-3-ФЕНІЛ-1Н-1,2,4-ТРИАЗОЛ-1-ІУМ ХЛОРИД, ЩО ПРОЯВЛЯЄ НЕЙРОПРОТЕКТОРНУ АКТИВНІСТЬ	172/1/14
16	СПОСІБ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ МЕЗАТОНУ В РОЗЧИНІ ДЛЯ ІН'ЄКЦІЙ.	173/1/14
17	СПОСІБ ОТРИМАННЯ ДІАГНОСТИЧНОЇ ГІПЕРІМУННОЇ СИРОВАТКИ КРОВІ ДО МЕТАПНЕВМОВІРУСУ ПТИЦІ.	174/1/14
18	СПОСІБ ОТРИМАННЯ СУМИ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ СПОЛУК З ЛИСТЯ ПОДОРОЖНИКА.	175/1/14
19	СПОСІБ ВСТАНОВЛЕННЯ ПАРЕНХИМАТОЗНОГО ДАТЧИКА ВНУТРІШНЬОЧЕРЕПНОГО ТИСКУ.	253/1/14
20	СПОСІБ ЛІКУВАННЯ НЕДРІБНОКЛІТИННОГО РАКУ ЛЕГЕНІ ІІА-ІІІБ СТАДІЙ.	263/1/14
21	СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ ВИНИКНЕННЯ ХОНДРОПЕРИХОНДРИТУ ЩИТОПОДІБНОГО ХРЯЦА ПІСЛЯ РЕЗЕКЦІЇ ГОРТАНІ.	387/1/14
22	СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ СТУПЕНЯ ВИРАЗНОСТІ ІНТЕРЛОБУЛЯРНОГО ТА ПЕРИДУКТАЛЬНОГО ФІБРОЗУ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ.	402/1/14
23	СПОСІБ ВИБОРУ ЛІКУВАННЯ ВПЕРШЕ ВИЯВЛЕННОЇ ЛЕГКОЇ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ У ДІТЕЙ 6-7 РОКІВ.	419/1/14
24	СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ КІЛЬКОСТІ РЕЦИДИВІВ ГАСТРОЕЗОФАГЕАЛЬНОЇ РЕФЛЮКСНОЇ ХВОРОБИ У ДІТЕЙ ТА ПІДЛІТКІВ.	420/1/14
25	СПОСІБ ПРОГНОЗУВАННЯ РОЗВИТКУ ГАСТРОЕЗОФАГЕАЛЬНОЇ РЕФЛЮКСНОЇ ХВОРОБИ У ДІТЕЙ ТА ПІДЛІТКІВ.	421/1/14