

Міністерство охорони здоров'я України
Запорізький державний медичний університет

На правах рукопису

ЖУК ЮЛІЯ МИКОЛАЇВНА

УДК 615.074:543.42:543.632.562

РОЗРОБКА СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНИХ МЕТОДИК КІЛЬКІСНОГО
ВИЗНАЧЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН, ЩО МІСТЯТЬ ВТОРИННУ
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 – 2016

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	5
ВСТУП.....	6
РОЗДІЛ 1 МЕТОДИ АНАЛІЗУ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН, ЩО МІСТЯТЬ В СВОЄМУ СКЛАДІ ВТОРИННУ АЛІФАТИЧНУ АМІНОГРУПУ (Огляд літератури).....	13
1.1 Сульффталеїнові барвники – аналітичні реагенти у спектрофотометричному аналізі лікарських засобів.....	13
1.2 Методи аналізу лікарських речовин, що містять в своєму складі вторинну аліфатичну аміногрупу.....	22
1.3 Офіційні методи аналізу досліджуваних лікарських речовин.....	33
РОЗДІЛ 2 ОБ’ЄКТИ ДОСЛІДЖЕННЯ, РЕАГЕНТИ, РОЗЧИННИКИ ТА ЗАГАЛЬНІ МЕТОДИ АНАЛІЗУ.....	36
2.1 Об’єкти дослідження.....	36
2.2 Реагенти та розчинники.....	41
2.3 Загальні методи аналізу.....	44
РОЗДІЛ 3 СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН, ЩО МІСТЯТЬ ВТОРИННУ АЛІФАТИЧНУ АМІНОГРУПУ.....	46
3.1 Вивчення оптимальних умов реакцій досліджуваних лікарських речовин, що містять вторинну аліфатичну аміногрупу з сульффталеїновими барвниками.....	46
3.2 Встановлення аналітичних показників чутливості реакцій досліджуваних лікарських речовин, що містять вторинну аліфатичну аміногрупу з сульффталеїновими барвниками.....	59
3.3 Визначення стехіометричних співвідношень реагуючих	

компонентів в реакціях досліджуваних лікарських речовин з сульфоталеїновими барвниками.....	61
3.4 Виділення та ідентифікація продуктів взаємодії досліджуваних лікарських речовин з сульфоталеїновими барвниками.....	68
3.4.1 Виділення продуктів взаємодії досліджуваних лікарських речовин з сульфоталеїновими барвниками.....	68
3.4.2 Ідентифікація продуктів взаємодії досліджуваних лікарських речовин з сульфоталеїновими барвниками.....	70
ВИСНОВКИ.....	77
РОЗДІЛ 4 РОЗРОБКА МЕТОДИК КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ ЗА ЇХ РЕАКЦІЯМИ З СУЛЬФОФТАЛЕЇНОВИМИ БАРВНИКАМИ.....	79
4.1 Методика визначення питомого показника поглинання лікарських речовин за їх реакціями з сульфоталеїновими барвниками.....	79
4.2 Методики кількісного визначення досліджуваних лікарських речовин у складі лікарських форм.....	81
ВИСНОВКИ.....	93
РОЗДІЛ 5 ВАЛІДАЦІЯ МЕТОДИК КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН, ЩО МІСТЯТЬ ВТОРИННУ АЛІФАТИЧНУ АМІНОГРУПУ.....	94
5.1 Прогноз повної невизначеності методики.....	94
5.2 Специфічність.....	97
5.3 Лінійність.....	101
5.4 Діапазон застосування.....	106
5.5 Прецизійність.....	107

5.6 Правильність.....	111
5.7 Робасність.....	118
ВИСНОВКИ.....	120
ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ.....	122
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	124
ДОДАТКИ.....	148

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ВЕРХ	– високо-ефективна рідинна хроматографія;
БАБ	– бета-адреноблокатори;
БКП	– бромкрезоловий пурпурний;
БКЗ	– бромкрезоловий зелений;
БТС	– бромтимоловий синій;
ДФУ	– Державна Фармакопея України;
ДМФА	– диметилформаїд;
ІЧ	– інфрачервоний;
МКЯ	– методи контролю якості;
РСЗ	– розчин стандартного зразку;
УФ	– ультрафіолетовий;
ТС	– тимоловий синій;
ЯМР	– ядерний магнітний резонанс;
ВР	– (British Pharmacopoeia) Британська фармакопея;
JP	– (Japanese Pharmacopoeia) Японська фармакопея;
USP	– (United States Pharmacopoeia) Фармакопея США.

ВСТУП

Актуальність теми

Лікарські засоби, що впливають на адренергічну систему, відносяться до однієї з найбільш важливих груп фармакологічних препаратів, оскільки ці засоби приймають активну участь у регуляції життєво-важливих функцій організму: артеріального тиску, серцевого викиду, просвіту судин, регуляції вуглеводного обміну та ін. Препарати цієї групи знаходять широке використання для усунення термінальних станів (шоки, в тому числі, анафілактичний), колапс, бронхоспазм, загроза передчасних пологів, гіпоглікемічна кома, тощо). Також ці препарати знайшли використання в очній практиці та при реанімаційних заходах. У той же час у сучасному фармацевтичному світі спостерігається чітка тенденція до збільшення асортименту лікарських засобів – впроваджуються нові лікарські засоби, розробляються нові лікарські форми, зростає асортимент препаратів-генериків.

Важлива задача фармацевтичного аналізу – забезпечення якості ліків на усіх етапах їх життєвого циклу. Важливим елементом у цій системі є контроль якості ліків, який здійснюється сучасними фізико-хімічними методами аналізу, у тому числі спектрофотометрією у видимій області спектра. Безперечні переваги цього абсорбційного методу – це висока точність аналізу, експресність, зручність у виконанні, а також доступність відповідного обладнання.

Головною проблемою даного методу є пошук нових специфічних аналітичних реагентів. Сульфогфталейнові барвники, більш відомі як кислотно-основні індикатори, знайшли місце в спектрофотометричному аналізі в якості чутливих та доступних кольорореагентів. Однак, недостатньо досліджена можливість їх використання для кількісного визначення лікарських речовин, що впливають на адренергічну систему. Отже, розробка чутливих, експресних, простих у виконанні спектрофотометричних методик кількісного визначення лікарських речовин у лікарських препаратах із застосуванням

сульфоталеїнових барвників 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 вторинну аліфатичну аміногрупу.

Мета і зазачі дослідження

Метою роботи була розробка високочутливих, простих у виконанні, валідованих та економічних спектрофотометричних методик кількісного визначення лікарських речовин, що містять вторинну аліфатичну аміногрупу на основі їх реакцій з сульфоталеїновими барвниками. Для реалізації поставленої мети вирішувались такі задачі:

- ✓ провести аналіз літературних джерел щодо кількісного визначення лікарських речовин, що містять вторинну аліфатичну аміногрупу, а також використання сульфоталеїнових барвників у спектрофотометричному аналізі;
- ✓ встановити оптимальні умови перебігу реакцій аналізованих лікарських речовин, що містять вторинну аліфатичну аміногрупу з сульфоталеїновими барвниками та розрахувати аналітичні показники чутливості реакцій;
- ✓ розробити спектрофотометричні методики кількісного визначення лікарських речовин, що містять вторинну 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.

Об'єкт дослідження. Розробка та валідація спектрофотометричних методик кількісного визначення лікарських речовин, що містять вторинну аліфатичну аміногрупу, у складі лікарських препаратів.

Предмет дослідження. 9 субстанцій, що містять вторинну аліфатичну аміногрупу, 30 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. Спектри реєстрували за допомогою спектрофотометра SPECORD 200, обробку 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: неперервних змін та насичення. Побудову графіків та розрахунок параметрів лінійної залежності проводили з використанням програми «Sigma Plot v.11.0». ІЧ-спектри реєстрували на спектрофотометрі Bruker Alpha в області 7500-400 cm^{-1} з використанням приставки ATR (пряме введення речовини). Хромато-мас-спектри – на вискоефективному рідинному хроматографі Agilent 1260 Series, оснащеному діодно-матричним та мас-селективним детектором Agilent LC/MSD SL. ^1H ЯМР-спектри – на спектрофотометрі ядерного магнітного резонансу Bruker 500. Встановлення температури плавлення проводили на приладі Stuart SMP30 Melting Point Apparatus.

Наукова новизна одержаних результатів

Вперше експериментально доведено та науково обґрунтовано можливість застосування сульффталеїнових барвників у практиці фармацевтичного аналізу для кількісного спектрофотометричного визначення мезатону, сальбутамолу та деяких β -адреноблокаторів, а саме атенололу, бетаксолу, гідрохлориду, бісопрололу тартрату, карведілолу, метопрололу тартрату, небіволулу гідрохлориду та соталолу гідрохлориду.

Вперше встановлено оптимальні умови перебігу реакцій сульфоталеїнових барвників з 9 лікарськими речовинами, що містять вторинну аліфатичну аміногрупу, а саме БКЗ з бетаксолулу гідрохлоридом, сальбутамолу сульфатом та фенілефрину гідрохлоридом, БКП з метопрололу тартратом, карведілолом та соталолу гідрохлоридом, БТС з атенололом та небіволулу гідрохлоридом, а також ТС з бісопрололу фумаратом, розраховано аналітичні показники чутливості реакцій. Розроблено методики кількісного визначення в 30 лікарських формах промислового виготовлення, визначено валідаційні характеристики, які доводять коректність запропонованих методик.

Визначено коефіцієнти стехіометричних співвідношень «реагент – лікарська речовина» для реакцій сульфоталеїнових барвників з лікарськими речовинами, що містять вторинну аліфатичну аміногрупу, виділено та ідентифіковано продукти реакції, запропоновано ймовірний хімізм реакцій.

Наукова новизна одержаних результатів підтверджена 3 патентами України на корисну модель (дод В).

Практичне значення одержаних результатів

Розширено асортимент аналітичних реагентів для кількісного спектрофотометричного аналізу лікарських речовин, що містять вторинну аліфатичну аміногрупу. Розроблено та валідовано нові, чутливі та прості у виконанні методики кількісного визначення 9 досліджуваних сполук, що містять вторинну аліфатичну аміногрупу, у складі 30 лікарських форм промислового виробництва.

Результати досліджень знайшли застосування в науково-педагогічному процесі Запорізького державного медичного університету, Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського, Національного фармацевтичного університету, Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика (дод. Е).

Розроблений спосіб спектрофотометричного визначення карведілолу в таблетках впроваджено в роботу лабораторії з контролю якості лікарських

засобів та медичної продукції Державної служби з лікарських засобів у Запорізькій області (дод. Д).

«Спосіб кількісного визначення мезатону в розчині для ін'єкцій» включено до галузевого реєстру нововведень МОЗ України за 2014 р. (реєстр № 173/1/14) (дод. Ж).

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 мети та задач, обговорення результатів проведені з науковим керівником.

Апробація результатів дисертації

Основні результати досліджень доповідалися та обговорювалися на 80-й ювілейній науково-практичній конференції студентів і молодих вчених за участю міжнародних спеціалістів «Працюємо, творимо, презентуємо» (Івано-Франківськ, 2011), Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених і студентів з міжнародною участю «Сучасні аспекти медицини і фармації 2011» (Запоріжжя, 2011), 72 Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю, присвячена дню науки «Медицина та фармація ХХІ століття – крок у майбутнє» (Запоріжжя, 2012), I Міжнародній інтернет-конференції молодих вчених і студентів «Современные достижения медицинской и фармацевтической науки» (Запоріжжя, 2012), I Регіональній науково-практичній конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Актуальні проблеми та перспективи розвитку природничих наук» (Запоріжжя, 2012), X Міжнародній студентській науковій конференції «Перший крок в науку – 2013» (Вінниця, 2013), XVII Міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених (Тернопіль, 2013), Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених і

студентів з міжнародною участю «Сучасні аспекти медицини і фармації 2013» (Запоріжжя, 2013), науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 2013), V (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», присвячена 110-річчю з дня становлення фармацевтичної освіти на півдні України (Одеса, 2013), II Регіональній науково-практичній конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Актуальні проблеми та перспективи розвитку медичних, фармацевтичних та природничих наук» (Запоріжжя, 2013), Українській науково-практичній конференції, присвяченій 100-річчю з дня народження доктора хімічних наук, професора Петюніна П. О. «Проблеми синтезу біологічно-активних речовин та створення на їх основі лікарських субстанцій» (Харків, 2014), 74 Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених і студентів з міжнародною участю, присвячена Дню науки «Сучасні аспекти медицини і фармації 2014» (Запоріжжя, 2014), Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених і студентів з міжнародною участю «Сучасні аспекти медицини і фармації 2015» (Запоріжжя, 2015), II Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Аналітична хімія у фармації» (Харків, 2016), Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених і студентів з міжнародною участю, присвячена Дню науки «Сучасні аспекти медицини і фармації 2016» (Запоріжжя, 2016).

Апробацію роботи проведено 23 червня 2016 року на спільному засіданні професорсько-викладацького складу кафедр аналітичної хімії; біологічної хімії; органічної та біоорганічної хімії; фармацевтичної хімії; фармакогнозії, фармакології та ботаніки; токсикологічної і неорганічної хімії; управління і економіки фармації, медичного та фармацевтичного товарознавства; фізикоїдної хімії Запорізького державного медичного університету.

Публікації

За результатами дисертаційних досліджень опубліковано 26 наукових робіт, у тому числі 6 статей у виданнях, що входять до міжнародних наукометричних баз (4 статті у фахових виданнях України, 2 статті у виданнях іноземних держав), 3 патенти України на корисну модель, 16 тез доповідей, 1 нововведення.

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

1.1 Застосування сульфопфталейнових барвників у
спектрофотометричному аналізі лікарських засобів

Сульфопфталейнові барвники – синтетичні речовини, що є похідними трифенілметану. Їх розчинні у воді натрієві солі, а також кислотні форми вже майже сторіччя добре відомі у хімічному аналізі і широко використовуються в якості рН-індикаторів через високу інтенсивність забарвлення та здатність його різко змінювати в залежності від кислотності розчину [1]. Це відбувається в результаті прототропної таутомерії та двостадійної дисоціації барвника, як показано на прикладі бромфенолового синього на рис. 1.1.

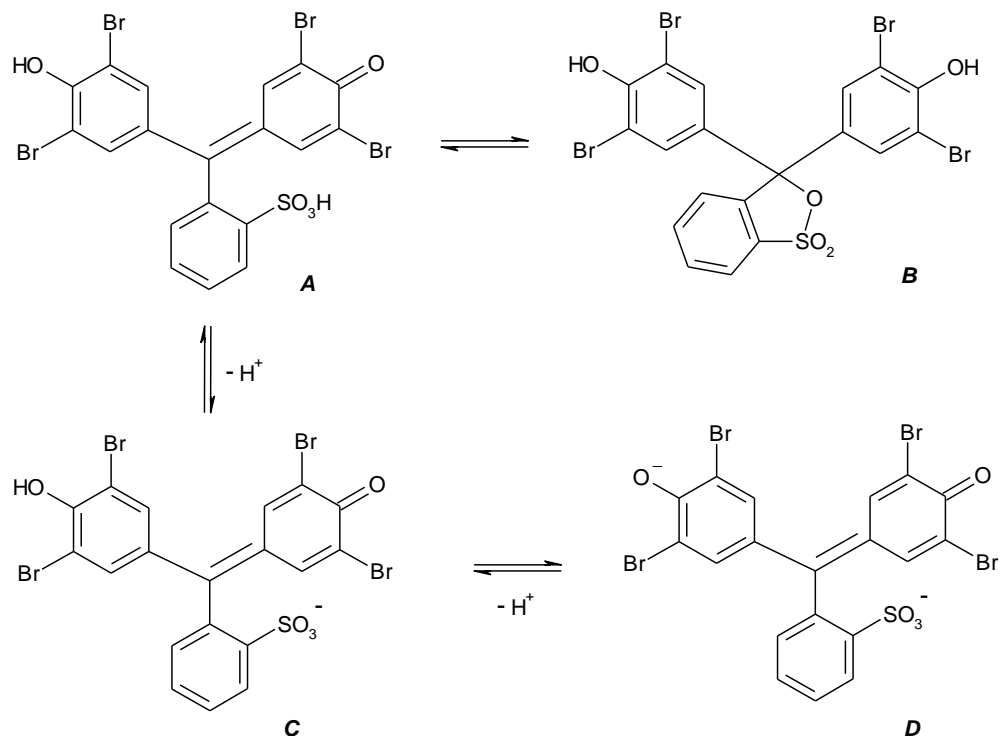


Рис. 1.1. Таутомерні форми бромфенолового синього: А – хіноїдна, В – сульфонова, С та D – дисоційовані хіноїдні форми барвника

Останнім часом дана група індикаторів все частіше ефективно використовується у кількісному спектрофотометричному аналізі лікарських препаратів різноманітних фармакологічних груп. Це обумовлено наявністю в молекулах сульффталеїнових барвників рухомих протонів, які надають їм здатність вступати в реакції з лікарськими речовинами основного характеру, що мають в своїх молекулах центри з надлишком електронної густини. В результаті взаємодії утворюються забарвлені іонні асоціати, що можливо покласти в основу розробки спектрофотометричних методик кількісного визначення лікарських речовин з поглинанням у видимій області спектра.

Аналіз літературних даних показав, що більшість спектрофотометричних методик, в основі яких лежать реакції між лікарськими речовинами та сульффталеїновими барвниками у якості кольорореагентів, включають процедуру екстракції забарвлених продуктів реакцій за допомогою органічних розчинників.

Для кількісного визначення лікарських препаратів групи антидепресантів описано багато екстрактивних спектрофотометричних методик. Наприклад Ulu S. T. та Aydogmus Z. встановили, що тіанептин у кислотному буферному середовищі здатний утворювати іонні асоціати з такими сульффталеїновими барвниками, як БКЗ, БФС та БТС. Утворені продукти реакцій екстрагують хлороформом та вимірюють оптичну густину забарвлених розчинів. Розроблену методику можна використовувати як для аналізу лікарських препаратів, так і для аналізу біологічних рідин [2].

Також описано способи визначення таких антидепресантів як сертралін, флуоксетин та венфлаксин. Автори вважають, що за рахунок наявності в структурі зазначених препаратів основних центрів з надлишком електронної густини, вони утворюють з деякими сульффталеїновими барвниками у кислотному буферному середовищі іонні асоціати, розчинні у хлороформі. Безперечна перевага описаного способу полягає у тому, що допоміжні речовини, які входять до складу досліджуваних лікарських форм абсолютно не впливають на результати вимірювань [3].

Для кількісного аналізу тразодону гідрохлориду Sudhir Kumar R. зі співавторами в якості кольорореагентів використовували БКП та БТС. У подальшому забарвлені продукти екстрагували хлороформом та вимірювали абсорбцію за довжини хвилі 423 та 408 нм відповідно. Авторами встановлено, що стехіометричні співвідношення реагуючих компонентів становлять 1:1 для обох продуктів реакцій [4].

Вченими з Istanbul University (Туреччина) запропоновано три спектрофотометричні методики встановлення кількісного вмісту пароксетину гідрохлориду в таблетках, в основі яких лежать реакції взаємодії зазначеної лікарської речовини з деякими сульфогталеїнами [5]. Оpubлікована також робота вчених з Cairo University (Єгипет), у якій для визначення тразодону, амінептину і амітриптиліну у лікарських формах застосовано БКЗ у якості кольорореагенту [6].

Al Kaf1 A. та Gouda A. A. вивчили оптимальні умови взаємодії тадалафілу з БКЗ, в результаті чого було встановлено, що між цими сполуками у водно-метанольному середовищі при рН 3,5 формується іонний асоціат, який добре екстрагується хлороформом. Оптичну густину отриманого забарвленого розчину вимірювали за довжини хвилі 410 нм [7].

В літературі описано чималу кількість спектрофотометричних методик кількісного визначення антибіотиків фторхінолонового ряду, в основі яких лежать реакції з сульфогталеїновими барвниками.

Так описано методику кількісного визначення енрофлоксацину та пефлоксацину, на основі реакції з БФС у буферному розчині при рН 2,3 та 2,5 відповідно. З структурних формул цих лікарських речовин видно, що вони мають в своїх молекулах піперазинові залишки, що надають їм здатність формувати іон-парні солі з БФС, який виступає донором протонів. Отримані продукти екстрагують хлороформом. Вченими експериментально доведено, що за такими валідаційними характеристиками як точність та правильність дана методика є достатньо відтворюваною, а статистичне порівняння її з іншими описаними в літературі методиками, не виявило значущої різниці точності та

правильності вимірювань. Автори також встановили, що екстракція забарвлених продуктів взаємодії досліджуваних фторхінолонів з БФС хлороформом дозволяє виключити вплив допоміжних речовин на перебіг реакції. Таким чином, можливість проводити кількісний аналіз зазначених антибіотиків у присутності допоміжних речовин є беззаперечною перевагою вказаної методики, незважаючи на значну тривалість її виконання [8].

Для визначення пефлоксацину в таких лікарських формах, як таблетки та ін'єкційні розчини, рекомендують методику, яка заснована на зворотній екстракції БФС після його взаємодії з даним антибіотиком. Автори пропонують проводити реакцію пефлоксацину з сульфоталеїновим реагентом у середовищі буферного розчину (рН 3,0), утворений іонний асоціат екстрагувати за допомогою хлороформу, отриманий екстракт відділяти та струшувати з водним буферним розчином (рН 5,2). При цьому, через зменшення кислотності, продукт реакції руйнується і реагент переходить у водну фазу, абсорбцію якої вимірювали за довжини хвилі 590 нм. Але незважаючи на доведену авторами відтворюваність запропонованої методики, вона обтяжена багатостадійністю та складністю виконання [9].

Єгипетські вчені з Benha University та Zagazig University для аналізу кількісного вмісту у таблетках гатифлоксацину також застосували екстракційну спектрофотометрію і у якості реагентів використали такі сульфоталеїнові барвники, як БКЗ, БКП, БФС та БТС. Методика ґрунтується на тому, що в середовищі фталатного буферу (рН 3,0–3,4) використані сульфоталеїни існують в аніонній формі, а досліджувана лікарська речовина – у протонованій. Це створює умови до виникнення між цими молекулами іонних асоціатів. Стехіометричні співвідношення речовин в продуктах реакцій становлять 1:1 [10].

Вчені Ashour S. Та Al-Khalil R. пропонують проводити кількісне визначення левофлоксацину в таблетках, вимірюючи оптичну густину забарвлених іонних асоціатів, утворених з БФС за довжини хвилі 424 нм або з БКЗ при 428 нм. Авторами експериментально доведено високу чутливість

запропонованих методик. Слід відмітити, що стехіометричні співвідношення реагуючих левофлоксацину та БФС встановили на рівні 1:1, а для левофлоксацину та БКЗ – 1:2 [11]. Також в літературі описаний спосіб кількісного аналізу таблеток спарфлоксацину, в основі якого лежить реакція з БТС [12], а вчені Suslu I. та Tamer A. застосували екстрактивну спектрофотометрію для визначення еноксацину в таблетках з визначенням оптичної густини отриманих іонних асоціатів з БФС і БКП [13].

Sevgi Tatar Ulu запропонував застосовувати сульфоталеїни у трьох високочутливих екстрактивних методиках кількісного визначення протипухлинного препарату фінастериду в таблетках. Розроблені методики були валідовані за такими показниками, як специфічність, лінійність та прецизійність у порівнянні з референтною методикою на основі ВЕРХ. Отримані результати добре узгоджуються між собою [14].

В літературі описано методики кількісного визначення алфуозину гідрохлориду на основі реакції з сульфоталеїновими барвниками – БКП, БФС та БТС. В ході роботи було встановлено що оптимальним значенням рН для перебігу реакції є 2,2, 2,4 та 2,6 відповідно, що досягається додаванням буферних розчинів. Отримані продукти реакцій екстрагують хлороформом та вимірюють оптичну густину забарвлених розчинів. Доведено, що допоміжні речовини, що входять до складу лікарських форм не впливають на результати досліджень [15].

Для кількісного аналізу блокатора кальцієвих каналів – лерканідипіну в лікарських формах було використано його здатність вступати у взаємодію з такими сульфоталеїнами як БТС та БКЗ. Ці способи, як і попередні, передбачають екстракцію утворених іонних асоціатів органічним розчинником. Оптичну густину отриманих розчинів вимірюють за довжини хвилі 417 та 416 нм відповідно. Оптимальними екстрагентами у даному випадку є дихлорметан, 1,2-дихлоретан та хлороформ [16].

Rahman N. зі співавторами наводять методику кількісного визначення ще одного блокатора кальцієвих каналів – ніфедипіну у складі лікарських форм. На

першому етапі автори проводять реакцію відновлення нітрогрупи до первинної аміногрупи під дією цинкового пилю у середовищі хлоридної кислоти. На наступному етапі у кислому середовищі протонується аміногрупа і відбувається реакція з сульфопфталеїновими барвниками, в результаті якої утворюються забарвлені іонні асоціати. Продукти реакції екстрагують хлороформом та вимірюють абсорбцію при 415 нм [17].

Ті ж автори в іншій роботі повідомляють про результати визначення дилтіазему за оптичною густиною продуктів його взаємодії з БТС, БФС і БКЗ. У всіх випадках вони добре екстрагувались хлороформом і мали максимум поглинання за довжини хвилі 415 нм. Слід також відмітити, що у ряді БТС – БКЗ – БФС чутливість аналітичних реакцій зростала. Встановлене експериментально стехіометричне співвідношення реагент–дилтіазем визначене як 1:1 [18].

Значна кількість робіт присвячена кількісному визначенню антигістамінних препаратів, в основі яких лежать екстрактивно-фотометричні методики на основі реакції з сульфопфталеїновими барвниками. Наприклад, описано методику, в якій для аналізу препаратів оксомемазину гідрохлориду було використано здатність його до взаємодії з БКЗ, БКП та БФС. Реакція відбувалась у середовищі ацетатного буферу з рН 3,6, 3,4 та 4,0 відповідно. Утворені комплекси екстрагували хлороформом та вимірювали їх оптичну густину за довжини хвилі 405 нм у всіх випадках [19].

Вчені з Karnatak University провели аналогічні дослідження для цетиризину гідрохлориду. Виявилось, що в кислому середовищі він утворює іонні асоціати з БКП або БФС, які добре екстрагуються хлороформом. Максимуми поглинання отриманих екстрактів знаходяться у довжинах хвиль 409 та 414 нм відповідно. Автори вивчили вплив різних факторів на оптичну густину продуктів реакції та встановили підпорядкованість закону Бера у широкому діапазоні концентрацій [20].

Ще одна робота з екстрактивної спектрофотометрії у видимій області спектра із застосуванням сульфопфталеїнів була проведена Azza A. Gazy з

співавторами. У ній чотири антигістамінних речовини – фексофенадін, цетиризин, лоратадин та акривастин у субстанціях та лікарських формах визначають за реакцією утворення асоціатів з БКП з наступною переекстракцією у хлороформ. Дослідниками вивчено оптимальні умови проведення цих реакцій [21].

Для кількісного аналізу дифенгідраміну гідрохлориду описано проточно-ін'єкційну спектрофотометрію. В основі методики лежить реакція утворення іонного асоціату досліджуваної речовини з БКЗ у середовищі буферного розчину з рН 3,0. Продукт реакції кількісно екстрагується хлороформом, а надлишок БКЗ у водному шарі визначається після ін'єкції у потік 0,01 М розчину бури. Абсорбцію потоку контролюють за 610 нм. Графік залежності площі піку поглинання від концентрації дифенгідраміну має високі показники лінійності, а результати вимірювань добре корелюються з референтною ВЕРХ-методикою [22].

Дві високочутливі та селективні методики визначення лопераміду за присутності продуктів його деградації запропонували El Sherif Z. A. та співавтори, використовуючи для розробки БТС і БФС в якості аналітичних реагентів [23]. Лоперамід окислювали перманганатом калію у лужному середовищі, у результаті чого відбувалася його повна деградація, що підтверджувалося методом ВЕРХ. При додаванні до проб отриманих продуктів деградації сульфоталеїнових барвників не було виявлено їх взаємодії, що свідчило про високу специфічність запропонованих методик.

Erk N. розробив спосіб кількісного спектрофотометричного визначення індинавіру в субстанції та лікарських формах за реакціями з БКП та БТС [24].

Для кількісного визначення гіосцину бутилброміду та фамцикловіру було розроблено ряд екстрактивних методик аналізу, у яких в якості кольорореагентів були застосовані сульфоталеїнові барвники. Оптимальними екстрагентами забарвлених продуктів реакції між досліджуваними речовинами та реагентами після проведення дослідження було обрано хлороформ та дихлорметан. Також у ході експерименту встановлено, що чутливість реакції

при взаємодії реагентів з гіосцином зростала у ряді БФС – БКЗ – БТС – БКП, а з фамцикловіром – у ряді БФС – БКЗ – БКП – БТС [25].

Для кількісного аналізу етидокаїну було обрано БКЗ, у середовищі буферного розчину з рН 4,6. Забарвлений продукт реакції екстрагували хлороформом і вимірювали оптичну густину при 410 нм. Після обробки отриманого екстракту 30% розчином триетаноламіну в 95% етанолі створювалось лужне середовище, після чого розчин змінював забарвлення і мав максимум світлопоглинання при 625 нм [26].

У літературі описано ще певну кількість екстрактивних спектрофотометричних методик, у яких лікарські речовини різних хімічних та фармакологічних груп кількісно визначають за забарвленими іонними асоціатами, що утворилися в результаті взаємодії з сульфогфталейновими барвниками [27–31].

Незважаючи на переваги, описані вище методики мають ряд недоліків – вони довготривалі у виконанні, обтяжені стадією екстрагування, розділення, можливе утворення емульсій, що в свою чергу може призводити до зниження відтворюваності результатів аналізів. Таких недоліків позбавлені неекстрактивні спектрофотометричні методики, що також у свої основі мають здатність сульфогфталейнових барвників до формування іонних асоціатів з лікарськими речовинами безпосередньо в середовищі органічних розчинників.

Так, вчені з Karnatak University, для спектрофотометричного визначення селективного бета-блокатору ацебутололу успішно застосували два сульфогфталейнових барвники – БТС та БКЗ без екстрагування продуктів реакції. Взаємодія відбувається у хлороформному розчині, при цьому утворюються іонні асоціати жовтого кольору, що мають максимуми поглинання при 415 нм та 412 нм відповідно [32].

Shaoru Liu зі співавторами запропоновано кілька методик кількісного визначення вітаміну В₁, у яких в якості реагентів застосовані сульфогфталейнові барвники. Оптимізувати умови аналізу у цьому випадку дозволило застосування солюбілізуючих агентів – полівінілового спирту, емульгаторів ОР,

Triton X-100 та Твіну-80. Вони значно підвищують розчинність забарвленого продукту аналітичної реакції у воді [33].

El-Yazbi F. A. зі співавторами наводять методику кількісного визначення нізатидіну з БКП у середовищі органічного розчинника [34].

Onal A. у своїй роботі [35] для кількісного аналізу антидіабетичних лікарських речовин – розіглітазону та метформіну запропонував дві прямі спектрофотометричні методики, в основі яких лежить реакція утворення іонних асоціатів з БКЗ.

Описано спосіб спектрофотометричного визначення карведілолу в лікарських формах на основі реакції з БТС та БКЗ. Реакції перебігають в хлороформі, а максимуми світлопоглинання лежать у межах 411 та 414 нм відповідно [36]. Крім цього вчені розробили методики кількісного аналізу інших бета-блокаторів, а саме, атенололу, тимололу і надололу, що також реагують з сульфоталеїнами у хлороформному середовищі з утворенням іонних асоціатів з максимумами поглинання за довжини хвилі 415 нм [37].

Описано спектрофотометричні методики кількісного визначення циннаризину з використанням у якості реагентів БКЗ, БКП та БФС. Ці методики, запропоновані Abdine H. зі співавторами, засновані на його здатності утворювати іонні асоціати з сульфоталеїновими барвниками, були успішно застосовані для кількісного визначення циннаризину у лікарських формах [38].

Просту спектрофотометричну методику кількісного визначення пропранололу гідрохлориду у складі лікарських форм та в біологічних рідинах запропонував KN Prashanth зі співавторами. В основі методу лежить реакція досліджуваної речовини з сульфоталеїновими барвниками – БТС, БКП та БКЗ з утворенням забарвлених іонних асоціатів [39].

Велику кількість аналітичних методик із застосуванням сульфоталеїнових барвників створено в стінах Запорізького державного медичного університету. Бурлака Ю. В. з колегами розробили спектрофотометричні методики для аналізу деяких протигрибкових препаратів [40–41, 44] та цефалоспоринових антибіотиків [42–44] на основі реакції з цими

кольорореагентами, вивчили оптимальні умови перебігу фотометричних реакцій, провели валідацію розроблених методик згідно ДФУ.

Загороднім С. Л. зі співавторами розроблено спектрофотометричні методики кількісного визначення антигістамінних [45–46, 50] та психотропних [47–50] лікарських засобів. В основі зазначених методик лежить їх здатність вступати в реакції з сульфопфталеїновими барвниками. Було вивчено оптимальні умови перебігу фотометричних реакцій між досліджуваними лікарськими речовинами та зазначеними вище реагентами, проведено валідацію розроблених методик згідно ДФУ.

Огляд літературних даних показав, що більшість досліджень, пов'язаних із застосуванням сульфопфталеїнових барвників у фармацевтичному аналізі лікарських речовин різних хімічних та фармакологічних груп присвячена розробці спектрофотометричних методик зі стадією екстракції того чи іншого компонента реакційної суміші. Крім того, слід зазначити, що недостатньо вивчена можливість використання даної групи реагентів в аналізі лікарських засобів, що впливають на адренергічну систему організму. Таким чином перспективним напрямком досліджень в галузі фармацевтичного аналізу є застосування сульфопфталеїнових барвників для розробки нових методик кількісного визначення лікарських речовин, що містять вторинну аліфатичну аміногрупу. З точки зору простоти виконання та експресності аналізу, безперечною перевагою спектрофотометричних методик є відсутність стадії екстракції при виконанні експерименту.

1.2 Методи аналізу лікарських речовин, що містять у своєму складі вторинну аліфатичну аміногрупу

Блокатори (антагоністи) β -адренорецепторів успішно використовуються в кардіології та інших областях медицини вже близько 40 років. На даний момент створено більше 80 препаратів подібної дії, але далеко не всі вони мають широке клінічне застосування. У науковій літературі докладно обговорюються

фармакологічні властивості, особливості фармакокінетики та фармакодинаміки β -адреноблокаторів, що знайшло відображення у відповідних оглядах [51, 52].

Історичний розвиток методів кількісного визначення бета-адреноблокаторів тісно пов'язаний з розвитком самих аналітичних методів. Перші дослідження з 1965 р. до середини 1980-х років, які вивчали оптичні властивості БАБ, стосуються подальшого їх застосування у кількісному аналізі методами спектрофотометрії і спектрофлюориметрії [53].

Кількісний вміст БАБ в лікарських засобах найчастіше визначають методами хроматографії, переважно газорідинної хроматографії та високо-ефективної рідинної хроматографії. Так з 1970 р. розвивається ГРХ для аналізу даної групи лікарських засобів, а 1980-і роки характеризуються вражаючим підйомом ВЕРХ. На теперішній час розроблені прості, точні, чутливі та економічні методи – рідинна хроматографія [54], поєднання ТШХ з денситометричним визначенням [55], ВЕРХ [56–68], поєднання ВЕРХ з твердофазною екстракцією [69], газова хроматографія [70], які застосовуються для визначення діючих речовин як у складі лікарських форм, так і в біологічних рідинах та матеріалах.

До інших методів дослідження БАБ відносять електрохімічні методи, які включають в себе капілярний електрофорез [71, 72] та диференційно-імпульсну полярографію [73]. Для кількісного визначення бісопрололу fumarату та атенололу у складі лікарських форм запропоновано вольтамперометрію [74, 75].

На сьогоднішній момент, у літературі висвітлюється достатня кількість наукових робіт, присвячених кількісному визначенню БАБ методом абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій і видимій областях з використанням різних розчинників залежно від розчинності досліджуваних сполук. Так, кількісне визначення атенололу в субстанції автори пропонують проводити у метанольному розчині при довжині хвилі 275 нм. Лінійність концентрацій спостерігається в діапазоні від 2,5 мкг/мл до 17,50 мкг/мл [76].

Кількісний вміст бетаксолулу гідрохлориду в субстанції і лікарських формах автори рекомендують визначати методом прямої спектрофотометрії водного розчину за довжини хвилі 224 нм. Розроблена методика є точною, економічною та швидкою, так як лінійність методики спостерігалася в діапазоні концентрацій 2–200 мкг/мл діючої речовини [77].

У комбінованих лікарських формах, наприклад, для одночасного визначення карведілолу і гідрохлоротіазиду розроблено дві прості, швидкі і економічні спектрофотометричні методики, які ґрунтуються на подвійному аналізі довжин хвиль або на використанні методу Q-аналізу (графічне співвідношення поглинань) [78].

Атенолол за сумісної присутності з іншими активними фармацевтичними інгредієнтами (наприклад, аторвастатином) у таблетках визначають методом абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій області, вимірюючи оптичну густину атенололу і аторвастатину в їх відповідних максимумах при 225,0 нм і 241,0 нм. Лінійність атенололу і аторвастатину спостерігалася в діапазоні 5–30 мкг/мл і 2–12 мкг/мл відповідно [79].

У таблетках карведілол визначають методом прямої спектрофотометрії метанольних розчинів за довжини хвилі 241 нм. Методика лінійна в межах концентрацій 50–150 % [80]. При зміні розчинника на суміш ацетонітрилу і води у співвідношенні 60:40 максимум поглинання спостерігається за довжини хвилі 332 нм [81].

Найбільш розповсюдженим для аналізу БАБ у складі лікарських препаратів є метод абсорбційної спектрофотометрії у видимій області спектра, який використовується після попереднього отримання забарвлених продуктів реакції або визначенні надлишкової кількості реагенту.

Авторами [82] запропонований швидкий та простий метод кількісного визначення атенололу в таблетках, який базується на реакції досліджуваної лікарської речовини з хлораніловою кислотою з утворенням стабільного комплексу, забарвлення якого вимірюють за довжини хвилі 530 нм.

Описано методику кількісного спектрофотометричного визначення атенололу на основі його реакції з 2,3-дихлор-5,6-диціано-1,4-бензохіноном. Оптичну густину отриманих забарвлених комплексів визначали при 590 нм [83].

Інші автори запропонували спектрофлуориметричне визначення атенололу в таблетках і в плазмі крові, з використанням 9,10-диметоксіантрацен-2-натрій сульфонату. Метод простий та чутливий і ґрунтується на реакції атенололу з флуорогенним реагентом 9, 10-диметокси-2-антраценсульфонатом в кислому середовищі. Утворені іонні пари екстрагуються хлороформом і флуоресценція екстрактів вимірюється при довжині хвилі 452 нм зі збудженням при 385 нм [84].

Описано спектрофотометричний метод кількісного визначення атенололу, який базується на утворенні забарвленого у червоний колір продукту з 4-хлор-7-нітро-2,1,3-бензоксадіазолом в метанолі з нагріванням при 70 °С протягом 45 хв. Максимум світлопоглинання продукту реакції спостерігається при 523 нм [85].

Прості, чутливі та експресні спектрофотометричні методики були розроблені для аналізу атенололу, тимололу малеату, пропранололу гідрохлориду, метопрололу тартрату, бетаксолулу гідрохлориду, левобунололу гідрохлориду та бісопрололу фумарату як у чистому вигляді, так і у складі лікарських форм. Методики базуються на реакціях цих препаратів з йодом та 7,7,8,8-тетраціанохінодиметаном, 2,3-дихлор-5,6-диціано-1,4-бензохіноном, тетраціаноетиленом, 2,3,5,6-тетрабром-1,4-бензохіноном (броманілом) та 2,3,5,6-тетрахлор-1,4-бензохіноном (хлоранілом). Оптичну густину отриманих комплексів вимірюють при 365 нм для йоду (в 1,2-дихлоретані), при 840, 420 та 470 нм для 7,7,8,8-тетра-ціанохінодиметану, тетраціаноетилену та 2,3-дихлор-5,6-диціано-1,4-бензохінону (в ацетонітрилі) відповідно. Підпорядкування основному закону світлопоглинання лежить у межах концентрацій досліджуваних речовин від 4 до 120 мкг/мл [86, 87].

Прості та чутливі спектрофлуориметричні та спектрофотометричні методики були розроблені для визначення ірбесартану та бісопрололу геміфумарату в таблетках. Обидві методики базуються на реакції між досліджуваними речовинами та 7-хлоро-4-нітробензен-2-окси-1,3-діазолом [88].

Тархановою О. О. зі співавторами розроблено спектрофотометричну методику кількісного визначення бісопрололу фумарату в таблетках. У якості кольорореагенту використовують розчин діазолу червоного ЖЖ в ацетоні. Оптичну густину забарвлених розчинів вимірюють у видимій області спектра при 381 нм [89].

D. Murali наводить спектрофотометричну методику кількісного визначення небіволулу в лікарських формах на основі реакції з 1,2-нафтохінон-4-сульфонатом у лужному середовищі та кобальтом тіоціанатом з максимумом світлопоглинання при 460 та 630 нм відповідно [90].

Для кількісного визначення атенололу описано дві спектрофотометричні методики кількісного визначення, які ґрунтуються на реакціях між лікарською речовиною та наступними реагентами – 2,3-ди-хлоро-5,6-диціано-1,4-бензохіноном, 2,4-динітрофенолом та 2,4,6-три-нітрофенолом [91, 92].

Подібну методику описано для визначення бісопрололу фумарату в таблетках. Для цього проводять реакцію між зазначеною лікарською речовиною та 2,3-дихлоро-5,6-диціано-1,4-бензохіноном у середовищі ацетонітрилу. Абсорбцію отриманих розчинів вимірюють за довжини хвилі 470 нм [93].

Прості неекстрактивні спектрофотометричні методики описано для визначення карведілолу. Методики базуються на реакціях між лікарською речовиною та йодом в середовищі ацетонітрилу, а також на реакціях утворення іонних асоціатів з сульфоталеїновими барвниками (БТС та БКЗ), в середовищі хлороформу [94, 95].

Реакція конденсації карведілолу з *n*-диметиламінобензальдегідом супроводжується отриманням забарвленого продукту з максимумом поглинання при довжині хвилі 601 нм. Інша реакція заснована на утворенні

комплексу з *n*-хлоранілом і характеризується наявним максимумом за довжини хвилі 662 нм [96].

Метопрололу тартрат вступає в реакцію з солями міді (II) при рН 6,0 з утворенням комплексу у буферному розчині Britton-Robinson. Розчини комплексу мають максимуми поглинання при 675 нм і підпорядковуються закону Бугера-Ламберта-Бера в діапазоні концентрацій 8,5–70 мкг/мл. Запропонована методика була успішно застосована для визначення цього препарату в таблетках [97].

Ще чотири простих та точних спектрофотометричних методики для кількісного визначення ацебутолу гідрохлориду, атенололу та пропранололу гідрохлориду наводить Gölcü A. зі співавторами. Методики базуються на вимірюванні оптичної густини отриманих забарвлених комплексів між лікарськими речовинами та солями Cu (II) та Co (II) [98].

Alina-Diana Panainte (Gudruman) зі співавторами наводять методику кількісного визначення бісопрололу в лікарських формах на основі реакції з пікриною кислотою. Оптичну густину отриманих забарвлених комплексів вимірюють при 420 нм. Підпорядкування основному закону світлопоглинання лежить у межах 5-120 мг/мл [99].

Для кількісного визначення атенололу запропоновано методику, в основі якої лежить реакція з нітропрусидом натрію в лужному середовищі. Оптичну густину забарвлених розчинів вимірюють при 495 нм. Підпорядкування основному закону світлопоглинання лежить у межах 0,5–30 мкг/мл [100].

За рахунок наявності ароматичного кільця, деякі БАБ легко вступають в реакцію бромовання дією бромат-бромідної суміші в кислому середовищі з подальшим визначенням надлишку броду. На цих властивостях запропоновано три простих і чутливих спектрофотометричні методики для визначення атенололу в субстанції і таблетках [101]. Автори [102] рекомендують визначати надлишок броду за допомогою метилового оранжевого, вимірюючи оптичну густину забарвленого розчину при довжині хвилі 520 нм. У випадку визначення

надлишку окисника взаємодією з індигокарміном, вимірювання оптичної густини здійснювали в максимумі при довжині хвилі 610 нм [103].

При визначенні бетаксололу гідрохлориду як окисник використовують натрію періодат. Формальдегід, що утворюється, визначають за реакцією з етилацетатом за присутності амонію ацетату. Отриманий хромоген жовтого кольору має максимум поглинання при 405 нм. Виявлено, що лінійна залежність методики спостерігається в діапазоні концентрацій 5–30 мкг/мл. У результаті розробки методики встановлено умови перебігу реакції, такі як концентрація натрію гідроксиду і натрію періодату, час, необхідний для окиснення, концентрації реагентів, і час для досягнення максимальної інтенсивності кольору. Цей метод може бути успішно використаний для аналізу бетаксололу в субстанції та офтальмологічних розчинах [104].

Метод, розроблений Hiremath, ґрунтується [105] на окисненні атенололу надлишком калію перманганату в лужному середовищі і визначенні реагенту, який не вступив у реакцію, спектрофотометричним методом за довжини хвилі 526 нм.

К. V. Kanna Rao зі співавторами розробили методику спектрофотометричного визначення бетаксололу гідрохлориду та метопрололу тартрату в лікарських препаратах. Це непрямий метод, який ґрунтується на окисненні лікарських речовин надлишком N-бромосукциніміду та визначенні його залишку за реакцією з сульфаніламідним реагентом. Оптичну густину отриманого комплексу вимірюють при 520 нм [106].

Більшість екстракційно-спектрофотометричних методик кількісного визначення БАБ, за рахунок наявності основного центру в молекулах, базуються на утворенні іонних асоціатів жовтого кольору з кислотно-основними барвниками.

Так в літературі описана проста екстрактивно-спектрофотометрична методика кількісного визначення бісопрололу з використанням у якості реагенту метилового оранжевого. Метод заснований на утворенні комплексу між бісопрололом та метиловим оранжевим у кислому середовищі, який потім

екстрагують дихлоретаном та вимірюють його оптичну густина при 427 нм. Межа виявлення та межа кількісного визначення становлять 0,20 та 0,66 мг/мл відповідно. Розроблену методику було валідовано [107].

Описано дві методики кількісного визначення бісопрололу фумарату у складі лікарських форм, які базуються на реакціях комплексоутворення з тропеоліном 00, подальшою екстракцією отриманих комплексів метиленхлоридом чи дихлорметаном та вимірюванням абсорбції отриманих розчинів у видимій області спектра [108, 109].

В літературі описані екстрактивно-спектрофотометричні методики визначення деяких БАБ у складі лікарських форм та в біологічних рідинах. В основі методик лежить реакція утворення забарвлених комплексів між досліджуваними речовинами (бісопролол, карведілол, пропранолол та телмісартан) та двома сульфоталеїновими барвниками (БФС та БКП) у кислому середовищі. Забарвлені розчини екстрагують метиленхлоридом та вимірюють оптичну густина при 402 нм [110].

Також описано спектрофотометричну методику кількісного визначення небівололу як у складі лікарських форм, так і в біологічних рідинах, засновану на реакції досліджуваної речовини з БФС, КЧ та БКП у кислому середовищі, з подальшою екстракцією отриманих комплексів хлороформом [111].

Просту спектрофотометричну методику описано для кількісного визначення атенололу та лозартану [112]. Метод базується на утворенні забарвлених комплексів між досліджуваними речовинами та розчином фероїну і метилового оранжевого у середовищі фосфатного буферного розчину з рН=7,0.

Фенілефрину гідрохлорид – 1-(мета-оксифеніл)-2-метиламіноетанолу гідрохлорид – синтетичний адrenomіметичний засіб. Стимулює α -адренорецептори, мало впливаючи на β -адренорецептори серця.

В літературі описано різні спектрофотометричні методики кількісного визначення мезатону у складі лікарських форм. Так Shama S. A. пропонує методику, яка заснована на утворенні забарвлених іонних асоціатів між

фенілефрину гідрохлоридом та алізарином, алізарином червоним та алізарином жовтим, з подальшим вимірюванням оптичної густини отриманих розчинів при оптимальній довжині хвилі [113].

Muszalska I. зі співавторами наводять спектрофотометричну методику кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду у багатокомпонентних лікарських формах, яка ґрунтується на основі реакції досліджуваної лікарської речовини з нінгідрином у сульфатній кислоті (1,127 кг/л). Діапазон застосування даної методики складає 50–150%. Методику було валідовано за такими характеристиками як лінійність, прецизійність та правильність [114].

Прості та чутливі методики для кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду в субстанції та у складі лікарських форм пропонує El-Mossalamy E. H. [115]. Обидві методики базуються на утворенні комплексів лікарської речовини з пікриною кислотою та *m*-динітробенzenом. Максимуми світлопоглинання отриманих продуктів реакції вимірюють при 497 та 560 нм для пікринової кислоти та *m*-динітробензену в середовищі ацетонітрилу відповідно.

Відомі методики спектрофотометричного визначення фенілефрину гідрохлориду в основі яких лежить реакція з 4-аміноантипірином за присутності калію гексаціаноферату (II), натрію періодату та міді (II) у середовищі тетраборатного буферного розчину (рН=9) відповідно [116–118].

Описано спектрофотометричні методики кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду в основі яких лежать реакції діазотування з *n*-нітроаніліном чи 2-амінобензотіазолом [119, 120].

Ibrahim S. Ahmed з Alaa S. Amin пропонують спектрофотометричний метод кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду в субстанції та лікарських формах, який ґрунтується на вимірюванні оптичної густини забарвленого комплексу між лікарською речовиною та гематоксиліном у лужному середовищі після 10 хв нагрівання при 65 °C [121].

Nabeel Sabeh Othman зі співавторами наводять непряму спектрофотометричну методику кількісного визначення фенілефрину

гідрохлориду в лікарських формах. Так, в результаті окисно-відновної реакції між лікарською речовиною та Fe (III) у кислому середовищі виділяється Fe (II), який вступає в реакцію з 2,2'-дипіридилем з утворенням червоного комплексу, який має максимум світлопоглинання при 523 нм [122].

Криванич О. В. зі співавторами наводять декілька спектрофотометричних методик кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду у складі лікарських форм. Так у якості кольорореагентів вони пропонують використовувати 2,6-дихлорхінон-4-хлорімід або 4-аміноантипирин у присутності калію феріціаніду. Цими ж авторами представлено дві спектрофотометричні методики в УФ-області спектра для визначення фенілефрину у складі комбінованих лікарських форм [123, 124–127].

В літературі описано ще декілька спектрофотометричних методик в УФ-області спектра для визначення фенілефрину гідрохлориду [128–129].

Окрім спектрофотометричних методик кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду в літературі зустрічаються й інші, зокрема кондуктометричне титрування [130], ВЕРХ [131–133], рідинна хроматографія [134] та капілярний електрофорез [135].

Сальбутамол – (*RS*)-2-трет-бутиламіно-1-(4-окси-3-оксиметил-феніл)-етанол – бронхорозширюючий засіб, в терапевтичних дозах стимулює β_2 -адренорецептори бронхів, кровоносних судин та м'язів матки. Практично не впливає на β_1 -адренорецептори серця.

G. G. Mohamed зі співавторами запропонували спектрофотометричну методику для кількісного визначення сальбутамолу в субстанції та різноманітних лікарських формах, яка базується на реакції між діючою речовиною та 2,6-дихлорохінону хлорімідом та 7,7,8,8-тетраціанохінодиметаном, з подальшим вимірюванням оптичної густини забарвлених розчинів [136].

Простий спектрофотометричний спосіб кількісного визначення сальбутамолу в лікарських формах наводить Harshit Narmadashankar Pandya. В основі методу лежить реакція між сальбутамолом та β -циклодекстрином, в

результаті якої утворюється забарвлений комплекс з максимумом світлопоглинання при 609 нм [137].

Mohammed S. Al-Enizzi зі співавторами рекомендують для визначення сальбутамолу, а також деяких інших лікарських засобів спектрофотометричну методику, в основі якої лежить реакція між досліджуваними лікарськими речовинами та *o*-хлоранілом. Стехіометричні співвідношення між досліджуваними речовинами та реагентом складають 1:1, а відкривальні мінімуми знаходяться у межах 0,1432–1,3164 мкг/мл [138].

В літературі описані титриметричні та дві спектрофотометричні методики кількісного визначення сальбутамолу в лікарських формах, з використанням бромосукциніміду або бромат-бромідної суміші та двох барвників, родаміну Б та метиленового синього, у якості реагентів [139,140].

Деякі автори наводять спектрофотометричні методики кількісного визначення сальбутамолу в лікарських формах, в основі яких лежить реакція діазотування з *o*-нітроаніліном та *n*-нітроаніліном [141,142].

Isabel Dol та Moisés Knochen запропонували спектрофотометричне визначення сальбутамолу на основі реакції з 4-аміноантипірином в присутності калію гексаціаноферату (III) в лужному середовищі, з подальшим вимірюванням абсорбції продукту реакції при 500 нм [143].

Васюк С. О. було розроблено спектрофотометричну методику кількісного визначення сальбутамолу сульфату у складі лікарських форм, яка ґрунтується на реакції з діазолем червоним ЖЖ [144].

Огляд літератури показав й інші спектрофотометричні методики кількісного визначення сальбутамолу сульфату у складі лікарських форм як у видимій, так й в УФ-області спектра [145, 146].

Окрім спектральних методів аналізу описані й інші фізико-хімічні методи аналізу для визначення сальбутамолу як у чистому вигляді, так і у складі лікарських форм. Серед них ВЕРХ [147], хемілюмінісцентний аналіз [148], вольтамперометрія [149], капілярний електрофорез [150], кондуктометрія [151].

Проведений огляд літератури показав, що найбільш популярними для аналізу обраних лікарських речовин є хроматографічні методи у всіх різноманітних проявах (газова, рідинна, тонкошарова, ВЕРХ). Методи досить чутливі, точні і селективні, але великі витрати на матеріали знижують їх доступність. Не менш популярні оптичні методи. Але 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, таких як екстракція, регулювання рН або залучення дорогих важкодоступних реагентів. Визначення електрохімічними способами обтяжене використанням спеціально розроблених для кожного випадку електродів, які мають обмежений строк використання, що створює труднощі у рутинному аналізі лікарських препаратів. Тому, розробка нових прямих, неекстрактивних, чутливих та селективних методик спектрофотометричного кількісного визначення аналізу у видимій області спектра, з використанням реакцій, які перебігають швидко і у звичайних умовах з утворенням забарвлених продуктів є перспективним напрямком фармацевтичного аналізу.

1.3 Офіційні методи аналізу досліджуваних лікарських речовин

Державна Фармакопея України – це головний стандарт фармацевтичної галузі, який регламентує контроль якості лікарських засобів на території України.

Згідно ДФУ, Британської, Японської та Європейської Фармакопей, а також Фармакопеї Російської Федерації атенолол визначають методом кислотно-основного титрування у неводному середовищі з потенціометричним фіксуванням кінцевої точки титрування. Для цього наважку атенололу розчиняють у льодяній оцтовій кислоті та титрують хлорною кислотою [152–156].

Для кількісного визначення бісопрололу фумарату, карведілолу та метопрололу тартрату ВР та ЕРн також рекомендують кислотно-основне титрування у середовищі льодяної оцтової кислоти з потенціометричним фіксуванням кінцевої точки титрування [153, 154].

Сальбутамолу сульфат та соталолу гідрохлорид визначають кислотно-основним титруванням, використовуючи мурашину кислоту та оцтовий ангідрид у якості розчинників, а хлорну кислоту – як титрант. Згідно, ВР та ЕРн кінцеву точку титрування визначають потенціометрично, а згідно Японської Фармакопеї застосовують індикаторне фіксування кінцевої точки титрування [153, 154].

ДФУ, ВР та ЕРн для визначення бетаксолулу гідрохлориду та фенілефрину гідрохлориду наводять кислотно-основне титрування у середовищі абсолютного етанолу, підкисленого хлористоводневою кислотою, використовуючи спиртовий розчин гідроксиду натрію у якості титранту. Кінцеву точку титрування встановлюють потенціометрично [152–154].

Згідно Японської та Американської Фармакопей кількісне визначення фенілефрину гідрохлориду проводять зворотнім йодометричним титруванням [156, 158].

Американська Фармакопея для визначення бетаксолулу гідрохлориду та метопрололу тартрату наводить кислотно-основне титрування у неводному середовищі з потенціометричним фіксуванням кінцевої точки титрування [158].

Для таких лікарських речовин, як атенолол, бісопрололу фумарат та соталолу гідрохлорид, Фармакопея Сполучених Штатів Америки рекомендує ВЕРХ [158].

Згідно ВР атенолол, метопрололу тартрат та соталолу гідрохлорид в таблетках та ін'єкційний розчин фенілефрину гідрохлориду визначають методом спектрофотометрії в УФ-області спектра, а сальбутамолу сульфат в інгаляційній формі випуску – рідинною хроматографією [153].

Американська Фармакопея рекомендує ВЕРХ для кількісного визначення атенололу, бетаксолулу гідрохлориду, бісопрололу фумарату, метопрололу

тартрату, фенілефрину гідрохлориду та соталолу гідрохлориду у складі лікарських форм [158].

Аналізуючи наведені дані можна зробити висновок, що більшість методик кількісного визначення досліджуваних речовин, включених до різноманітних Фармакопей світу, належать до титриметричних, які попри свою точність значною мірою залежать від деяких факторів – умов навколишнього середовища лабораторії, суб'єктивності аналітика та способу фіксування кінцевої точки титрування. Другими за поширеністю використання є хроматографічні методи, які не завжди є доступними через те, що лабораторії з контролю якості ліків та відділи технічного контролю фармацевтичних фабрик не оснащені спеціальною дорогою апаратурою.

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

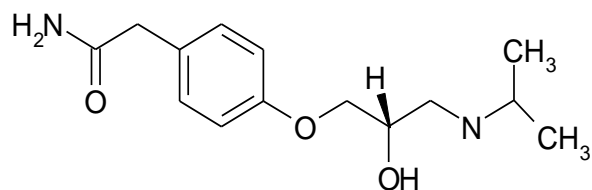
РОЗДІЛ 2

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

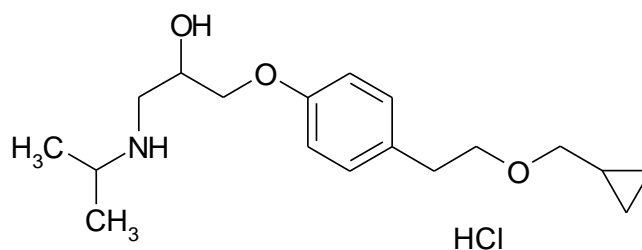
2.1 Об'єкти дослідження

При розробці методик кількісного визначення в якості об'єктів дослідження були використані РСЗ субстанцій лікарських речовин, що відповідали вимогам нормативних документів, а також наведені нижче лікарські форми промислового виробництва.

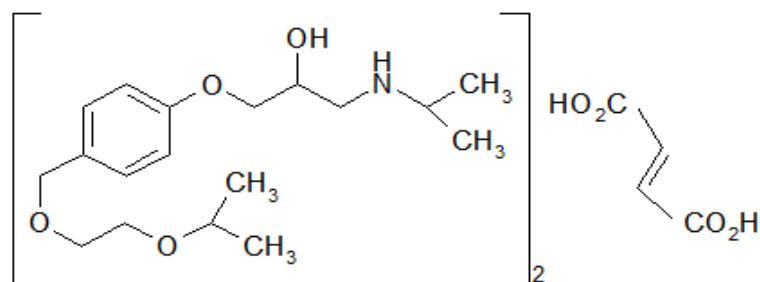
Атенолол – (RS)-4-[2-(гідрокси-3-ізопропіламінопропокси)феніл]-ацетамід ($C_{14}H_{22}N_2O_3$; М. м.=266,3 г/моль) – кристалічний порошок, розчинний у воді, добре розчинний в 1 М розчині хлоридної кислоти та погано розчинний в хлороформі (ДФУ 1.4, С.377; ВР 17th, Р. 452):



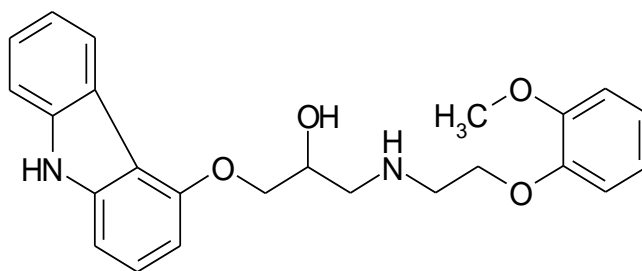
Бетаксололу гідрохлорид – (RS)-1-[4-[2-(циклопропілметокси)етил]-фенокси]-3-[(1-метилетил)аміно]пропан-2-олу гідрохлорид ($C_{18}H_{30}ClNO_3$; М.м.=343,9 г/моль) – білий кристалічний порошок, розчинний в воді, етанолі, метанолі та хлороформі (ВР 17th, Р. 702):



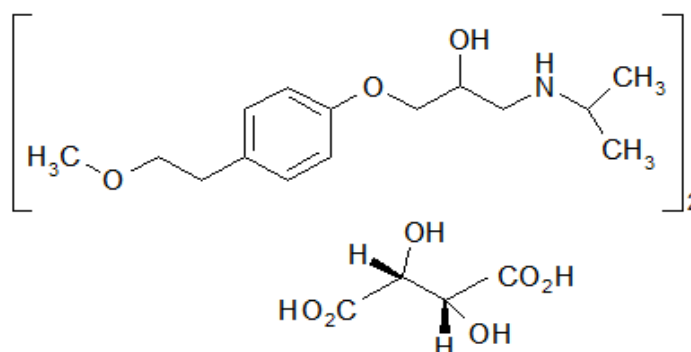
Бісопрололу фумарат – 1-[4-[[2-(1-метилетокси)етокси]метил]-фенокси]-3-[(1-метилетил)аміно]-2-пропанолу фумарат ($C_{40}H_{66}N_2O_{12}$; М.м.=767,0 г/моль) – білий кристалічний порошок, добре розчинний в воді, етанолі, метанолі та хлороформі (ВР 17th, Р. 738):



Карведілол – (\pm)-1-(9H-карбазол-4-ілокси)-3-[[2-(2-метоксифенокси)-етил]-аміно]пропанол ($C_{24}H_{26}N_2O_4$; М.м.=406,5 г/моль) – білий або майже білий кристалічний порошок, легко розчинний в ДМСО, розчинний в метиленхлориді та метанолі, важко розчинний в 95% етанолі та ізопропанолі, мало розчинний в етилову етері, майже нерозчинний у воді (ВР 17th, Р. 1083):

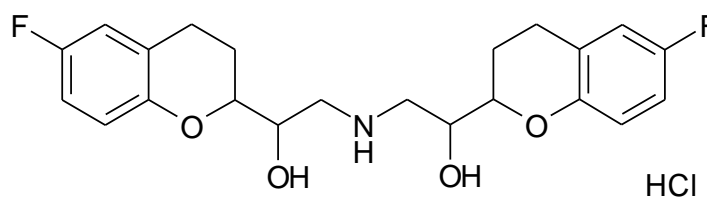


Метопрололу тартрат – ди[(RS)-3-[4-(2-метоксиетил) фенокси]-1-(ізопропіламіно)пропан-2-олу] тартрат ($(C_{15}H_{25}NO_3)_2 \cdot C_4H_4O_6$; М.м.=685,0 г/моль) – білий, практично без запаху кристалічний порошок, добре розчинний у воді, метиленхлориді, хлороформі та спирті, мало розчинний в ацетоні, нерозчинний в етері (ВР 17th, Р. 3938):

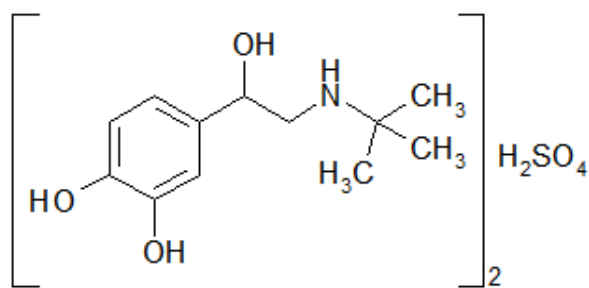


Небівололу гідрохлорид – альфа,альфа'-[іміно-ди(метилен)-ди-[6-фтор-3,4-дигідро]-2H-1-бензопіран-2-метанолу] гідрохлорид ($C_{22}H_{25}F_2NO_4 \cdot HCl$; М.м.=405,4 г/моль) – білий або майже білий порошок, розчинний в метанолі,

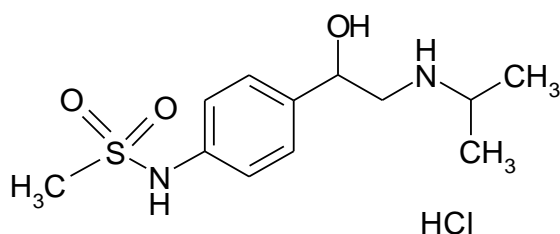
ДМСО та ДМФА, важко розчинний в етанолі, пропіленгліколі та поліетиленгліколі, майже не розчинний в гексані, дихлорметані та метилбензолі:



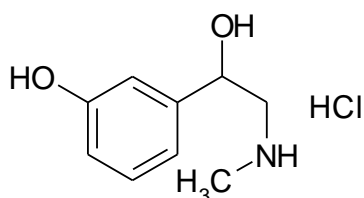
Сальбутамолу сульфат – ди[(R,S)-2-третбутиламіно-1-[4-гідрокси-3-(гідроксиметил)-феніл]етанолу] сульфат ((C₁₃H₂₁NO₃)₂·H₂SO₄; М.м.=576,7 г/моль) – білий кристалічний порошок без запаху, легко розчинний у воді, мало розчинний в етанолі, хлороформі та етері (ВР 17th, Р. 5345):



Соталолу гідрохлорид – N-[4-[1-гідрокси-2-[(1-метилетил)аміно]етил]-феніл]метансульфонаміду гідрохлорид (C₁₂H₂₀N₂O₃S·HCl; М.м.=308,8 г/моль) – білий кристалічний порошок, розчинний у воді, пропіленгліколі та спирті, мало розчинний у хлороформі (ВР 17th, Р. 5620):



Фенілефрину гідрохлорид – (R)-1-(3'-гідроксифеніл)-2-(метиламіно)-етанолу гідрохлорид (C₉H₁₃NO₂·HCl; М.м.=203,7 г/моль) – білий або білий зі слабко жовтуватим відтінком кристалічний порошок без запаху, легко розчинний у воді та спирті (ДФУ 1.2, С. 566; ВР 17th, Р. 4682):



Лікарські форми промислового виробництва:

- ✓ таблетки «Атенолол-Астрафарм», 0,1 г/0,3527 г атенололу (ТОВ «Астрафарм», Україна), серія 010216;
- ✓ таблетки «Атенобене», 0,1 г/0,4239 г атенололу (Merckle, Німеччина), серія M30530;
- ✓ таблетки «Атенолол-Здоров'я», 0,05 г/0,1820 г атенололу (ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я», Україна), серія 10214;
- ✓ таблетки «Бетак», 0,02 г/0,2484 г бетаксолулу ("Medochemie Ltd", Кіпр), серія E9E032MF);
- ✓ таблетки «Бетакор», 0,02 г/0,2392 г бетаксолулу («Київський вітамінний завод», Україна), серія 41015;
- ✓ таблетки «Локрен», 0,02 г/0,2460 г бетаксолулу (Санофі Вінтроп Індастрія, Франція), серія 5T008;
- ✓ таблетки «Бісопролол-ратіофарм», 0,01 г/0,1779 г бісопрололу (Merckle, Німеччина), серія L1797;
- ✓ таблетки «Бісопролол-ратіофарм», 0,005 г/0,1796 г бісопрололу (Merckle, Німеччина), серія L19033;
- ✓ таблетки «Бісопролол-Лугал», 0,005 г/0,1004 г бісопрололу (ОАО «Луганський ХФЗ», Україна), серія 341211;
- ✓ таблетки «Бісопролол-Лугал», 0,01 г/0,2017 г бісопрололу (ОАО «Луганський ХФЗ», Україна), серія 691211;
- ✓ таблетки «Корвазан 25», 0,025 г/ 0,1849 г карведілолу (корпорація «Артеріум», Україна), серія 42543;
- ✓ таблетки «Корвазан 12,5», 0,0125 г/ 0,1771 г карведілолу (корпорація «Артеріум», Україна), серія 51557;

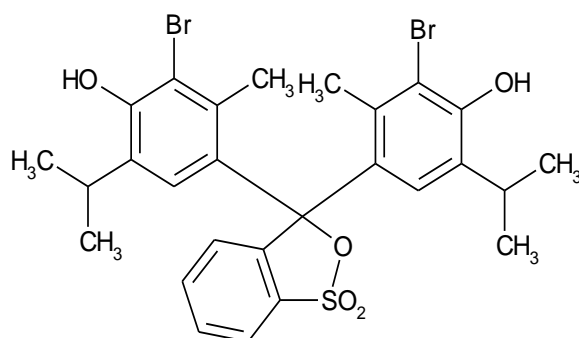
- ✓ таблетки «Коріол 12,5», 0,0125 г/ 0,1798 г карведілолу (KRKA, Словенія), серія MB 1971;
- ✓ таблетки «Коріол 25», 0,025 г/ 0,1825 г карведілолу (KRKA, Словенія), серія MA 6496;
- ✓ таблетки «Метопрололу тартрат», 0,1 г/ 0,5988 г метопрололу (ПАТ «Фармак», Україна), серія 71111;
- ✓ таблетки «Метопрололу тартрат», 0,05 г/ 0,3005 г метопрололу (ПАТ «Фармак», Україна), серія 50711;
- ✓ таблетки «Корвітол 100», 0,1 г/0,3531 г метопрололу (Berlin-Chemie, Німеччина), серія 22013;
- ✓ таблетки «Корвітол 50», 0,05 г/0,1788 г метопрололу (Berlin-Chemie, Німеччина), серія 22026;
- ✓ таблетки «Егілок Ретард 50 мг», 0,05 г/0,1605 г метопрололу (Egis pharmaceuticals Plc, Угорщина), серія 00501012;
- ✓ таблетки «Егілок Ретард 100 мг», 0,1 г/0,3214 г метопрололу (Egis pharmaceuticals Plc, Угорщина), серія 00471012;
- ✓ таблетки «Метопролол 50», 0,05 г/ 0,2842 г метопрололу (корпорація «Артеріум», Україна), серія 84197;
- ✓ таблетки «Метопролол 100», 0,1 г/ 0,5677 г метопрололу (корпорація «Артеріум», Україна), серія 70220;
- ✓ таблетки «Беталок ЗОК 25», 0,025 г/ 0,1647 г метопрололу (AstraZeneca, Швеція), серія ABEG 10;
- ✓ таблетки «Вазокардін 100», 0,1 г/ 0,5105 г метопрололу (Zentiva, Словаччина), серія 050312;
- ✓ таблетки «Вазокардін 50», 0,05 г/ 0,2527 г метопрололу (Zentiva, Словаччина), серія 080212;
- ✓ таблетки «Небівал», 0,005 г/ 0,2326 г небіволу («Київський вітамінний завод», Україна), серія 210715;
- ✓ аерозоль «Сальбутамол» 200 доз, 124 мкг/1 доза сальбутамолу сульфату (GlaxoSmithKline, Польща), серія PF2363;

- ✓ таблетки «Соритмік 80», 0,08 г/ 0,1649 г соталолу («Київський вітамінний завод», Україна), серія 10315;
- ✓ таблетки «Соритмік 160», 0,16 г/ 0,3305 г соталолу («Київський вітамінний завод», Україна), серія 90715;
- ✓ розчин для ін'єкцій «Мезатон», 10 мг фенілефрину гідрохлориду в 1 мл (ТОВ «Дослідний завод «ГНЦЛС», Україна), серія 50911.

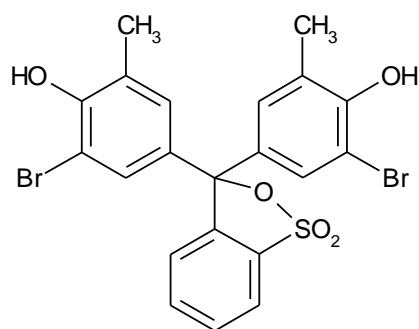
2.2 Реагенти та розчинники

В якості органічних аналітичних реагентів було використано сульфопфталейнові барвники (НВФ «Синбіас»), які мали сертифікати якості виробника.

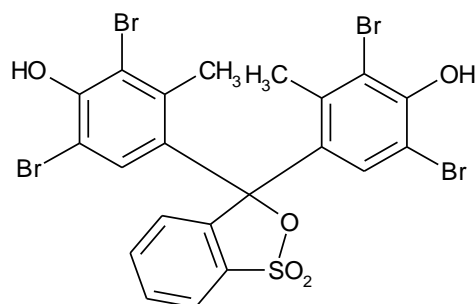
Бромтимоловий синій (БТС) – 3,3'-дибромтимол-сульфопфталейн ($C_{27}H_{28}Br_2O_5S$; М.м.=624,4 г/моль) – безбарвний або світло-рожевий порошок. Легко розчинний в метанолі, етанолі, етиловому етері та розбавлених розчинах лугів, важко розчинний у воді та бензолі. Інтервал переходу забарвлення лежить у межах рН 6,0–7,6 (вода) та 11,4–12,8 (ацетон):



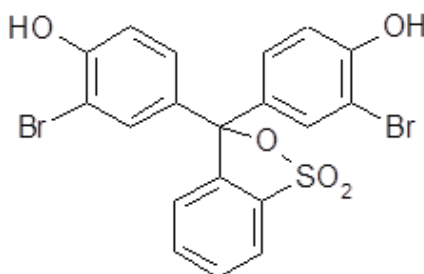
Бромкрезоловий пурпуровий (БКП) – 5,5'-дибром-о-крезол-сульфопфталейн ($C_{21}H_{16}Br_2O_5S$; М.м.=540,2 г/моль) – помаранчево-жовтий або цегляно-червоний порошок. Легко розчинний в спирті та розбавлених розчинах лугів, мало розчинний у воді. Інтервал переходу забарвлення лежить у межах рН 5,2–6,8 (вода) та 9,6–11,1 (ацетон):



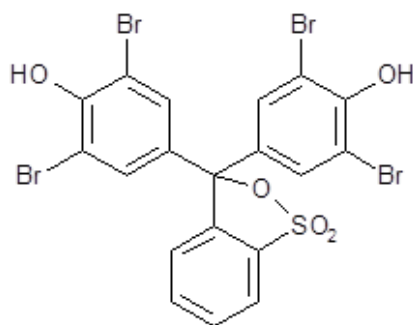
Бромкрезоловий зелений (БКЗ) – 3,3',5,5'-тетрабром-*m*-крезол-сульфофталеїн ($C_{21}H_{14}Br_4O_5S$; М.м.=698,0 г/моль) – рожевий, інколи коричневий порошок. Мало розчинний у воді, льодяній оцтовій кислоті та бензолі, легко розчинний в етанолі, етері, етилацетаті та розбавлених розчинах лугів. Інтервал переходу забарвлення лежить у межах рН 3,8–5,4 (вода) та 8,3–9,8 (ацетон):



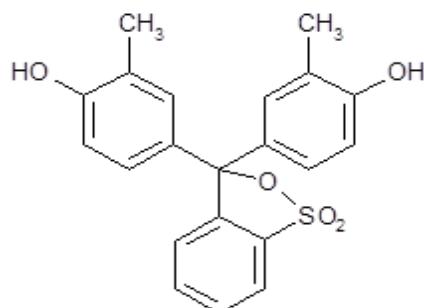
Бромфеноловий червоний (БФЧ) – 3,3'-дибромфенол-сульфофталеїн ($C_{19}H_{12}Br_2O_5S$; М.м.=512,2 г/моль) – жовтувато-коричневий або коричнево-червоний порошок. Розчинний в спирті, мало розчинний у воді. Інтервал переходу забарвлення лежить у межах рН 5,2–6,8 (вода):



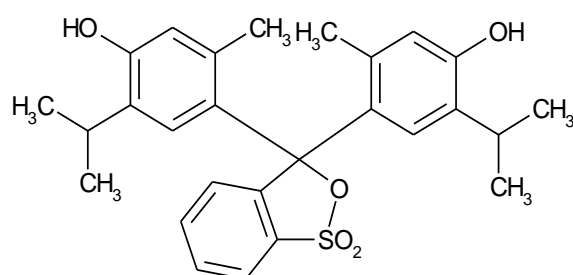
Бромфеноловий синій (БФС) – 3,3',5,5'-тетрабромфенол-сульфофталеїн ($C_{19}H_{10}Br_4O_5S$; М.м.=670,0 г/моль) – жовтуватий або коричнюватий порошок. Розчинний в спирті, слабозчинний у воді та етері. Інтервал переходу забарвлення лежить у межах рН 3,0–4,6 (вода) та 6,5–8,3 (ацетон):



Крезоловий червоний (КЧ) – *o*-крезол-сульфоталеїн ($C_{21}H_{18}O_5S$; М.м.=382,4 г/моль) – зелені, блискучі кристали. Легко розчинні в спирті та розбавлених розчинах лугів, слабо розчинні у воді. Інтервал переходу забарвлення лежить у межах рН 0,2–1,8 (вода) та 7,0–8,8 (ацетон):



Тимоловий синій (ТС) – тимолсульфоталеїн ($C_{27}H_{30}O_5S$; М.м.=466,6 г/моль) – темно-синій або червоний аморфний порошок. Легко розчинний в спирті та розчинах лугів, мало розчинний у воді. Інтервал переходу забарвлення лежить у межах рН 1,2–2,8 (вода) та 2,4–4,0 (ацетон):



В дослідях були використані розчинники та реагенти, які відповідали кваліфікації «х.ч.», «ч.д.а» та «фарм.»: вода очищена, етанол, метанол, диметилформамід, хлороформ, етилацетат, бензол, ацетон, ацетонітрил, діетиламін, гексан.

2.3 Загальні методи аналізу

Спектри поглинання аналітичних реагентів та забарвлених продуктів реакцій з досліджуваними лікарськими речовинами реєстрували у видимій області спектра за допомогою спектрофотометра SPECORD 200 із використанням прямокутних кварцових кювет з товщиною поглинаючого шару 1 см. Величину оптичної густини вимірювали на фоні компенсаційного розчину, який містив у своєму складі усі компоненти окрім досліджуваної речовини. Для обробки отриманих спектрів було застосовано програмний пакет WinASPECT 2.2.1.0.

Стехіометричні коефіцієнти реагуючих речовин встановлювали такими загальновідомими спектрофотометричними методами як метод насичення (метод молярних співвідношень), метод неперервних змін (метод ізомолярних серій) та метод відносного виходу. Дослідження проводили з 0,0005 М, 0,002 М та 0,0035 М розчинами лікарських речовин і реагентів за загальновідомими методиками в оптимальних умовах реакцій [159].

Для встановлення будови продуктів реакцій лікарських речовин з сульфопфталейновими барвниками проводились дослідження наступними методами:

– *ІЧ-спектри* знімались на спектрофотометрі Bruker Alpha в області 7500-400 cm^{-1} з використанням приставки ATR (пряме уведення речовини);

– *^1H ЯМР-спектри* – на спектрофотометрі ядерного магнітного резонансу «Mercury 400», розчинник DMSO-D_6 , внутрішній стандарт – тетраметилсилан;

– *Хромато-мас-спектри* на вискоефективному рідинному хроматографі Agilent 1260 Series, оснащеному діодно-матричним та мас-селективним детектором Agilent LC/MSD SL. Спосіб іонізації – хімічна іонізація при атмосферному тиску (APCI). Режим іонізації – одночасне сканування позитивних та негативних іонів у діапазоні мас 80-1000 m/z .

Встановлення температури плавлення продуктів взаємодії досліджених лікарських речовин з сульфофталеїновими барвниками проводилось на приладі Stuart SMP30 Melting Point Apparatus з швидкістю нагрівання 5°C на хв.

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

Для проведення 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 (Δ_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 ДФУ [152].

РОЗДІЛ 3

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН, ЩО МІСТЯТЬ ВТОРИННУ АЛІФАТИЧНУ АМІНОГРУПУ

3.1 Вивчення оптимальних умов реакцій досліджуваних лікарських речовин, що містять вторинну аліфатичну аміногрупу з сульфоталеїновими барвниками

На результати проведення аналітичних реакцій впливає багато факторів. Тому здійснити об'єктивний вибір оптимальних умов кількісного спектрофотометричного аналізу можливо лише після проведення попередніх досліджень. Для розробки методик кількісного визначення лікарських речовин, що містять вторинну аліфатичну аміногрупу, а саме, атенололу, бетаксолулу гідрохлориду, бісопрололу фумарату, карведілолу, метопрололу тартрату, небівололу гідрохлориду, сальбутамолу сульфату, соталолу гідрохлориду та фенілефрину гідрохлориду на підставі їх реакції з сульфоталеїновими барвниками було вивчено наступні фактори, що можуть впливати на швидкість та повноту перебігу реакції: природа та склад розчинника, природа та кількість доданих реагентів, швидкість реакції та стійкість досліджуваних речовин у часі.

Вивчення наведених вище факторів, які впливають на перебіг реакцій наводимо на прикладі взаємодії атенололу з БТС, бетаксолулу гідрохлориду з БКЗ, карведілолу з БКП та бісопрололу фумарату з ТС. БТС, БКЗ, ТС та БКП, обрані для цього дослідження є характерними представниками сульфоталеїнових барвників та широко використовуються в аналізі лікарських засобів.

При виборі розчинника враховувалися розчинність досліджуваних речовин та реагентів, а також максимальне значення оптичної густини отриманих розчинів. Аналізуючи дані літератури щодо розчинності досліджуваних речовин та сульфоталеїнових барвників та їх реакційної

здатності було обрано такі розчинники, як хлороформ, ацетон, метанол та етанол.

Для визначення реакційної здатності атенололу використовували 0,1% розчин БТС та 0,01% розчин атенололу в таких розчинниках як ацетон, метанол та етанол. В ході експерименту по 1,00 мл розчину атенололу вміщували у мірні колби на 10,00 мл, додавали по 1,00 мл розчину реагенту, доводили відповідним розчинником до мітки, перемішували. Паралельно готували компенсаційні розчини: в мірні колби на 10,00 мл вміщували по 1,00 мл розчину реагенту та доводили до позначки відповідним розчинником. Абсорбцію досліджуваних розчинів вимірювали на фоні компенсаційного розчину. Було встановлено, що ацетон є оптимальним розчинником, так як в етанолі та метанолі реакція не відбувалася.

Для визначення реакційної здатності бетаксолу гідрохлориду використовували 0,5% розчин БКЗ та 0,01% розчин бетаксолу гідрохлорид в таких розчинниках як ацетон, метанол та етанол. В ході експерименту по 1,00 мл розчину атенололу вміщували у мірні колби на 10,00 мл, додавали по 1,00 мл розчину реагенту, доводили відповідним розчинником до мітки, перемішували. Паралельно готували компенсаційні розчини: в мірні колби на 10,00 мл вміщували по 1,00 мл розчину реагенту та доводили до позначки відповідним розчинником. Абсорбцію досліджуваних розчинів вимірювали на фоні компенсаційного розчину. Було встановлено, що ацетон є оптимальним розчинником, так як в етанолі та метанолі реакція не відбувалася, а в хлороформі та етилацетаті досліджувана лікарська речовина не розчинна.

Для визначення реакційної здатності карведілолу використовували 0,11% розчин БКП та 0,02% розчин карведілолу в таких розчинниках як ацетон, метанол та етанол. В ході експерименту по 1,00 мл розчину атенололу вміщували у мірні колби на 10,00 мл, додавали по 1,00 мл розчину реагенту, доводили відповідним розчинником до мітки, перемішували. Паралельно готували компенсаційні розчини: в мірні колби на 10,00 мл вміщували по 1,00 мл розчину реагенту та доводили до позначки відповідним розчинником.

Абсорбцію досліджуваних розчинів вимірювали на фоні компенсаційного розчину. Було встановлено, що ацетон є оптимальним розчинником, так як в етанолі та метанолі реакція не відбувалася.

Для визначення реакційної здатності бісопрололу фумарату використовували 0,1% розчин ТС та 0,025% розчин бісопрололу фумарату в таких розчинниках як ацетон, хлороформ, метанол та етанол. В ході експерименту по 1,00 мл розчину бісопрололу фумарату вміщували в мірні колби на 10,00 мл, додавали по 1,00 мл розчину реагенту та доводили до позначки відповідним розчинником. Абсорбцію отриманих розчинів вимірювали на фоні компенсаційного розчину. Було встановлено, що хлороформ є оптимальним розчинником, так як в етанолі та метанолі реакція не відбувалася, а в ацетоні встановити межі підпорядкування основному закону світлопоглинання виявилось неможливим.

В результаті дослідження було встановлено, що ацетон є оптимальним розчинником для проведення реакції атенололу, бетаксолу гідрохлориду та карведілолу з БТС, БКЗ та БКП відповідно. Для проведення реакції бісопрололу фумарату з ТС оптимальним розчинником виявився хлороформ. Тому в подальших експериментах з підбору оптимальних умов проведення реакцій вибір було зупинено саме на цих розчинниках.

З метою підбору оптимального реагенту для розробки методик кількісного визначення досліджуваних лікарських речовин було порівняно спектри продуктів реакції з найпоширенішими сульфогталеїновими барвниками. Основним критерієм вибору реагенту була максимальна величина оптичної густини продукту реакції. Отже, було приготовано 0,001 М розчини лікарських речовин (атенололу, бетаксолу гідрохлориду, карведілолу, небіволу гідрохлориду та соталолу гідрохлориду) та 0,002 М розчини сульфогталеїнових барвників (КЧ, ТС, БКП, БТС, БФЧ, БКЗ та БФС) в ацетоні. Далі по 1,00 мл досліджуваних розчинів вміщували в мірні колби на 10,00 мл, додавали по 1,00 мл реагенту, доводили ацетоном до позначки. Абсорбцію отриманих розчинів вимірювали на фоні компенсаційних розчинів, що не

містять досліджуваної речовини. В результаті було отримано спектри, що наведені на рис. 3.1–3.5.

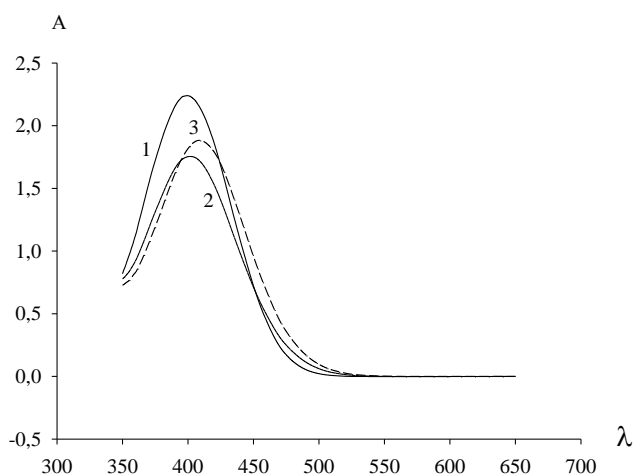


Рис. 3.1. Спектри поглинання продуктів реакції атенололу з БКП (1), БТС (2), БКЗ (3)

Згідно рис. 3.1 БКП та БКЗ давали більші величини оптичної густини в реакції з атенололом, але незважаючи на високу чутливість даних реакцій, подальша робота з надто високими величинами оптичної густини виявилася неможливою. Тому в якості реагенту для проведення кількісного визначення атенололу було обрано БТС.

Згідно рис. 3.2 БКЗ виявив найбільшу активність у реакції з небівололу гідрохлоридом, але при подальших дослідженнях виявилось неможливим встановити межі концентрацій, при яких спостерігається підпорядкування основному закону світлопоглинання. Тому для подальшої розробки методики кількісного визначення небівололу гідрохлориду зупинилися на наступному за чутливістю БТС.

Як видно на рис. 3.3 у реакції кількісного визначення соталолу гідрохлориду такі реагенти як БКЗ та БТС давали вищі значення оптичної густини та були більш чутливими, але як і у випадку небівололу гідрохлориду, встановити межі підпорядкування основному закону світлопоглинання виявилось неможливим, тому для подальших досліджень було обрано БКП.

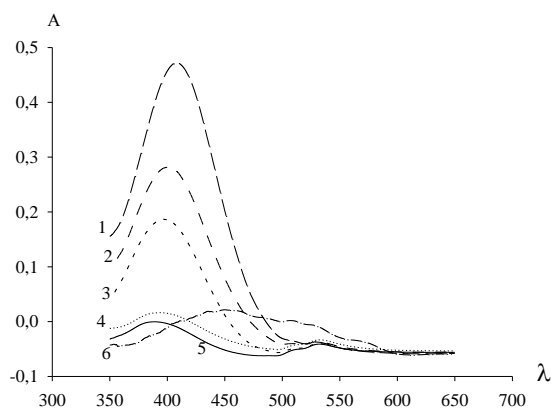


Рис. 3.2. Спектри поглинання продуктів реакції небівололу з БКЗ (1), гідрохлориду з БКЗ (1), БТС (2), БТС (2), БКП (3) БКП (3), БФЧ (4), ТС (5) та КЧ (6)

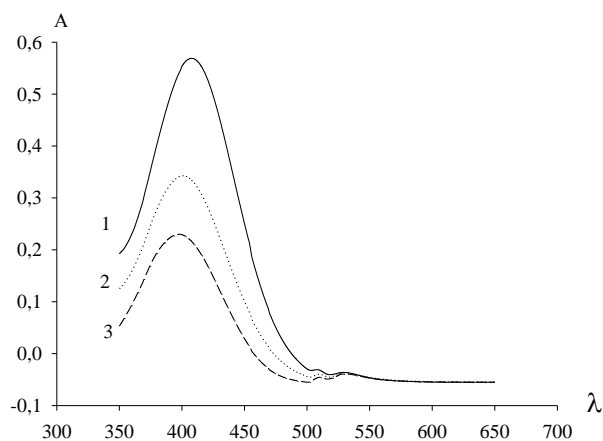


Рис. 3.3. Спектри поглинання продуктів реакції соталолу з БКЗ (1), БТС (2), БТС (2), БКП (3)

У випадку бетаксололу гідрохлориду та карведілолу (рис. 3.4 та рис. 3.5) найбільшу чутливість виявили у БКЗ та БКП, відповідно. Тому саме ці реагенти було обрано для подальшої розробки методик кількісного визначення зазначених лікарських речовин.

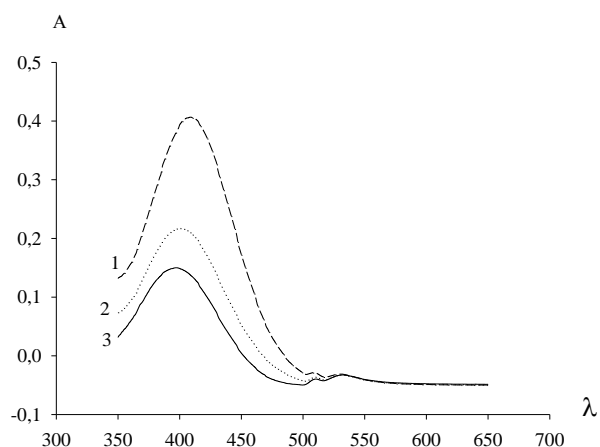


Рис. 3.4. Спектри поглинання продуктів реакції бетаксололу з БКЗ (1), БТС (2), БКП (3)

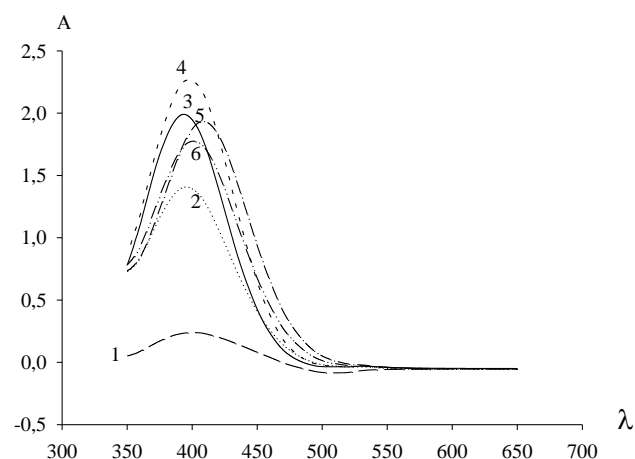


Рис. 3.5. Спектри поглинання продуктів реакції карведілолу з БКЧ (1), ТС (2), КЧ (3), БКП (4), БКЗ (5) та БТС (6)

Виходячи з результатів проведених досліджень, для подальшої розробки спектрофотометричних методик кількісного визначення досліджуваних лікарських речовин, було обрано наступні сульффталеїнові барвники та відповідні довжини хвиль поглинання (λ_{\max}): БТС для аналізу атенололу та небівололу гідрохлориду (402 та 401 нм, відповідно), БКП для аналізу соталолу гідрохлориду та карведілолу (399 та 398 нм, відповідно), БКЗ для аналізу бетаксолулу гідрохлориду (408 нм).

Наступним етапом дослідження було встановлення кількості реагенту, необхідного для повноти перебігу реакції. Її встановлювали експериментально, виходячи з максимального виходу продукту реакції, тобто за максимальною величиною оптичної густини. Для цього у мірні колби на 10,00 мл додавали по 1,00 мл розчину досліджуваної лікарської речовини та по 0,50; 1,00; 1,50; 2,00 та 2,50 мл обраних на попередньому етапі дослідження реагентів. Абсорбцію досліджуваних розчинів вимірювали на фоні компенсаційних розчинів при обраних вище довжинах хвиль. За отриманими даними будували графіки залежності величини абсорбції від кількості доданого реагенту (рис. 3.6–3.10).

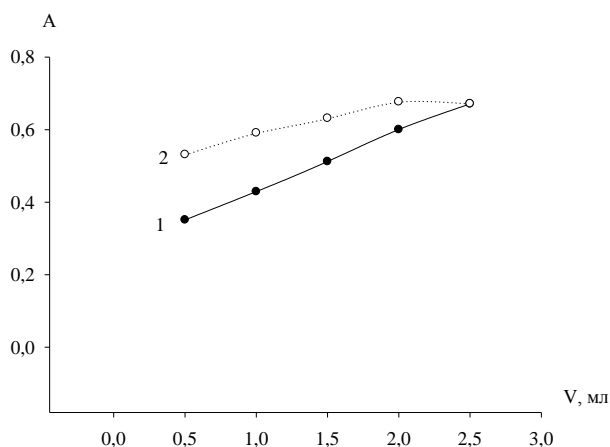


Рис. 3.6. Графік залежності абсорбції продуктів реакції небівололу гідрохлориду від кількості доданого 0,20% (1) та 0,50% (2) розчину БТС

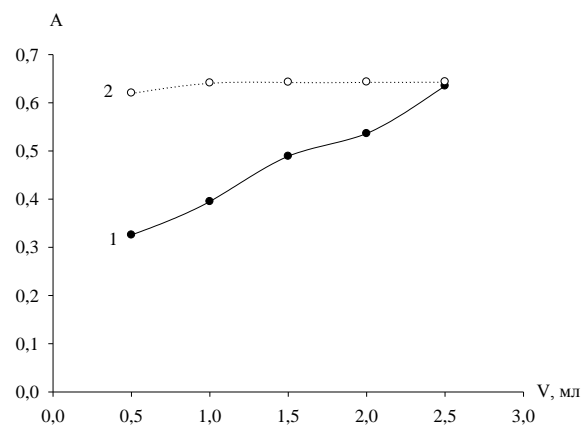


Рис. 3.7. Графік залежності абсорбції продуктів реакції бетаксолулу гідрохлориду від кількості доданого 0,14% (1) та 0,50% (2) розчину БКЗ

Як видно з рис. 3.6 (1) та 3.7 (1) при додаванні до розчинів небівололу гідрохлориду та бетаксололу гідрохлориду 0,20% розчину БТС та 0,14% розчину БКЗ, відповідно, у кількостях від 0,50 до 2,50 мл, оптична густина досліджуваних розчинів стрімко зростала. Тому концентрацію відповідних реагентів було збільшено до 0,50%. В результаті для небівололу гідрохлориду максимум оптичної густини було досягнуто при додаванні 2,00 мл розчину БТС (рис. 3.6 (2)), а для бетаксололу гідрохлориду при додаванні 1,00 мл розчину БКЗ (рис. 3.7 (2)).

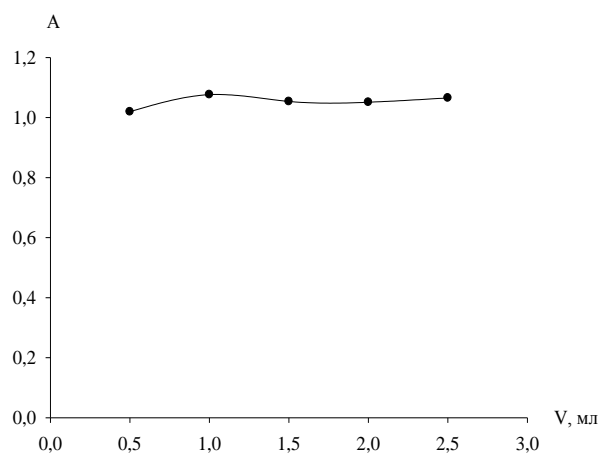


Рис. 3.8. Графік залежності абсорбції продуктів реакції карведілолу від кількості доданого 0,11% розчину БКП

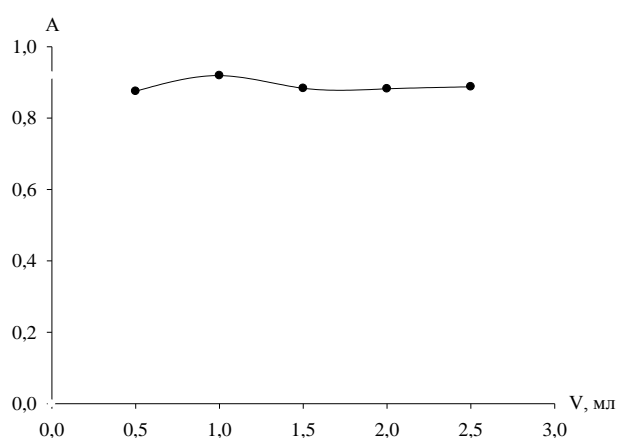


Рис. 3.9. Графік залежності абсорбції продуктів реакції атенололу від кількості доданого 0,11% розчину БТС

З рис. 3.8 та 3.9 видно, що для карведілолу та атенололу при збільшенні об'ємів доданих реагентів від 0,50 до 2,50 мл не відбувається суттєвого збільшення величини оптичної густини отриманих розчинів. Тому для подальшої розробки методик кількісного визначення цих лікарських речовин обрано об'єм реагенту 1,00 мл.

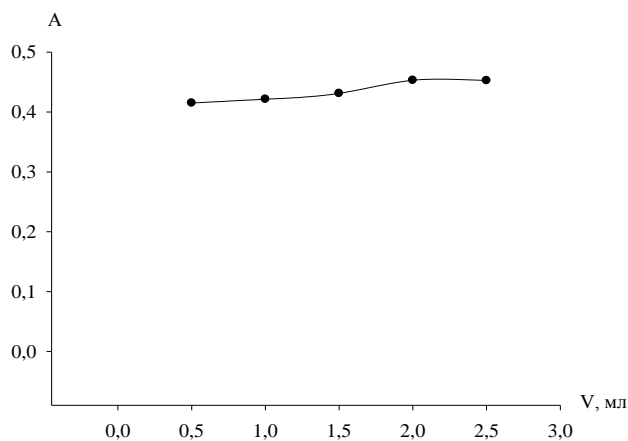


Рис. 3.10. Графік залежності абсорбції продуктів реакції соталолу гідрохлориду від кількості доданого 0,20% розчину БКП

Згідно графіку на рис. 3.10 для соталолу гідрохлориду при збільшенні об'єму реактиву від 0,50 до 2,00 мл відбувається несуттєве збільшення величини оптичної густини, а при додаванні від 2,00 до 2,50 мл розчину реактиву величина абсорбції практично не змінюється. Тому для подальших досліджень було обрано об'єм розчину БКП 2,00 мл.

На наступному етапі дослідження було досліджено стабільність аналізованих розчинів у часі. Для цього вимірювали оптичну густину отриманих розчинів в оптимальних умовах протягом 30 хв з інтервалом в 5 хв. Було встановлено, що досліджувані розчини стабільні протягом щонайменше 30 хв. Як приклад наводимо графіки залежності оптичної густини продуктів реакції атенололу з БТС та карведілолу з БКП від часу (рис. 3.11–3.12).

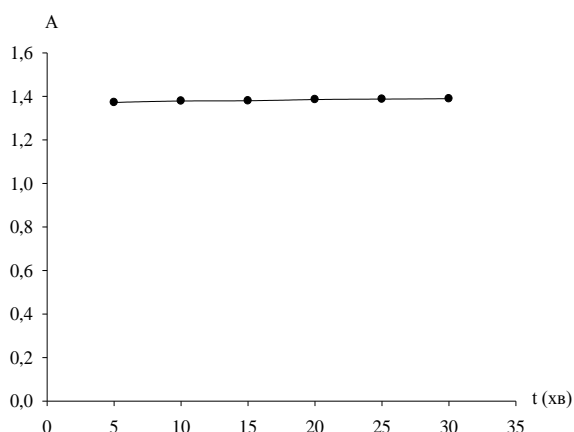


Рис. 3.11. Графік залежності абсорбції продуктів реакції атенололу з БТС від часу

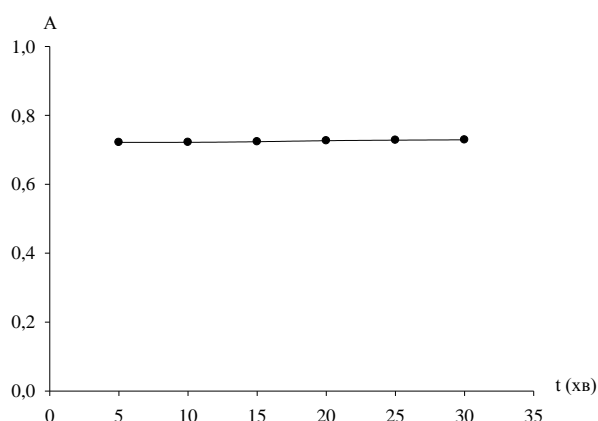


Рис. 3.12. Графік залежності абсорбції продуктів реакції карведілолу з БКП від часу

Аналогічні результати були отримані при вивченні стабільності продуктів реакції у часі й для інших досліджуваних лікарських речовин на основі їх реакції з сульфоталеїновими барвниками.

Отже, в результаті проведених досліджень було встановлено, що на величину оптичної густини продуктів реакції досліджуваних лікарських речовин з сульфоталеїновими барвниками впливають наступні фактори: природа розчинника, природа та кількість реагенту, час. Спираючись на отримані дані, було розроблено загальні методики кількісного визначення атенололу, бетаксолу гідрохлориду, бісопрололу фумарату, карведілолу, метопрололу тартрату, небіволу гідрохлориду, сальбутамолу сульфату, соталолу гідрохлориду та фенілефрину гідрохлориду на основі їх реакції з сульфоталеїновими барвниками.

Атенолол. Приготування досліджуваного розчину: точну наважку атенололу (0,0200 г) переносять до мірної колби на 100,00 мл, розчиняють в ацетоні та доводять ацетоном до позначки, перемішують. 1,00 мл приготовленого розчину переносять у мірну колбу на 10,00 мл, додають 1,00 мл 0,10% розчину БТС в ацетоні, доводять ацетоном до позначки та перемішують. Приготування компенсаційного розчину: 1,00 мл 0,10% розчину БТС в ацетоні переносять у мірну колбу на 10,00 мл, доводять ацетоном до позначки та перемішують. Абсорбцію отриманого розчину вимірюють на фоні компенсаційного розчину за аналітичної довжини хвилі 402 нм на спектрофотометрі в кюветі з товщиною поглинаючого шару 1 см.

Бетаксолу гідрохлорид. Приготування досліджуваного розчину: точну наважку бетаксолу гідрохлориду (0,0200 г) переносять до мірної колби на 100,00 мл, розчиняють в ацетоні та доводять ацетоном до позначки, перемішують. 1,00 мл приготовленого розчину переносять у мірну колбу на 10,00 мл, додають 2,00 мл 0,50% розчину БКЗ в ацетоні, доводять ацетоном до позначки та перемішують. Приготування компенсаційного розчину: 1,00 мл 0,50% розчину БКЗ в ацетоні переносять у мірну колбу на 10,00 мл, доводять ацетоном до позначки та перемішують. Абсорбцію отриманого розчину

вимірюють на фоні компенсаційного розчину за аналітичної довжини хвилі 408 нм на спектрофотометрі в кюветі з товщиною поглинаючого шару 1 см.

Бісопрололу фумарат. Приготування досліджуваного розчину: точну наважку бісопрололу фумарату (0,0300 г) переносять до мірної колби на 100,00 мл, розчиняють в хлороформі та доводять хлороформом до позначки, перемішують. 1,00 мл приготовленого розчину переносять у мірну колбу на 10,00 мл, додають 1,00 мл 0,10% розчину ТС в хлороформі, доводять хлороформом до позначки та перемішують. Приготування компенсаційного розчину: 1,00 мл 0,10% розчину ТС в хлороформі переносять у мірну колбу на 10,00 мл, доводять хлороформом до позначки та перемішують. Абсорбцію отриманого розчину вимірюють на фоні компенсаційного розчину за аналітичної довжини хвилі 420 нм на спектрофотометрі в кюветі з товщиною поглинаючого шару 1 см.

Карведілол. Приготування досліджуваного розчину: точну наважку карведілолу (0,0170 г) переносять до мірної колби на 100,00 мл, розчиняють в ацетоні та доводять ацетоном до позначки, перемішують. 1,00 мл приготовленого розчину переносять у мірну колбу на 10,00 мл, додають 1,00 мл 0,11% розчину БКП в ацетоні, доводять ацетоном до позначки та перемішують. Приготування компенсаційного розчину: 1,00 мл 0,11% розчину БКП в ацетоні переносять у мірну колбу на 10,00 мл, доводять ацетоном до позначки та перемішують. Абсорбцію отриманого розчину вимірюють на фоні компенсаційного розчину за аналітичної довжини хвилі 398 нм на спектрофотометрі в кюветі з товщиною поглинаючого шару 1 см.

Метопрололу тартрат. Приготування досліджуваного розчину: точну наважку метопрололу тартрату (0,0150 г) переносять до мірної колби на 100,00 мл, розчиняють в 2,00 мл води та доводять ацетоном до позначки, перемішують. 1,00 мл приготовленого розчину переносять у мірну колбу на 10,00 мл, додають 1,00 мл 0,04% розчину БКП в ацетоні, доводять ацетоном до позначки та перемішують. Приготування компенсаційного розчину: 1,00 мл 0,04% розчину БКП в ацетоні переносять у мірну колбу на 10,00 мл, додають

0,02 мл води, доводять ацетоном до позначки та перемішують. Абсорбцію отриманого розчину вимірюють на фоні компенсаційного розчину за аналітичної довжини хвилі 400 нм на спектрофотометрі в кюветі з товщиною поглинаючого шару 1 см.

Небівололу гідрохлорид. Приготування досліджуваного розчину: точну наважку небівололу гідрохлориду (0,0540 г) переносять до мірної колби на 100,00 мл, розчиняють в 2,00 мл води та доводять ацетоном до позначки, перемішують. 1,00 мл приготовленого розчину переносять у мірну колбу на 10,00 мл, додають 2,00 мл 0,50% розчину БТС в ацетоні, доводять ацетоном до позначки та перемішують. Приготування компенсаційного розчину: 2,00 мл 0,50% розчину БТС в ацетоні переносять у мірну колбу на 10,00 мл, додають 0,02 мл води доводять ацетоном до позначки та перемішують. Абсорбцію отриманого розчину вимірюють на фоні компенсаційного розчину за аналітичної довжини хвилі 401 нм на спектрофотометрі в кюветі з товщиною поглинаючого шару 1 см.

Сальбутамолу сульфат. Приготування досліджуваного розчину: точну наважку сальбутамолу сульфату (0,0300 г) переносять до мірної колби на 100,00 мл, розчиняють в 4,00 мл води та доводять ацетоном до позначки, перемішують. 1,00 мл приготовленого розчину переносять у мірну колбу на 25,00 мл, додають 1,00 мл 0,30% розчину БКЗ в ацетоні, доводять ацетоном до позначки та перемішують. Приготування компенсаційного розчину: 1,00 мл 0,30% розчину БТС в ацетоні переносять у мірну колбу на 25,00 мл, додають 0,04 мл води, доводять ацетоном до позначки та перемішують. Абсорбцію отриманого розчину вимірюють на фоні компенсаційного розчину за аналітичної довжини хвилі 413 нм на спектрофотометрі в кюветі з товщиною поглинаючого шару 1 см.

Соталолу гідрохлорид. Приготування досліджуваного розчину: точну наважку соталолу гідрохлориду (0,0600 г) переносять до мірної колби на 100,00 мл, розчиняють в 2,00 мл води та доводять ацетоном до позначки, перемішують. 1,00 мл приготовленого розчину переносять у мірну колбу на

10,00 мл, додають 2,00 мл 0,20% розчину БКП в ацетоні, доводять ацетоном до позначки та перемішують. Приготування компенсаційного розчину: 2,00 мл 0,20% розчину БКП в ацетоні переносять у мірну колбу на 10,00 мл, додають 0,02 мл води, доводять ацетоном до позначки та перемішують. Абсорбцію отриманого розчину вимірюють на фоні компенсаційного розчину за аналітичної довжини хвилі 399 нм на спектрофотометрі в кюветі з товщиною поглинаючого шару 1 см.

Фенілефрину гідрохлорид. Приготування досліджуваного розчину: точну наважку фенілефрину гідрохлориду (0,0400 г) переносять до мірної колби на 100,00 мл, розчиняють в 4,00 мл води та доводять ацетоном до позначки, перемішують. 1,00 мл приготовленого розчину переносять у мірну колбу на 25,00 мл, додають 5,00 мл 1,00% розчину БКЗ в ацетоні, доводять ацетоном до позначки та перемішують. Приготування компенсаційного розчину: 5,00 мл 1,00% розчину БКЗ в ацетоні переносять у мірну колбу на 25,00 мл, додають 0,04 мл води, доводять ацетоном до позначки та перемішують. Абсорбцію отриманого розчину вимірюють на фоні компенсаційного розчину за аналітичної довжини хвилі 410 нм на спектрофотометрі в кюветі з товщиною поглинаючого шару 1 см.

Оптимальні умови проведення реакцій досліджуваних лікарських речовин з сульфогфталейновими барвниками наведені в табл. 3.1.

Таблиця 3.1

**Оптимальні умови проведення реакцій досліджуваних лікарських речовин
з сульфоталеїновими барвниками**

Лікарська речовина/реагент	Об'єм (мл) і концентрація вихідного розчину ЛР (розчинник)	Об'єм (мл) і концентрація вихідного розчину реагента (розчинник)	Розчинник	λ_{\max} , нм
1	2	3	4	5
Атенолол/БТС	1,00 мл 0,02% (ацетон)*	1,00 мл 0,10% (ацетон)*	ацетон	402
Бетаксололу гідрохлорид/БКЗ	1,00 мл 0,02% (ацетон)*	2,00 мл 0,50% (ацетон)*	ацетон	408
Бісопрололу фумарат/ТС	1,00 мл 0,03% (хлороформ)*	1,00 мл 0,10% (хлороформ)*	хлороформ	420
Карведілол/БКП	1,00 мл 0,017% (ацетон)*	1,00 мл 0,11% (ацетон)*	ацетон	398
Метопрололу тартрат/БКП	1,00 мл 0,015% (ацетон + 2% води)*	1,00 мл 0,04% (ацетон)*	ацетон	400
Небівололу гідрохлорид/БТС	1,00 мл 0,054% (ацетон + 2% води)*	2,00 мл 0,50% (ацетон)*	ацетон	401

Продовж. табл. 3.1

1	2	3	4	5
Сальбутамолу сульфат/БКЗ	1,00 мл 0,03% (ацетон + 4% води)**	1,00 мл 0,30% (ацетон)**	ацетон	413
Соталолу гідрохлорид/БКП	1,00 мл 0,06% (ацетон + 2% води)*	2,00 мл 0,20% (ацетон)*	ацетон	399
Фенілефрину гідрохлорид/БКЗ	1,00 мл 0,04% (ацетон + 4% води)**	5,00 мл 1,00% (ацетон)**	ацетон	410

Примітки: * – для мірних колб ємністю 10,00 мл;

** – для мірних колб ємністю 25,00 мл

3.2 Встановлення аналітичних показників чутливості реакцій досліджуваних лікарських речовин, що містять вторинну аліфатичну аміногрупу з сульфоталеїновими барвниками

Для встановлення аналітичних показників чутливості досліджуваних реакцій були виміряні спектри поглинання продуктів взаємодії аналізованих лікарських речовин з сульфоталеїновими барвниками в оптимальних умовах, встановлених раніше та описаних в розд. 3.1, а також були встановлені максимуми світлопоглинання. Виходячи з отриманих величин було розраховано наступні показники чутливості даних реакцій (табл. 3.2):

молярний показник поглинання (ε):

$$\varepsilon = \frac{A}{C_{\text{моль/л}} \cdot l} \quad (3.1);$$

питоме поглинання (a):

$$a = \frac{\varepsilon}{M.M. \cdot 1000} \quad (3.2);$$

коефіцієнт Сендела (W_s):

$$W_s = \frac{M.M.}{\varepsilon} \quad (3.3);$$

межа виявлення (C_{min} , мкг/мл):

$$C_{min} = \frac{0,05 \cdot M.M.}{\varepsilon \cdot 1000} \quad (3.4)$$

Таблиця 3.2

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

Лікарська речовина	λ_{max} , нм	ε	a	W_s	C_{min} , мкг/мл
1	2	3	4	5	6
Атенолол	402	$1,77 \cdot 10^4$	$7,41 \cdot 10^{-2}$	$1,35 \cdot 10^{-2}$	0,67
Бетаксололу гідрохлорид	408	$1,05 \cdot 10^4$	$3,14 \cdot 10^{-2}$	$2,85 \cdot 10^{-2}$	1,42
Бісопрололу фумарат	420	$1,81 \cdot 10^4$	$2,29 \cdot 10^{-2}$	$4,37 \cdot 10^{-2}$	2,19
Карведілол	398	$1,72 \cdot 10^4$	$4,48 \cdot 10^{-2}$	$2,23 \cdot 10^{-2}$	1,12
Небівололу гідрохлорид	401	$5,51 \cdot 10^3$	$1,57 \cdot 10^{-2}$	$6,37 \cdot 10^{-2}$	3,18
Метопрололу тартрат	400	$4,21 \cdot 10^4$	$6,97 \cdot 10^{-2}$	$1,44 \cdot 10^{-2}$	0,72
Сальбутамолу сульфат	413	$4,54 \cdot 10^4$	$6,58 \cdot 10^{-2}$	$1,52 \cdot 10^{-2}$	0,76

Продовж. табл. 3.2

Соталолу гідрохлорид	399	$2,16 \cdot 10^3$	$8,49 \cdot 10^{-3}$	$1,17 \cdot 10^{-1}$	5,88
Фенілефрину гідрохлорид	410	$1,31 \cdot 10^4$	$4,28 \cdot 10^{-2}$	$2,33 \cdot 10^{-2}$	1,17

Як видно з табл. 3.2 високі значення молярних коефіцієнтів поглинання та низькі значення відкривальних мінімумів свідчать про високу чутливість реакцій між досліджуваними лікарськими речовинами та відповідними сульфоталеїновими барвниками.

3.3 Визначення стехіометричних співвідношень реагуючих компонентів в реакціях досліджуваних лікарських речовин з сульфоталеїновими барвниками

Для вивчення перебігу фотометричної реакції було проведено спектрофотометричний аналіз розчинів забарвлених сполук, що утворюються в результаті реакцій. В основі даного аналізу лежить спільне використання закону діючих мас та основного закону світлопоглинання. Він включає в себе встановлення складу, стійкості та оптичних характеристик забарвлених продуктів реакції [160].

Стехіометричні коефіцієнти реагуючих компонентів між лікарською речовиною та реагентом були встановлені на прикладі взаємодії метопрололу тартрату, карведілолу та соталолу гідрохлориду з БКП, небівололу гідрохлориду та атенололу з БТС, бісопрололу фумарату з ТС, а також бетаксолулу гідрохлориду з БКЗ. Для цього були використанні найбільш поширені методи: метод неперервних змін (метод ізомолярних серій) та метод насичення (метод молярних співвідношень).

Відомо, що метод неперервних змін ґрунтується на визначенні співвідношень ізомолярних концентрацій реагуючих речовин, що відповідає максимальному виходу сполук, що утворюються в результаті реакції. При цьому крива залежності виходу продукту реакції від складу розчину

характеризується екстремальною точкою, положення якої пов'язане зі стехіометричними коефіцієнтами m та n для продукту реакції M_mR_n (рис. 3.13–3.19).

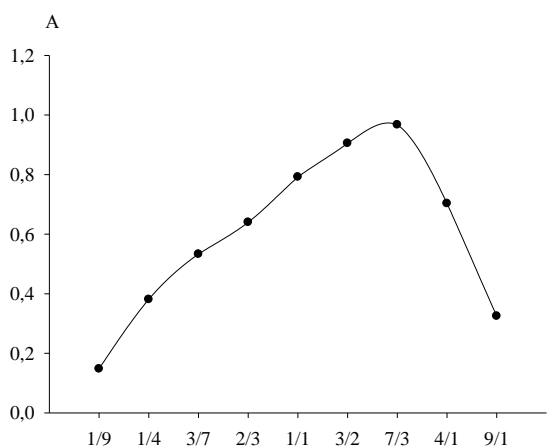


Рис. 3.13. Графік залежності оптичної густини від складу ізомолярного розчину ($C_1 = 0,002$ М розчин ТС, $C_2 = 0,002$ М розчин бісопрололу fumarату) при 420 нм

довжині хвилі. За отриманими даними було побудовано графіки залежності величини оптичної густини від співвідношення об'ємів компонентів ізомолярних серій.

Для виконання аналізу готували розчини реагенту та досліджуваної лікарської речовини однакової молярної концентрації та змішували їх в антибатних співвідношеннях, при цьому загальний об'єм розчину залишався незмінним. У цьому випадку сумарна кількість молей обох компонентів у загальному об'ємі розчину залишається постійною.

Реакції проводили згідно розроблених методик. Вимірювання абсорбції отриманих розчинів проводили при обраній аналітичній

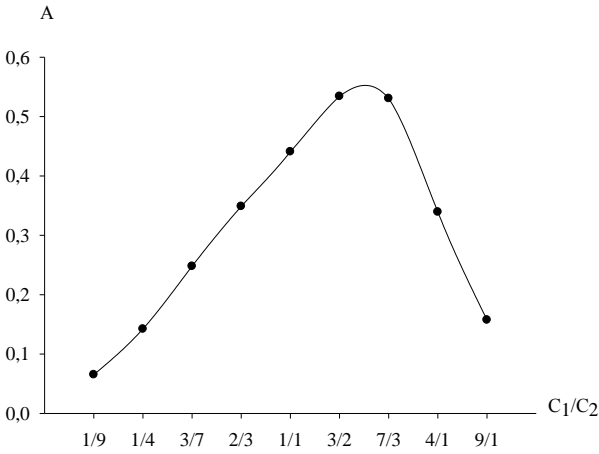


Рис. 3.14. Графік залежності оптичної густини від складу ізомолярного розчину (C_1 – 0,0002 М розчин БКП, C_2 – 0,0002 М розчин метопрололу тартрат) при 400 нм

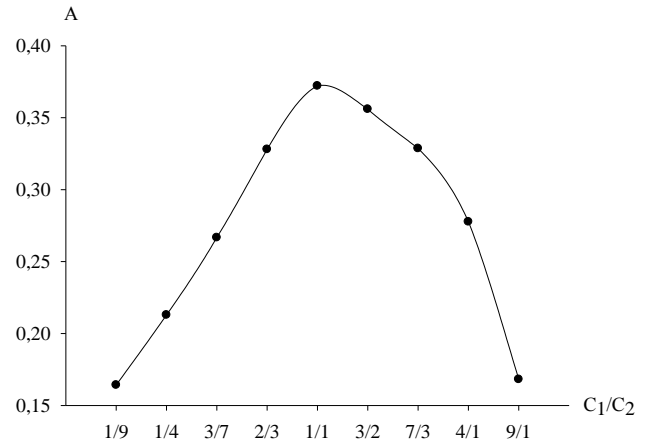


Рис. 3.15. Графік залежності оптичної густини від складу ізомолярного розчину (C_1 – 0,0035 М розчин БКП, C_2 – 0,0035 М розчин соталолу гідрохлориду) при 399 нм

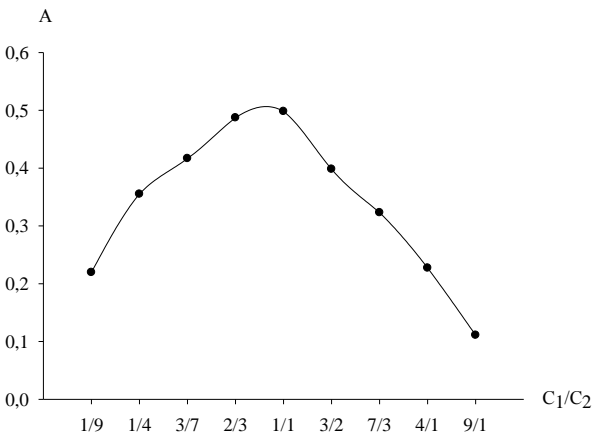


Рис. 3.16. Графік залежності оптичної густини від складу ізомолярного розчину (C_1 – 0,0005 М розчин БКП, C_2 – 0,0005 М розчин карведілолу) при 398 нм

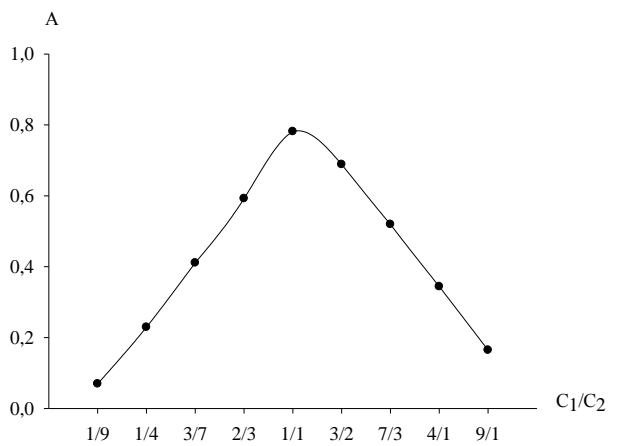


Рис. 3.17. Графік залежності оптичної густини від складу ізомолярного розчину (C_1 – 0,0005 М розчин БТС, C_2 – 0,0005 М розчин ателололу) при 402 нм

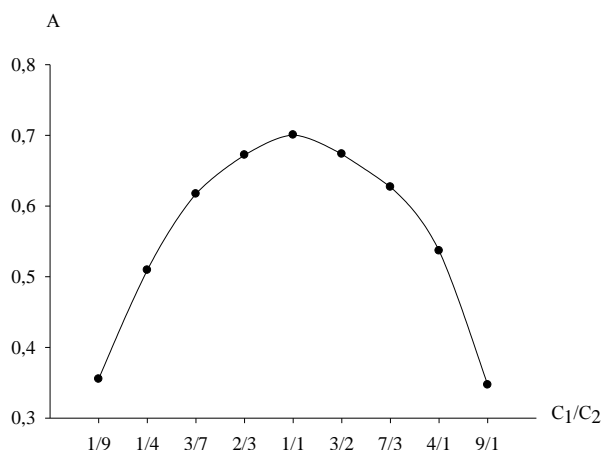


Рис. 3.18. Графік залежності оптичної густини від складу ізомолярного розчину (C_1 – 0,002 М розчин БКЗ, C_2 – 0,002 М розчин бетаксолулу гідрохлориду) при 408 нм

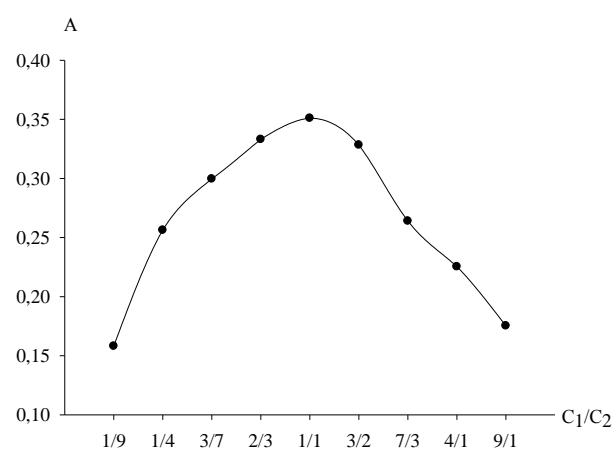


Рис. 3.19. Графік залежності оптичної густини від складу ізомолярного розчину (C_1 – 0,003 М розчин БТС, C_2 – 0,003 М розчин небіволулу гідрохлориду) при 401 нм

Найбільш поширеним методом дослідження складу сполук є метод молярних співвідношень (метод насичення). В основі методу лежить встановлення залежності оптичної густини від концентрації одного з компонентів реакційної суміші при постійній концентрації другого компонента і навпаки. Точка перегину на кривій насичення відповідає відношенню концентрацій реагуючих сполук та дорівнює стехіометричному коефіцієнту компонента, концентрація якого змінювалася (рис. 3.20 – 3.26).

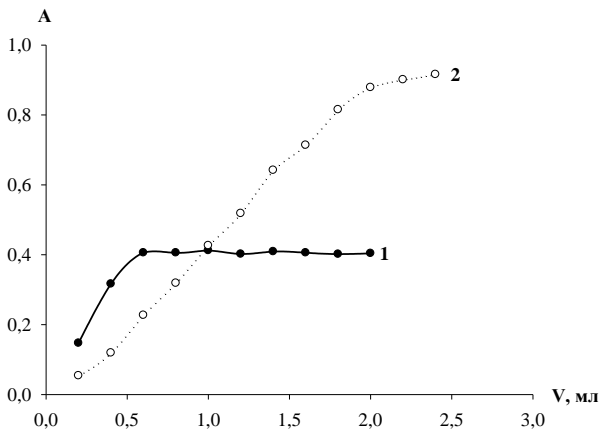


Рис. 3.20. Криві насичення: 1 – метопрололу тартрату при постійній концентрації БКП (1,00 мл 0,0002 М розчину); 2 – БКП при постійній концентрації метопрололу тартрату (1,00 мл 0,0002 М розчину)

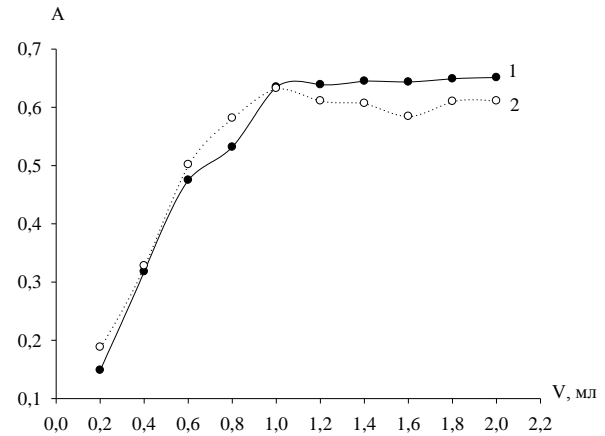


Рис. 3.21. Криві насичення: 1 – карведілолу при постійній концентрації БКП (1,00 мл 0,0005 М розчину); 2 – БКП при постійній концентрації карведілолу (1,00 мл 0,0005 М розчину)

Досліди проводили з двома серіями розчинів. Наприклад, в першій серії досліду, у мірні колби ємністю 10,00 мл додавали 0,20; 0,40; 0,60; 0,80; 1,00; 1,20; 1,40; 1,60; 1,80 та 2,00 мл 0,0002 М розчину метопрололу тартрату. До кожної проби додавали по 1,00 мл 0,0002 М розчину БКП та аналізували за загальною методикою. У другій серії досліду проводили аналогічне визначення, але тепер об'єм 0,0002 М розчину метопрололу тартрату залишався незмінним (1,00 мл), а об'єми 0,0002 М розчину БКП змінювалися від 0,20 до 2,00 мл. В подальшому отримані розчини аналізували за загальною методикою. За отриманими результатами будували криві насичення (рис. 3.20). Аналогічні дослідження було проведено для карведілолу та соталоу гідрохлориду з БКП, небіволулу гідрохлориду та атенололу з БТС, бісопрололу фумарату з ТС, а також бетаксолулу гідрохлориду з БКЗ.

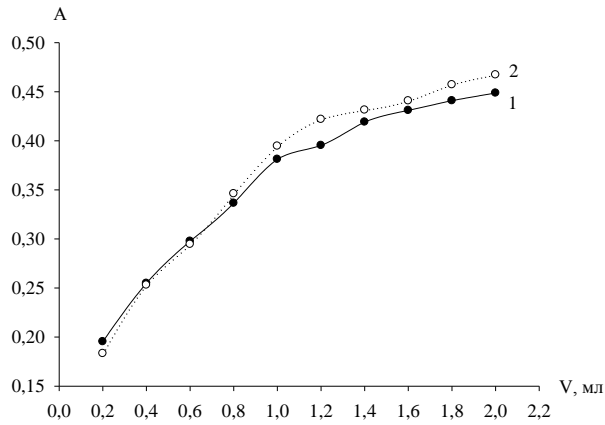


Рис. 3.22. Криві насичення: 1 – соталолу гідрохлориду при постійній концентрації БКП (1,00 мл 0,0035 М розчину); 2 – БКП при постійній концентрації соталолу гідрохлориду (1,00 мл 0,0035 М розчину)

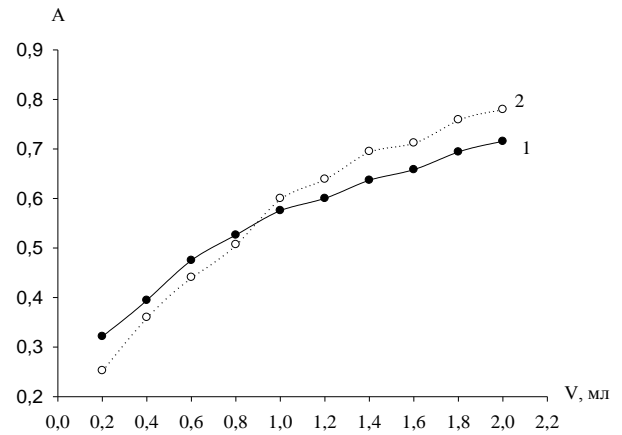


Рис. 3.23. Криві насичення: 1 – небіволу гідрохлориду при постійній концентрації БТС (1,00 мл 0,003 М розчину); 2 – БТС при постійній концентрації небіволу гідрохлориду (1,00 мл 0,003 М розчину)

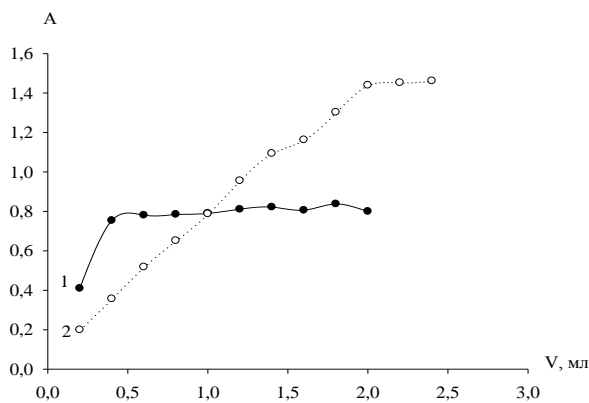


Рис. 3.24. Криві насичення: 1 – бісопрололу фумарату при постійній концентрації ТС (1,00 мл 0,002 М розчину); 2 – ТС при постійній концентрації бісопрололу фумарату (1,00 мл 0,002 М розчину)

Як видно на рис. 3.14 та 3.20, метопрололу тартрат взаємодіє з БКП у співвідношенні 1:2, але виходячи з того, що до складу молекули метопрололу тартрату входить 2 катіона метопрололу, продукт реакції містить монокатіон метопрололу та моноаніон БКП. Таким чином, метопролол взаємодіє з БКП у співвідношенні 1:1. Реакція бісопрололу фумарату з ТС перебігає аналогічно (рис. 3.13 та 3.24).

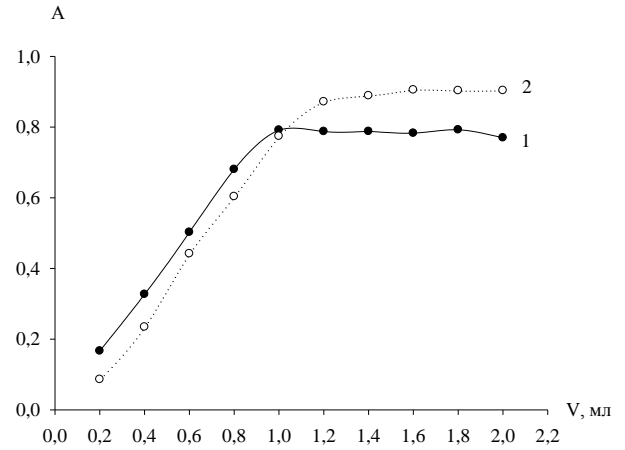
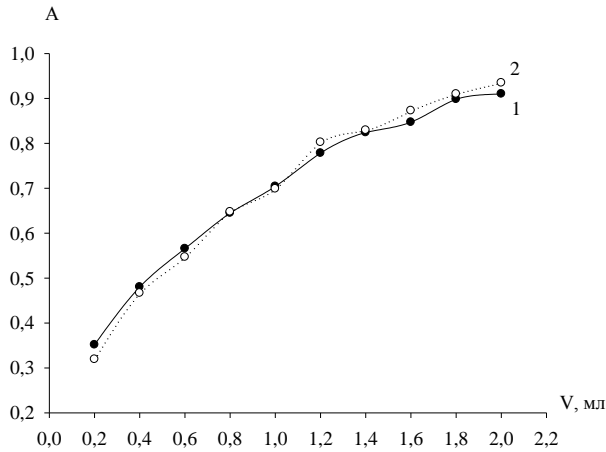


Рис. 3.25. Криві насичення: 1 – бетаксолу гідрохлориду при постійній концентрації БКЗ (1,00 мл 0,002 М розчину); 2 – БКЗ при постійній концентрації бетаксолу (1,00 мл 0,0005 М розчину);
Рис. 3.26. Криві насичення: 1 – атенололу при постійній концентрації БТС (1,00 мл 0,0005 М розчину); 2 – БТС при постійній концентрації атенололу (1,00 мл 0,002 М розчину)

Стехіометричні співвідношення реагуючих компонентів «лікарська речовина – сульффталеїновий барвник», одержані методами неперервних змін та методом насичення однозначно погоджуються між собою та наведені у табл. 3.3.

Таблиця 3.3

**Співвідношення компонентів реакції
лікарська речовина – сульффталеїновий барвник**

Лікарська речовина – сульффталеїновий барвник	Метод визначення	
	метод неперервних змін	метод насичення
1	2	3
Метопрололу тартрат – БКП	1:1	1:1

Продовж. табл. 3.3

1	2	3
Карведілол – БКП	1:1	1:1
Соталолу гідрохлорид – БКП	1:1	1:1
Небівололу гідрохлорид – БТС	1:1	1:1
Бетаксололу гідрохлорид – БКЗ	1:1	1:1
Атенолол – БТС	1:1	1:1
Біспрололу фумарат – ТС	1:1	1:1

3.4 Виділення та ідентифікація продуктів взаємодії досліджуваних лікарських речовин з сульфогталеїновими барвниками

Для встановлення структур виділених продуктів реакції було застосовано методи ІЧ-спектрофотометрії, хромато-мас-спектрометрії та спектрометрії ядерного магнітного резонансу.

ІЧ-спектри реєстрували на спектрофотометрі Bruker Alpha в області 7500-400 cm^{-1} з використанням приставки ATR (пряме введення речовини). Хромато-мас-спектри – на високоефективному рідинному хроматографі Agilent 1260 Series, оснащеному діодно-матричним та мас-селективним детектором Agilent LC/MSD SL. Спосіб іонізації – хімічна іонізація при атмосферному тиску (APCI). Режим іонізації – одночасне сканування позитивних та негативних іонів у діапазоні мас 80-1000 m/z . ^1H ЯМР-спектри – на спектрофотометрі ядерного магнітного резонансу Bruker 500, розчинник ДМСО- d_6 , внутрішній стандарт – ТМС.

3.4.1 Виділення продуктів взаємодії досліджуваних лікарських речовин з сульфогталеїновими барвниками. У відповідності зі встановленими стехіометричними співвідношеннями компонентів реакцій (розд. 3.3) та оптимальними умовами проведення реакцій (розд. 3.1), було виділено забарвлені продукти взаємодії досліджуваних лікарських речовин, а

саме атенололу, бетаксолोलу гідрохлориду, бісопрололу фумарату, карведілолу та соталолу гідрохлориду з відповідними сульфоталеїновими барвниками.

Загальні методики виділення продуктів реакцій досліджуваних лікарських речовин з сульфоталеїновими барвниками:

Бісопрололу фумарату з ТС: 76,69 мг (0,0001 моль) бісопрололу фумарату розчиняли у 5,00 мл хлороформу, додавали розчин 95,12 мг (0,0001 моль) ТС у 5,00 мл хлороформу, перемішували та залишали на 30 хв при кімнатній температурі. До суміші додавали *n*-гексан до помутніння та залишали для викристалізації на 24 год. Осад відфільтровували крізь паперовий фільтр «Синя стрічка», промивали декілька раз *n*-гексаном та сушили при кімнатній температурі. Виділений продукт реакції представляє собою цегляно-червоні кристали, розчинні у хлороформі, метанолі, етанолі, ацетоні та ДМСО, дуже мало розчинні у воді, нерозчинні у *n*-гексані. Вихід одержаної сполуки складає 147,31 мг (85,74%).

Атенололу з БТС: 53,30 мг (0,0002 моль) атенололу розчиняли у 0,30 мл води очищеної та 2,00 мл ацетону, додавали розчин 124,90 мг (0,0002 моль) БТС у 2,00 мл ацетону, перемішували та залишали на 24 год при кімнатній температурі. Виділений продукт реакції представляє собою цегляно-червоні кристали, розчинні у хлороформі, метанолі, етанолі, ацетоні та ДМСО, мало розчинні у воді. Вихід одержаної сполуки складає 160,55 мг (90,10%).

Карведілолу з БКП: 81,30 мг (0,0002 моль) карведілолу розчиняли у 2,00 мл ацетону, додавали розчин 108,00 мг (0,0002 моль) БКП у 2,00 мл ацетону, перемішували та залишали на 24 год при кімнатній температурі. Виділений продукт реакції представляє собою цегляно-червоні кристали, розчинні у хлороформі, метанолі, етанолі, ацетоні та ДМСО, дуже мало розчинні у воді. Вихід одержаної сполуки складає 178,88 мг (94,50%).

Бетаксололу гідрохлориду з БКЗ: 61,50 мг (0,0002 моль) бетаксололу гідрохлориду розчиняли у 2,00 мл ацетону, додавали розчин 139,60 мг (0,0002 моль) БКЗ у 3,00 мл ацетону, перемішували та залишали на 24 год при кімнатній температурі. Виділений продукт реакції представляє собою цегляно-

червоні кристали, розчинні у хлороформі, метанолі, етанолі, ацетоні та ДМСО, дуже мало розчинні у воді. Вихід одержаної сполуки складає 183,40 мг (88,20%).

Соталолу гідрохлориду з БКП: 61,80 мг (0,0002 моль) атенололу розчиняли у 0,20 мл води очищеної та 1,00 мл ацетону, додавали розчин 108,00 мг (0,0002 моль) БТС у 1,20 мл ацетону, перемішували та залишали на 24 год при кімнатній температурі. Виділений продукт реакції представляє собою цегляно-червоні кристали, розчинні у хлороформі, метанолі, етанолі, ацетоні та ДМСО, дуже мало розчинні у воді. Вихід одержаної сполуки складає 158,42 мг (86,30%).

3.4.2 Ідентифікація продуктів взаємодії досліджуваних лікарських речовин з сульфоталеїновими барвниками. Нещодавнє дослідження А. D. Panainte, щодо взаємодії бісопрололу фумарату з бромкрезоловим зеленим у середовищі хлороформу, показало співвідношення реакції 1:1 [161]. Також А. S. M. Al-Ghannam, досліджуючи утворення іонних пар атенололу, тимололу та надололу з бромфеноловим синім, бромтимоловим синім та бромкрезоловим пурпурним, довів, що реакції між досліджуваними речовинами та сульфоталеїновими барвниками перебігають у співвідношенні 1:1 у кожному випадку, згідно вирахованих констант стабільності (K_F) [162].

Для доведення того, що в результаті взаємодії лікарської речовини з реагентом утворюється іонний асоціат було проведено ІЧ-спектрометричне дослідження одного з β -блокаторів, а саме бісопрололу фумарату, тимолового синього та продукту їх реакції. Схему взаємодії сполук представлено на рис. 3.27.

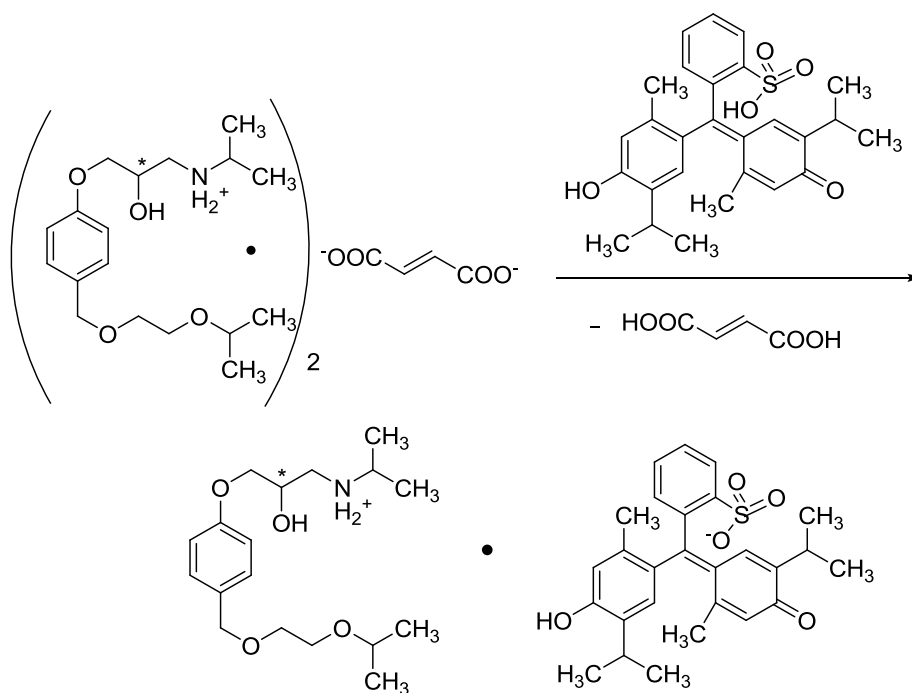


Рис. 3.27. Схема взаємодії бісопрололу фумарату з тимоловим синім

Вихідні сполуки та іонний асоціат характеризуються наявністю усіх відповідних валентних та деформаційних коливань згідно запропонованих структур (табл. 3.4).

Таблиця 3.4

Характеристичні смуги та тип коливань у ІЧ-спектрах досліджуваних сполук, см⁻¹

Група	Бісопролол		Тимоловий синій		Продукт	
	2	3	4	5	6	7
-OH	3114	ν	3054	ν	3247	-
-COO ⁻	1609	ν_{as}	-	-	1603	ν_{as}
	1334	ν_s	-	-	1335	ν_s
-C-O-C	1082	ν	-	-	1077	ν
-C=O	-	-	1746	ν	1621	ν
-SO ₃ H/-SO ₃ ⁻	-	-	1240	ν_{as}	1231	ν_{as}
	-	-	1083	ν_s	1082	ν_s

Продовж. табл. 3.4

1	2	3	4	5	6	7
-NH ₂ ⁺	2717	ν	-	-	2746	ν
	1566	δ	-	-	1574	δ
-C(CH ₃) ₂	1366	δ	1378	δ	1343	δ
Ar кільце	1565	ν	1555	ν	1574	ν

Так, у ІЧ-спектрі продукту реакції спостерігається гіпсохромний зсув сигналу карбонільної, сульфо-, етерної груп та метильних замісників. Протонування вторинної аміної групи бісопрололу підтверджується валентними коливаннями, що фіксуються при 2746 та 1574 см⁻¹. Набуває малої інтенсивності та уширюється сигнал валентного коливання ОН-групи, а валентні коливання ароматичних кілець набувають незначного батохромного зсуву. Що стосується деформаційних коливань СН-, СО-, CN- та CS-зв'язків, то вони присутні з відповідною інтенсивністю в області 1300–600 см⁻¹.

Для ідентифікації та доведення індивідуальності вихідних сполук та вивчення продуктів реакцій було хромато-мас-спектрометрично досліджено декілька β-блокаторів у вигляді солей (бісопрололу фумарат, бетаксолу гідрохлорид та соталоу гідрохлорид) й основ (карведілол і атенолол), та відповідних реагентів (БКЗ, БКП, БТС і ТС), а також утворені ними продукти реакцій, за умов розчинення досліджуваних речовин та реагентів у співвідношенні 1:1 у середовищі хлороформу чи ацетону для сприяння формування та послаблення іонізації утворених іонних асоціатів внаслідок збільшення діелектричної проникності останнього розчинника.

Одержані хроматограми доводять, що чистота сполук становить 98–100% (Дод. Б). Для продукту реакції, на хроматограмі іонного асоціату між бісопрололу фумаратом та тимоловим синім у середовищі хлороформу реєструвалися два піки у співвідношенні один до чотирьох, а саме *m/z* 325 бісопрололу (22%) на *m/z* 466 (78%) тимолового синього, з часом виходу, що

відповідає вихідним сполукам. Таким чином, враховуючи, що субстанція є фумаратом, реакція протонування тимоловим синім проходить як за аміногрупою бісопрололу, так і двома карбоксильними залишками фумарової кислоти, тобто з однією молекулою основи бісопрололу реагує одна молекула реагенту у співвідношенні 1:1. Висновок, щодо утворення іонних асоціатів між лікарськими речовинами та відповідними реагентами, було підтверджено хромато-мас-спектром іонної пари карведілолу та бромкрезолового пурпурного з наступними даними: m/z 406 (44,51%) та m/z 537 (55,49%) відповідно.

Для однозначного доведення утворення іонних асоціатів було знято ^1H ЯМР-спектри для усіх досліджуваних β -блокаторів та продуктів реакції між атенололом та БТС, бісопрололу фумаратом та ТС, бетаксололу гідрохлоридом та БКЗ, карведілолом та БКП й соталолу гідрохлоридом та БКП. Для кращої інтерпретації результатів ^1H ЯМР-спектрів на рис. 3.28 усі протони сполук та реагентів було пронумеровано відповідно цифрою та цифрою з штрихом, сигнали та розщеплення яких відповідали запропонованим структурам (Дод. А, рис. 3.28) та даним літератури [163–166].

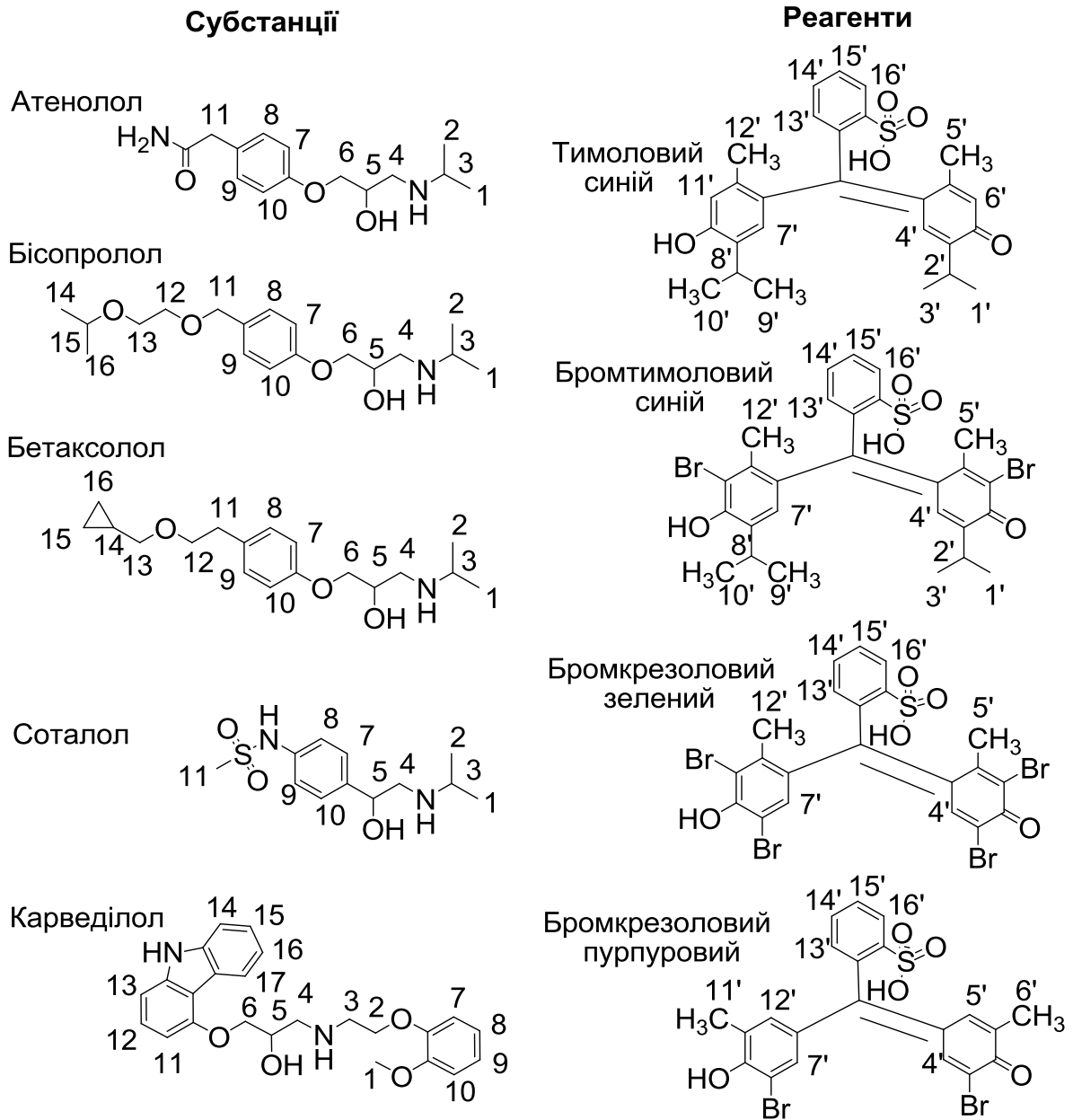


Рис. 3.28. Структурні формули досліджуваних β -блокаторів та сульфофталеїнових барвників

^1H ЯМР спектри досліджуваних сполук та отриманих продуктів реакції однозначно довели їх будову згідно хімічних зсувів сигналів протонів та їх відповідної мультиплетності. Внаслідок наявності великої кількості ароматичних протонів, як у субстанціях, так і у барвників, що значною мірою ускладнює інтерпретацію спектрів продуктів реакції, було проаналізовано дані літератури, для однозначного віднесення того, чи іншого сигналу до відповідного протону. Так, М. А. Zielinska-Pisklak зі співавторами у своїй роботі довели структуру карведілолу, піндололу, альпренололу, ацебутололу, атенололу, пропанололу та тимололу за допомогою двовимірних ^1H та ^{13}C ЯМР досліджень (кореляційна спектроскопія – COSY, гетероядерна одноквантова кореляційна спектроскопія – HSQC, гетероядерна багатозв'язна кореляційна спектроскопія – HMBC та ядерна спектроскопія з ефектом Оверхаузера – NOESY) [166]. Також у базі сполук Hanhong Scientific (Китай) було знайдено спектри БКЗ та БКП [163, 164]. Тому сигнали наявних ^1H ЯМР спектрів було обрано за еталони порівняння, та наведено у дод. А.

Основними маркерами утворення іонних асоціатів є хімічні зсуви сигналів 3–5 протонів β -блокаторів, на які впливає протонування аліфатичної компоненти молекули субстанцій кислим протоном сульфогрупи барвника.

Так, підтвердженням утворення іонного асоціату атенололу з БТС є фіксація сигналу п'ятого протону при 4,14 м.ч., що співпадає з даними літератури для атенололу гідрохлориду – 4,12 м.ч., більш того, у разі наявності атенололу-основи, відбувався дезекрануючий зсув сигналу до 4,78 м.ч. Також незначний сильнопольний зсув протонів 13' та 15' бромтимолового синього свідчить про перерозподіл електронної густини внаслідок утворення його аніону.

У випадку карведілолу спостерігається слабкопольний зсув 3–6 протонів, а сигнал ОН-групи також зсувається до 5,93 м.ч. з 5,02 м.ч. Та найбільшого екрануючого впливу при перерозподілі електронної густини у бромкрезоловому пурпурному в асоціаті з карведілолом зазнають 4', 5' та 14' протони.

Більшість ароматичних фенільних протонів сполук внаслідок утворення іонної пари фіксуються як нерозщеплені мультиплети. Деякі сигнали еквівалентних метильних протонів також зазнають розщеплення, наприклад, для продукту реакції бісопрололу з ТС.

Протони аліфатичної NH-групи сполук спостерігались у слабкому полі у вигляді уширених синглетів чи мультиплетів для вихідних сполук та зазнавали екранованого зсуву внаслідок протонування атому нітрогену у продуктах реакції.

Поява уширеного синглету NH_2^+ -групи при 8,83 м.ч. та слабкопольного зсуву сигналу OH-групи з 5,01 м.ч. до 5,93 м.ч., свідчить про утворення іонного асоціату між карведілолом та БКП. У спектрі продукту атенололу з БТС також наявний двопротонний уширений сигнал NH_2^+ -групи при 8,37 м.ч. та уширений синглет OH-групи при 6,65 м.ч..

Цікавим спостереженням є знаходження найбільш екранованого сигналу OH-групи бромкрезолового зеленого, що спостерігався під впливом чотирьох електронно-донорних замісників броду при 4,12 м.ч., та дезекранований карбазольний гетероциклічний сигнал NH-групи при 11,06 м.ч. – для карведілолу, що внаслідок реакцій з бетаксоллолом та БКП відповідно зсувалися до 4,94 м.ч. та 11,14 м.ч.

Інтенсивність сигналів та наявність хімічних зсувів на ПМР спектрах продуктів реакції соталолу з БКП та бетаксоллолу з БКП підтверджують, що іонні асоціати утворюються, але з дуже незначним виходом за умов експерименту.

Цікавим аспектом ^1H ЯМР спектра бісопрололу фумарату є наявність подвійної кількості усіх протонів, через присутність рацемічної суміші його двох енантіомерів (рис. 3.27, Дод. А.1), що також підтверджується даними літератури [167]. Крім того, його обмінні протони OH- та NH-груп не спостерігались з-за дейтерообміну з $\text{DMSO-}d_6$.

Також було знято ^{13}C ЯМР спектр для продукту реакції карведілолу з БКП, для порівняння сигналу OC5 та NC4 з даними дослідження

М. А. Zielinska-Pisklak та інших, які довели, що можна впевнено розрізнити β -блокатори у вигляді солей та основ по положенню вказаних сигналів, що у випадку солей спостерігаються в інтервалі 65-65,5 м.ч. для ОС5 та 46,9-47 м.ч. для NS4 проти 70 та 52 м.ч. відповідно [166]. Так, на спектрі ОС5 фіксувався при 65,60 м.ч., а NS4 при 46,95 м.ч..

Ці зміни однозначно вказують на проходження в досліджуваних розчинах процесів, пов'язаних з формуванням іонних асоціатів.

За матеріалами розділу опубліковано роботи [169–171, 175, 178–180, 194].

ВИСНОВКИ

1. Встановлено оптимальні умови реакцій досліджуваних лікарських речовин, що містять вторинну аліфатичну аміногрупу з сульфоталеїновими барвниками:

✓ визначено й порівняно чутливість реакцій досліджуваних лікарських речовин з сульфоталеїновими барвниками у різних розчинниках;

✓ обрано оптимальний реагент, а також його кількість, необхідну для повноти перебігу реакції для кожної лікарської речовини;

✓ доведено, що досліджувані лікарські речовини вступають в реакцію з 0,04–1,00% розчинами ТС, БКЗ, БКП та БТС в середовищі ацетону або хлороформу;

✓ встановлено, що реакції перебігають швидко, при кімнатній температурі та не потребують додаткових умов;

✓ отримані в результаті реакцій взаємодії досліджуваних лікарських речовин з сульфоталеїновими барвниками продукти стабільні протягом щонайменше 30 хв.

2. Розраховано аналітичні показники чутливості реакцій «лікарська речовина – сульфоталеїновий барвник» для 9 лікарських речовин за їх реакціями з ТС, БКП, БКЗ, БТС. Низькі значення відкривальних мінімумів 0,67–5,88 мкг/мл, а також високі значення молярних коефіцієнтів

світлопоглинання $2,16 \cdot 10^3$ – $4,54 \cdot 10^4$ свідчать про високу чутливість даних реакцій.

3. Встановлено стехіометричні співвідношення «лікарська речовина – сульфоталеїновий барвник», які складають 1:1 для продуктів реакцій сульфоталеїнових барвників з атенололом, біспрололу фумаратом, бетаксолу гідрохлоридом, карведілолом, метопрололу тартратом, небіволу гідрохлоридом та соталолу гідрохлоридом.

4. Виділено та ідентифіковано продукти реакцій атенололу, бетаксолу гідрохлориду, біспрололу фумарату, карведілолу та соталолу гідрохлориду з відповідними сульфоталеїновими барвниками. За допомогою ІЧ- та ^1H ЯМР спектроскопії підтверджено, що продуктами реакцій є іонні асоціати.

РОЗДІЛ 4

РОЗРОБКА МЕТОДИК КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ ЗА ЇХ РЕАКЦІЯМИ З СУЛЬФОФТАЛЕЇНОВИМИ БАРВНИКАМИ

4.1 Методика визначення питомого показника поглинання лікарських речовин за їх реакціями з сульфоталеїновими барвниками

В основу розробки спектрофотометричних методик кількісного визначення досліджуваних лікарських речовин у складі лікарських форм були покладені експериментально встановлені оптимальні умови реакцій лікарських речовин з сульфоталеїновими барвниками.

Кількісне визначення проводили у межах концентрацій лікарських речовин, у яких спостерігається підпорядкування основному закону світлопоглинання. Для цього попередньо було проведено визначення величин абсорбції серії розчинів досліджуваних речовин з різною концентрацією та розраховано величини питомих показників поглинання ($A_{1\text{см}}^{1\%}$) для кожної концентрації. Для кількісного визначення було обрано інтервали концентрацій, у яких значення $A_{1\text{см}}^{1\%}$ були постійними або у межах допустимих відхилень (табл. 4.1).

Розрахунок питомого показника поглинання проводили 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.

Таблиця 4.1

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

Лікарська речовина	λ_{\max} , нм	Обраний інтервал концентрацій, мг/100 мл	$A_{1\text{см}}^{1\%}(\bar{x} \pm \Delta\bar{x})$
Атенолол	402	1,80–2,80	666±1
Бетаксолулу гідрохлорид	408	1,65–2,75	300±1
Бісопрололу фумарат	420	2,50–3,75	236±1
Карведілол	398	1,00–2,40	423±1
Небівололу гідрохлорид	401	4,00–6,80	136±1
Метопрололу тартрат	400	1,00–2,00	614±2
Сальбутамолу сульфат	413	0,40–2,00	663±4
Соталолу гідрохлорид	399	4,80–7,80	70±1
Фенілефрину гідрохлорид	410	1,20–2,00	644±2

З метою виключення систематичної похибки, що може бути спричинена умовами виконання експерименту та для отримання більш точних результатів аналізу, було використано метод стандарту. Для кількісного визначення застосовували стандартні розчини досліджуваних лікарських речовин, які готували з субстанцій лікарських речовин, що відповідали вимогам нормативної документації (розд. 2.1). Концентрації початкових стандартних розчинів та розчинів порівняння, які спектрофотометрували, наведені в табл. 4.2.

Таблиця 4.2

Значення концентрацій стандартних розчинів

Лікарська речовина	Концентрація		Розчинник
	початкового розчину, %	розчину, який спектрофотометрують, г/100 мл	
Атенолол	0,020	0,0020	ацетон
Бетаксолулу гідрохлорид	0,020	0,0020	ацетон
Бісопрололу фумарат	0,030	0,0030	хлороформ
Карведілол	0,017	0,0017	ацетон
Небівололу гідрохлорид	0,054	0,0054	ацетон, що містить 2% води
Метопрололу тартрат	0,015	0,0015	ацетон, що містить 2% води
Сальбутамолу сульфат	0,030	0,0012	ацетон, що містить 4% води
Соталолу гідрохлорид	0,060	0,0060	ацетон, що містить 2% води
Фенілефрину гідрохлорид	0,040	0,0016	ацетон, що містить 4% води

4.2 Методики кількісного визначення досліджуваних лікарських речовин у складі лікарських форм

Приготування робочих стандартних розчинів: точну наважку РСЗ, відповідної лікарської речовини, згідно концентрацій початкових розчинів,

вказаних в табл. 4.2, вміщують у мірну колбу ємністю 100,00 мл, розчиняють у відповідному розчиннику та доводять цим розчинником до позначки, перемішують.

Методика кількісного визначення атенололу в таблетках. Точну наважку ретельно розтертої таблеткової маси переносять у мірну колбу (табл. 4.3), доводять ацетоном до позначки, озвучують в ультразвуковій бані за кімнатної температури протягом 2 хв. Після цього розчин фільтрують через паперовий беззольний фільтр («Синя стрічка»), відкидаючи перші порції фільтрату. З наступних порцій фільтрату беруть 1,00 мл розчину, переносять у мірну колбу на 10,00 мл, додають 1,00 мл розчину БТС, доводять ацетоном до позначки та вимірюють абсорбцію отриманих розчинів на фоні компенсаційного розчину, що не містить досліджуваної речовини за аналітичної довжини хвилі, що вказана у табл. 4.1. Паралельно проводять досліди з 1,00 мл робочого стандартного розчину. Розрахунок вмісту діючої речовини проводять за формулою 4.2.

Методика кількісного визначення бетаксололу гідрохлориду в таблетках. Точну наважку ретельно розтертої таблеткової маси переносять у мірну колбу (табл. 4.3), доводять ацетоном до позначки, озвучують в ультразвуковій бані за кімнатної температури протягом 1 хв. Після цього розчин фільтрують через паперовий беззольний фільтр («Синя стрічка»), відкидаючи перші порції фільтрату. З наступних порцій фільтрату беруть 1,00 мл розчину, переносять у мірну колбу на 10,00 мл, додають 2,00 мл розчину БКЗ, доводять ацетоном до позначки та вимірюють абсорбцію отриманих розчинів на фоні компенсаційного розчину, що не містить досліджуваної речовини за аналітичної довжини хвилі, що вказана у табл. 4.1. Паралельно проводять досліди з 1,00 мл робочого стандартного розчину. Розрахунок вмісту діючої речовини проводять за формулою 4.2.

Методика кількісного визначення бісопрололу фумарату в таблетках. Точну наважку ретельно розтертої таблеткової маси переносять у мірну колбу (табл. 4.3), перемішують (наважку «Бісопролол-Ратіофарм» 5 мг перемішують

протягом 20 хв за допомогою магнітної мішалки), доводять хлороформом до позначки. Після цього розчин фільтрують через паперовий беззольний фільтр («Синя стрічка»), відкидаючи перші порції фільтрату. З наступних порцій фільтрату беруть 2,00 мл розчину, переносять у мірну колбу на 10,00 мл, додають 1,00 мл розчину ТС, доводять хлороформом до позначки та вимірюють абсорбцію отриманих розчинів на фоні компенсаційного розчину, що не містить досліджуваної речовини за аналітичної довжини хвилі, що вказана у табл. 4.1. Паралельно проводять досліди з 1,00 мл робочого стандартного розчину. Розрахунок вмісту діючої речовини проводять за формулою 4.2.

Методика кількісного визначення карведілолу в таблетках. Точну наважку ретельно розтертої таблеткової маси переносять у мірну колбу (табл. 4.3), доводять ацетоном до позначки, озвучують в ультразвуковій бані за кімнатної температури протягом 2 хв. Після цього розчин фільтрують через паперовий беззольний фільтр («Синя стрічка»), відкидаючи перші порції фільтрату. З наступних порцій фільтрату беруть 1,00 мл розчину, переносять у мірну колбу на 10,00 мл, додають 1,00 мл розчину БКП, доводять ацетоном до позначки та вимірюють абсорбцію отриманих розчинів на фоні компенсаційного розчину, що не містить досліджуваної речовини за аналітичної довжини хвилі, що вказана у табл. 4.1. Паралельно проводять досліди з 1,00 мл робочого стандартного розчину. Розрахунок вмісту діючої речовини проводять за формулою 4.2.

Методика кількісного визначення небівололу гідрохлориду в таблетках. Точну наважку ретельно розтертої таблеткової маси переносять у мірну колбу (табл. 4.3), додають 2,00 мл води очищеної, доводять ацетоном до позначки, озвучують в ультразвуковій бані за кімнатної температури протягом 2 хв. Після цього розчин фільтрують через паперовий беззольний фільтр («Синя стрічка»), відкидаючи перші порції фільтрату. З наступних порцій фільтрату беруть 1,00 мл розчину, переносять у мірну колбу на 10,00 мл, додають 2,00 мл розчину БТС, доводять ацетоном до позначки та вимірюють абсорбцію отриманих розчинів на фоні компенсаційного розчину, що не містить досліджуваної

речовини за аналітичної довжини хвилі, що вказана у табл. 4.1. Паралельно проводять досліди з 1,00 мл робочого стандартного розчину. Розрахунок вмісту діючої речовини проводять за формулою 4.2.

Методика кількісного визначення метопрололу тартрату в таблетках.

Точну наважку ретельно розтертої таблеткової маси переносять у мірну колбу (табл. 4.3), додають 2,00 мл води очищеної, доводять ацетоном до позначки, озвучують в ультразвуковій бані за кімнатної температури протягом 5 хв. Після цього розчин фільтрують через паперовий беззольний фільтр («Синя стрічка»), відкидаючи перші порції фільтрату. З наступних порцій фільтрату беруть 4,00 мл розчину, переносять у мірну колбу на 10,00 мл, додають 1,00 мл розчину БКП, доводять ацетоном до позначки та вимірюють абсорбцію отриманих розчинів на фоні компенсаційного розчину, що не містить досліджуваної речовини за аналітичної довжини хвилі, що вказана у табл. 4.1. Паралельно проводять досліди з 1,00 мл робочого стандартного розчину. Розрахунок вмісту діючої речовини проводять за формулою 4.2.

Методика кількісного визначення сальбутамолу сульфату в аерозолі.

Інгалятор тримають догори дном і роблять 15–60 натискань, що відповідає 1,5–6,0 мг діючої речовини, під поверхнею води у фарфоровій чашці, що містить 2,50 мл води очищеної. Отриманий розчин кількісно переносять у мірну колбу ємністю 25,00 мл та доводять ацетоном до позначки, ретельно перемішують. 2,00 мл отриманого розчину переносять у мірну колбу на 25,00 мл, додають 1,00 мл розчину БКЗ, доводять ацетоном до позначки та вимірюють абсорбцію отриманих розчинів на фоні компенсаційного розчину, що не містить досліджуваної речовини за аналітичної довжини хвилі, що вказана у табл. 4.1. Паралельно проводять досліди з 1,00 мл робочого стандартного розчину. Розрахунок вмісту діючої речовини проводять за формулою 4.3.

Методика кількісного визначення соталолу гідрохлориду в таблетках.

Точну наважку ретельно розтертої таблеткової маси переносять у мірну колбу (табл. 4.3), додають 2,00 мл води очищеної, доводять ацетоном до позначки, озвучують в ультразвуковій бані за кімнатної температури протягом 2 хв. Після

цього розчин фільтрують через паперовий беззольний фільтр («Синя стрічка»), відкидаючи перші порції фільтрату. З наступних порцій фільтрату беруть 1,00 мл розчину, переносять у мірну колбу на 10,00 мл, додають 2,00 мл розчину БКП, доводять ацетоном до позначки та вимірюють абсорбцію отриманих розчинів на фоні компенсаційного розчину, що не містить досліджуваної речовини за аналітичної довжини хвилі, що вказана у табл. 4.1. Паралельно проводять досліди з 1,00 мл робочого стандартного розчину. Розрахунок вмісту діючої речовини проводять за формулою 4.2.

Методика кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду в розчині для ін'єкцій. 1,00 мл розчину для ін'єкцій переносять у мірну колбу на 25,00 мл, доводять ацетоном до позначки, перемішують. 0,80–1,20 мл отриманого розчину переносять у мірну колбу на 25,00 мл, додають 5,00 мл розчину БКЗ, доводять ацетоном до позначки та вимірюють абсорбцію отриманих розчинів на фоні компенсаційного розчину, що не містить досліджуваної речовини за аналітичної довжини хвилі, що вказана у табл. 4.1. Паралельно проводять досліди з 1,00 мл робочого стандартного розчину. Розрахунок вмісту діючої речовини проводять за формулою 4.4.

Таблиця 4.3

Умови кількісного визначення досліджуваних лікарських речовин у складі лікарських препаратів (n=6, p=0,95)

Лікарський препарат	Наважка, г	Ємність мірної колби для розчинення, мл
1	2	3
Таблетки «Атенолол-Астрафарм» 0,1 г	0,0635–0,0987	100,00
Таблетки «Атенобене» 0,1 г	0,0763–0,1187	100,00
Таблетки «Атенолол-Здоров'я» 0,05 г	0,0655–0,1019	100,00
Таблетки «Бетак» 0,02 г	0,2049–0,3415	100,00
Таблетки «Бетакор» 0,02 г	0,1973–0,3289	100,00

1	2	3
Таблетки «Локрен» 0,02 г	0,2030–0,3382	100,00
Таблетки «Бісопролол-Ратіофарм» 10 мг	0,2224–0,3291	100,00
Таблетки «Бісопролол-Ратіофарм» 5 мг	0,4490–0,6645	100,00
Таблетки «Бісопролол-Лугал» 10 мг	0,2520–0,3728	100,00
Таблетки «Бісопролол-Лугал» 5 мг	0,2512–0,3712	100,00
Таблетки «Корвазан 25»	0,0739–0,1775	100,00
Таблетки «Корвазан 12,5»	0,1475–0,3542	100,00
Таблетки «Коріол 25»	0,0729–0,1751	100,00
Таблетки «Коріол 12,5»	0,1438–0,3452	100,00
Таблетки «Небівал», 0,005 г	1,8608–3,1634	100,00
Таблетки «Метопрололу тартрат», 0,1 г	0,0150–0,0299	100,00
Таблетки «Метопрололу тартрат», 0,05 г	0,0151–0,0300	100,00
Таблетки «Корвітол 100»	0,0088–0,0176	100,00
Таблетки «Корвітол 50»	0,0090–0,0178	100,00
Таблетки «Егілок Ретард 50 мг»	0,0080–0,0160	100,00
Таблетки «Егілок Ретард 100 мг»	0,0080–0,0160	100,00
Таблетки «Метопролол 50»	0,0142–0,0284	100,00
Таблетки «Метопролол 100»	0,0142–0,0284	100,00
Таблетки «Беталок ЗОК 25»	0,0165–0,0329	100,00
Таблетки «Вазокардін 100»	0,0127–0,0255	100,00
Таблетки «Вазокардін 50»	0,0126–0,0253	100,00
Таблетки «Соритмік 80»	0,1113–0,1608	100,00
Таблетки «Соритмік 160»	0,1115–0,1611	100,00

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

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

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

$$x = \frac{A}{A_0 \cdot l \cdot 100} \cdot k, \quad (4.4)$$

де A – оптична густина досліджуваного розчину;

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

A_0 – оптична густина розчину порівняння;

p – наважка лікарської форми, г або мл;

l – товщина шару, см;

n – кількість доз;

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

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	Наважка, г (мл, дози)	Знайдено, г	Метрологічні характеристики
1	2	3	4
Таблетки «Атенолол-Астрафарм» 0,1 г	0,0652 0,0706 0,0779 0,0820 0,0886 0,0953	0,0979 0,0979 0,0978 0,0979 0,0980 0,0978	$\bar{X} = 0,0979$ $S = 7,53 \cdot 10^{-5}$ $s_x = 3,07 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x = 1,51 \cdot 10^{-4}$ $\bar{\Delta x} = 6,19 \cdot 10^{-5}$ $\bar{\varepsilon} = 0,0633$

Продовж. табл. 4.4

1	2	3	4
Таблетки «Атенобене» 0,1 г	0,0793 0,0839 0,0890 0,0930 0,1034 0,1138	0,0987 0,0987 0,0986 0,0988 0,0986 0,0988	$\bar{X}=0,0987$ $S=8,94 \cdot 10^{-5}$ $S_x=3,65 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x=1,80 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x}=7,35 \cdot 10^{-5}$ $\bar{\varepsilon}=0,0745$
Таблетки «Атенолол-Здоров'я» 0,05 г	0,0674 0,0757 0,0816 0,0873 0,0921 0,0999	0,0490 0,0491 0,0491 0,0490 0,0493 0,0491	$\bar{X}=0,0491$ $S=1,10 \cdot 10^{-4}$ $S_x=4,49 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x=2,21 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x}=9,05 \cdot 10^{-5}$ $\bar{\varepsilon}=0,184$
Таблетки «Бетак» 0,02 г	0,2094 0,2353 0,2512 0,2707 0,3090 0,3400	0,0199 0,0201 0,0200 0,0198 0,0197 0,0199	$\bar{X}=0,0199$ $S=1,41 \cdot 10^{-4}$ $S_x=5,76 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x=2,84 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x}=1,16 \cdot 10^{-4}$ $\bar{\varepsilon}=0,583$
Таблетки «Бетакор» 0,02 г	0,2113 0,2384 0,2512 0,2707 0,2910 0,3164	0,0202 0,0200 0,0203 0,0201 0,0200 0,0202	$\bar{X}=0,0201$ $S=1,21 \cdot 10^{-4}$ $S_x=4,94 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x=2,44 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x}=9,95 \cdot 10^{-5}$ $\bar{\varepsilon}=0,495$
Таблетки «Локрен» 0,02 г	0,2114 0,2392 0,2659 0,2917 0,3050 0,3298	0,0199 0,0199 0,0198 0,0198 0,0201 0,0202	$\bar{X}=0,0199$ $S=1,64 \cdot 10^{-4}$ $S_x=6,69 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x=3,30 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x}=1,35 \cdot 10^{-4}$ $\bar{\varepsilon}=0,678$
Таблетки «Бісопролол-Ратіофарм» 10 мг	0,2248 0,2354 0,2470 0,2536 0,2890 0,3287	0,00936 0,00938 0,00943 0,00945 0,00942 0,00946	$\bar{X}=0,00942$ $S=3,93 \cdot 10^{-5}$ $S_x=1,60 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x=7,92 \cdot 10^{-5}$ $\Delta \bar{x}=3,23 \cdot 10^{-5}$ $\bar{\varepsilon}=0,343$

Продовж. табл. 4.4

1	2	3	4
Таблетки «Бісопролол-Ратіофарм» 5 мг	0,4800 0,5117 0,5326 0,5568 0,6072 0,6628	0,00488 0,00482 0,00480 0,00476 0,00478 0,00467	$\bar{X} = 0,00478$ $S = 6,98 \cdot 10^{-5}$ $S_x = 2,85 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x = 1,41 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x} = 5,74 \cdot 10^{-5}$ $\bar{\varepsilon} = 1,20$
Таблетки «Бісопролол-Лугал» 10 мг	0,2520 0,2749 0,2919 0,3180 0,3546 0,3932	0,00941 0,00943 0,00946 0,00956 0,00947 0,00946	$\bar{X} = 0,00947$ $S = 5,17 \cdot 10^{-5}$ $S_x = 2,11 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x = 1,04 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x} = 4,24 \cdot 10^{-5}$ $\bar{\varepsilon} = 0,448$
Таблетки «Бісопролол-Лугал» 5 мг	0,2812 0,3018 0,3116 0,3280 0,3443 0,3692	0,00479 0,00489 0,00490 0,00489 0,00490 0,00488	$\bar{X} = 0,00487$ $S = 4,23 \cdot 10^{-5}$ $S_x = 1,73 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x = 8,52 \cdot 10^{-5}$ $\Delta \bar{x} = 3,48 \cdot 10^{-5}$ $\bar{\varepsilon} = 0,714$
Таблетки «Корвазан 25»	0,0734 0,0904 0,1102 0,1286 0,1446 0,1695	0,0247 0,0247 0,0249 0,0247 0,0248 0,0250	$\bar{X} = 0,0248$ $S = 1,26 \cdot 10^{-4}$ $S_x = 5,14 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x = 2,54 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x} = 1,04 \cdot 10^{-4}$ $\bar{\varepsilon} = 0,418$
Таблетки «Корвазан 12,5»	0,1486 0,1773 0,2070 0,2482 0,2894 0,3368	0,0123 0,0124 0,0123 0,0125 0,0124 0,0125	$\bar{X} = 0,0124$ $S = 8,94 \cdot 10^{-5}$ $S_x = 3,65 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x = 1,80 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x} = 7,35 \cdot 10^{-5}$ $\bar{\varepsilon} = 0,593$
Таблетки «Коріол 25»	0,0752 0,0993 0,1265 0,1432 0,1652 0,1744	0,0246 0,0245 0,0248 0,0245 0,0247 0,0244	$\bar{X} = 0,0246$ $S = 1,47 \cdot 10^{-4}$ $S_x = 6,00 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x = 2,96 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x} = 1,21 \cdot 10^{-4}$ $\bar{\varepsilon} = 0,491$

Продовж. табл. 4.4

1	2	3	4
Таблетки «Коріол 12,5»	0,1522 0,2017 0,2446 0,2818 0,3040 0,3420	0,0124 0,0125 0,0125 0,0124 0,0123 0,0123	$\bar{X}=0,0124$ $S=8,94 \cdot 10^{-5}$ $S_x=3,65 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x=1,80 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x}=7,35 \cdot 10^{-5}$ $\bar{\varepsilon}=0,593$
Таблетки «Небівал», 0,005 г	1,9354 2,0256 2,2716 2,4090 2,9002 3,0748	0,00502 0,00501 0,00499 0,00499 0,00499 0,00500	$\bar{X}=0,00500$ $S=1,26 \cdot 10^{-5}$ $S_x=5,14 \cdot 10^{-6}$ $\Delta x=2,54 \cdot 10^{-5}$ $\Delta \bar{x}=1,04 \cdot 10^{-5}$ $\bar{\varepsilon}=0,207$
Таблетки «Метопрололу тартрат», 0,1 г	0,0156 0,0178 0,0204 0,0228 0,0256 0,0290	0,0995 0,101 0,100 0,101 0,100 0,101	$\bar{X}=0,100$ $S=6,65 \cdot 10^{-4}$ $S_x=2,71 \cdot 10^{-4}$ $\Delta x=1,34 \cdot 10^{-3}$ $\Delta \bar{x}=5,47 \cdot 10^{-4}$ $\bar{\varepsilon}=0,547$
Таблетки «Метопрололу тартрат», 0,05 г	0,0152 0,0179 0,0202 0,0224 0,0261 0,0300	0,0498 0,0499 0,0501 0,0499 0,0502 0,0502	$\bar{X}=0,0500$ $S=1,72 \cdot 10^{-4}$ $S_x=7,02 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x=3,47 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x}=1,41 \cdot 10^{-4}$ $\bar{\varepsilon}=0,283$
Таблетки «Корвітол 100»	0,0090 0,0098 0,0105 0,0133 0,0145 0,0167	0,0964 0,0965 0,0964 0,0965 0,0964 0,0967	$\bar{X}=0,0965$ $S=1,17 \cdot 10^{-4}$ $S_x=4,78 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x=2,36 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x}=9,62 \cdot 10^{-5}$ $\bar{\varepsilon}=0,099$
Таблетки «Корвітол 50»	0,0095 0,0109 0,0124 0,0132 0,0159 0,0172	0,0477 0,0476 0,0478 0,0476 0,0477 0,0478	$\bar{X}=0,0477$ $S=8,94 \cdot 10^{-5}$ $S_x=3,65 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x=1,80 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x}=7,36 \cdot 10^{-5}$ $\bar{\varepsilon}=0,154$

Продовж. табл. 4.4

1	2	3	4
Таблетки «Егілок Ретард 50 мг»	0,0084 0,0104 0,0129 0,0136 0,0415 0,0156	0,0506 0,0506 0,0508 0,0507 0,0507 0,0507	$\bar{X}=0,0507$ $S=7,53 \cdot 10^{-5}$ $S_x=3,07 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x=1,52 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x}=6,19 \cdot 10^{-5}$ $\bar{\varepsilon}=0,122$
Таблетки «Егілок Ретард 100 мг»	0,0095 0,0102 0,0115 0,0124 0,0139 0,0148	0,100 0,101 0,101 0,101 0,102 0,101	$\bar{X}=0,101$ $S=6,32 \cdot 10^{-4}$ $S_x=2,58 \cdot 10^{-4}$ $\Delta x=1,27 \cdot 10^{-3}$ $\Delta \bar{x}=5,19 \cdot 10^{-4}$ $\bar{\varepsilon}=0,515$
Таблетки «Метопролол 50»	0,0147 0,0183 0,0212 0,0246 0,0273 0,0280	0,0496 0,0495 0,0494 0,0494 0,0494 0,0494	$\bar{X}=0,0494$ $S=8,37 \cdot 10^{-5}$ $S_x=3,42 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x=1,69 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x}=6,88 \cdot 10^{-5}$ $\bar{\varepsilon}=0,139$
Таблетки «Метопролол 100»	0,0153 0,0209 0,0236 0,0252 0,0264 0,0279	0,0999 0,0998 0,101 0,100 0,101 0,100	$\bar{X}=0,100$ $S=5,60 \cdot 10^{-4}$ $S_x=2,29 \cdot 10^{-4}$ $\Delta x=1,13 \cdot 10^{-3}$ $\Delta \bar{x}=4,61 \cdot 10^{-4}$ $\bar{\varepsilon}=0,0461$
Таблетки «Беталок ЗОК 25»	0,0175 0,0206 0,0249 0,0251 0,0275 0,0321	0,0248 0,0252 0,0249 0,0250 0,0251 0,0251	$\bar{X}=0,0250$ $S=1,47 \cdot 10^{-4}$ $S_x=6,00 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x=2,96 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x}=1,21 \cdot 10^{-4}$ $\bar{\varepsilon}=0,484$
Таблетки «Вазокардін 100»	0,0154 0,0179 0,0187 0,0196 0,0221 0,0254	0,0999 0,0998 0,100 0,101 0,101 0,101	$\bar{X}=0,100$ $S=6,06 \cdot 10^{-4}$ $S_x=2,47 \cdot 10^{-4}$ $\Delta x=1,22 \cdot 10^{-3}$ $\Delta \bar{x}=4,98 \cdot 10^{-4}$ $\bar{\varepsilon}=0,498$

Продовж. табл. 4.4

1	2	3	4
Таблетки «Вазокардін 50»	0,0132 0,0169 0,0187 0,0209 0,0227 0,0253	0,0497 0,0496 0,0496 0,0498 0,0497 0,0496	$\bar{X}=0,0497$ $S=8,16 \cdot 10^{-5}$ $S_x=3,33 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x=1,64 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x}=6,71 \cdot 10^{-5}$ $\bar{\varepsilon}=0,135$
Аерозоль «Сальбутамол» 200 доз	20 25 30 40 45 50	$9,74 \cdot 10^{-5}$ $9,77 \cdot 10^{-5}$ $9,72 \cdot 10^{-5}$ $9,73 \cdot 10^{-5}$ $9,73 \cdot 10^{-5}$ $9,72 \cdot 10^{-5}$	$\bar{X}=9,74 \cdot 10^{-5}$ $S=1,87 \cdot 10^{-7}$ $S_x=7,63 \cdot 10^{-8}$ $\Delta x=3,77 \cdot 10^{-7}$ $\Delta \bar{x}=1,54 \cdot 10^{-7}$ $\bar{\varepsilon}=0,158$
Таблетки «Соритмік 80»	0,1150 0,1283 0,1377 0,1491 0,1549 0,1601	0,0809 0,0808 0,0810 0,0809 0,0809 0,0809	$\bar{X}=0,0809$ $S=6,32 \cdot 10^{-5}$ $S_x=2,58 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x=1,27 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x}=5,19 \cdot 10^{-5}$ $\bar{\varepsilon}=0,0643$
Таблетки «Соритмік 160»	0,1154 0,1287 0,1411 0,1499 0,1556 0,1607	0,160 0,159 0,158 0,160 0,157 0,159	$\bar{X}=0,159$ $S=1,17 \cdot 10^{-3}$ $S_x=4,77 \cdot 10^{-4}$ $\Delta x=2,36 \cdot 10^{-3}$ $\Delta \bar{x}=9,63 \cdot 10^{-4}$ $\bar{\varepsilon}=0,606$
Розчин для ін'єкцій «Мезатон» 1% – 1 мл	0,80 0,90 1,00 1,10 1,20 1,25	0,00997 0,00994 0,00994 0,00999 0,00994 0,00992	$\bar{X}=0,00995$ $S=2,53 \cdot 10^{-5}$ $S_x=1,03 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x=5,09 \cdot 10^{-5}$ $\Delta \bar{x}=2,08 \cdot 10^{-5}$ $\bar{\varepsilon}=0,209$

Аналіз даних табл. 4.4 показує, що результати кількісного визначення досліджуваних лікарських речовин у складі 30 готових лікарських форм є точними та достатньо вірогідними.

За матеріалами розділу опубліковано роботи [172, 176, 181–188].

ВИСНОВКИ

1. Визначено величини питомих показників поглинання та знайдено межі концентрацій, в яких спостерігається підпорядкування основному закону світлопоглинання для 9 лікарських речовин, що містять вторинну аліфатичну аміногрупу на основі їх реакцій з сульфоталеїновими барвниками.

2. Розроблено методики кількісного визначення 9 досліджуваних лікарських речовин у складі 30 сучасних лікарських препаратів промислового виробництва. Методики не потребують особливих умов, тривалої пробопідготовки, є простими та експресними у виконанні.

3. Проведено статистичну обробку одержаних результатів кількісного визначення лікарських речовин. Показники відносної невизначеності середнього результату не перевищують 1,2%, що свідчить про високу відтворюваність запропонованих методик.

РОЗДІЛ 5

ВАЛІДАЦІЯ МЕТОДИК КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН, ЩО МІСТЯТЬ ВТОРИННУ АЛІФАТИЧНУ АМІНОГРУПУ

Для того, щоб аналітична методика зайняла гідне місце в системі забезпечення якості, відповідала своєму призначенню, тим самим гарантувала достовірні та точні результати аналізу, передбачена процедура валідації аналітичних методик. Згідно ДФУ запропоновані методики кількісного визначення досліджуваних лікарських речовин, що містять вторинну аліфатичну аміногрупу були перевірені за такими валідаційними характеристиками як специфічність, лінійність, діапазон застосування, точність, правильність та робасність [152, 157].

5.1 Прогноз повної невизначеності методики

Для підтвердження коректності методики при виконанні її в іншій лабораторії необхідно проводити прогноз повної невизначеності методики.

Прогнозована повна невизначеність результатів аналізу не повинна перевищувати максимально припустиму невизначеність результатів аналізу $\max \Delta_{As}$. Повну прогнозовану відносну невизначеність розраховують за формулою:

$$\Delta_{As} = \sqrt{\Delta_{SP}^2 + \Delta_{FAO}^2} \quad (5.1)$$

де Δ_{SP} – невизначеність пробопідготовки;

Δ_{FAO} – невизначеність кінцевої аналітичної операції.

У випадку спектрофотометричного аналізу невизначеність кінцевої аналітичної операції складає 0,70% [168].

Невизначеність пробопідготовки Δ_{SP} розраховують за формулою:

$$\Delta_{SP} = \sqrt{\sum_i^n \Delta_{V,i}^2} \quad (5.2)$$

де $\Delta_{V,i}$ – складова невизначеності, пов'язана з конкретною операцією пробопідготовки (взяття наважки, аліквоти малого об'єму, доведення до об'єму в мірній колбі тощо), виражена як однобічний довірчий інтервал для рівня надійності 95%.

Розрахунки невизначеності пробопідготовки проводили за формулою 5.2, враховуючи вимоги ДФУ до гранично припустимих похибок для мірного посуду, вагів та приладів [157].

Як приклад, наводимо розрахунок невизначеності пробопідготовки для кількісного визначення таблеток «Атенолол-Астрафарм» 0,1 г.

Таблиця 5.1

Розрахунок невизначеності пробопідготовки для кількісного визначення таблеток «Атенолол-Астрафарм» 0,1 г

Операція пробопідготовки	Параметр розрахункової формули	Невизначеність, %
1	2	3
розчин порівняння		
1) взяття наважки РСЗ атенололу	m_0	0.2 мг/20 мг × 100% = 1%
2) доведення до об'єму в мірній колбі ємністю 100,00 мл	100	0,12 %
3) взяття аліквоти піпеткою 1,00 мл	1	0,6%
4) доведення до об'єму в мірній колбі ємністю 10,00 мл	10	0,5%
випробовуваний розчин		
5) взяття наважки таблеток	m_1	0,2 мг/81,1 мг × 100% = 0,25 %
6) доведення до об'єму в мірній колбі ємністю 100,00 мл	100	0,12%
7) взяття аліквоти піпеткою 1,00 мл	1	0,6%

Продовж. табл. 5.1

1	2	3
8) доведення до об'єму в мірній колбі ємністю 10,00 мл	10	0,5%

$$\Delta_{SP} = \sqrt{1^2 + 0,12^2 + 0,6^2 + 0,5^2 + 0,25^2 + 0,12^2 + 0,6^2 + 0,5^2} = 1,52\%$$

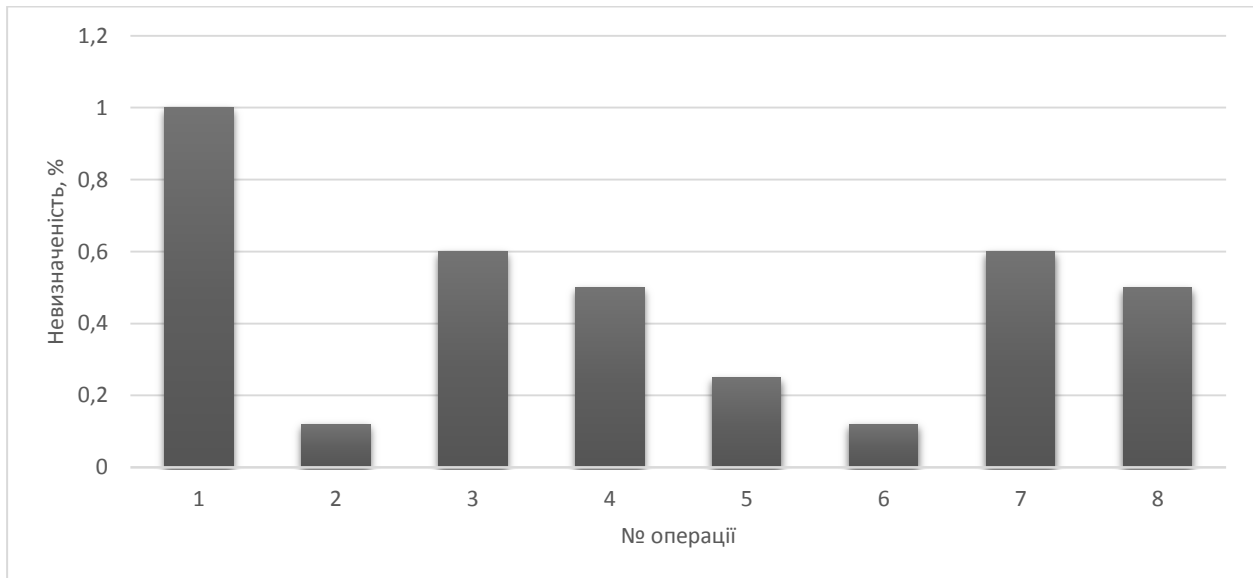


Рис. 5.1. Розподіл невизначеності пробопідготовки за операціями для кількісного визначення таблеток «Атенолол-Астрафарм» 0,1 г

Як видно з рис. 5.1 найбільшу невизначеність в пробопідготовку вносять операція 1 – взяття наважки РСЗ атенололу 20 мг, а також операції 3 та 7 – взяття аліквоти 1,00 мл. Такий розподіл складових невизначеності пробопідготовки є характерним при контролі якості лікарських засобів.

Повна невизначеність аналітичної методики:

$$\Delta_{As} = \sqrt{\Delta_{SP}^2 + \Delta_{FAO}^2} = \sqrt{1,52^2 + 0,70^2} = 1,62\% \leq \max \Delta_{As} = 3,2\%$$

Прогноз повної невизначеності аналізу для інших лікарських форм наведено у табл. 5.2.

Повна невизначеність результатів аналізу

Лікарський препарат	Δ_{SP}	Δ_{As}	$max\Delta_{As}$
Таблетки «Атенолол-Астрафарм» 0,1 г, «Атенобене» 0,1 г, «Атенолол-Здоров'я» 0,05 г	1,52	1,67	2,4
Таблетки «Бетак» 0,02 г, «Бетакор» 0,02 г, «Локрен» 0,02 г	1,50	1,66	2,4
Таблетки «Бісопролол-Ратіофарм» 10 мг, «Бісопролол-Ратіофарм» 5 мг, «Бісопролол- Лугал» 10 мг, «Бісопролол-Лугал» 5 мг	1,26	1,44	3,2
Таблетки «Корвазан 25», «Корвазан 12,5», «Коріол 25», «Коріол 12,5»	1,62	1,76	2,4
Таблетки «Метопрололу тартрат» 0,1 та 0,05 г	1,95	2,07	2,4
Таблетки «Корвітол 100» та «Корвітол 50»	2,30	2,40	2,4
Таблетки «Егілок Ретард 50 мг» та «Егілок Ретард 100 мг»	1,89	2,02	2,4
Таблетки «Метопролол 50» та «Метопролол 100»	1,97	2,09	2,4
Таблетки «Беталок ЗОК 25»	1,92	2,04	2,4
Таблетки «Вазокардін 100» та «Вазокардін 50»	2,03	2,14	2,4
Таблетки «Небівал», 0,005 г	1,18	1,37	3,2
Аерозоль «Сальбутамол» 200 доз	1,11	1,31	3,2
Таблетки «Соритмік 80» та «Соритмік 160»	1,17	1,36	2,4
Розчин для ін'єкцій «Мезатон» 1% – 1 мл	1,07	1,27	3,2

Таким чином, прогнозована повна невизначеність результатів аналізу у кожному випадку не перевищує критичного значення ($max\Delta_{As}$), тобто методики будуть давати коректні результати й в інших лабораторіях.

5.2 Специфічність

Згідно ДФУ, специфічність характеризує здатність методики однозначно оцінювати аналізовану речовину за присутності інших компонентів, які можуть

бути присутніми у зразку. Це можуть бути домішки, продукти розкладу, допоміжні речовини тощо. Висновок про специфічність рекомендується робити на початку розробки методики.

Специфічність можна визначати використовуючи прямий та непрямий підходи. Прямий підхід повинен демонструвати відсутність/припустимість впливу інших речовин. Використовуючи непрямий підхід, висновок про специфічність роблять після визначення правильності методики, а також шляхом порівняння результатів аналізу з арбітражною методикою.

У випадку неспецифічних методик аналізу, до яких відноситься спектрофотометрія, для підтвердження специфічності необхідно довести, що відносна систематична похибка (δ_{noise} %), яка вноситься допоміжними речовинами та продуктами розкладу у визначення аналізованої речовини, є незначимою у порівнянні з максимально припустимою невизначеністю аналізу (Δ_{As} %).

Величину δ_{noise} можна представити у вигляді суми вкладів, пов'язаних з допоміжними речовинами (δ_{exc}) та домішками (δ_{imp}). Величина δ_{noise} не повинна перевищувати максимально припустиму систематичну похибку ($max\delta$):

$$\delta_{noise} (\%) = \delta_{exc} + \delta_{imp} \leq 0,32 \cdot max\Delta_{As} = max\delta \quad (5.3)$$

Для визначення специфічності запропонованих методик кількісного визначення атенололу в таблетках «Атенолол-Астрафарм» 0,1 г та «Атенобене» 0,1 г; бісопрололу фумарату в таблетках «Бісопролол-Ратіофарм» 10 мг, «Бісопролол-Ратіофарм» 5 мг, «Бісопролол-Лугал» 10 мг та «Бісопролол-Лугал» 5 мг; карведілолу в таблетках «Корвазан 25», «Корвазан 12,5», «Коріол 25» та «Коріол 12,5»; метопрололу тартрату в таблетках «Метопрололу тартрат», 0,1 г, «Метопрололу тартрат», 0,05 г, «Егілок Ретард 50 мг», «Егілок Ретард 100 мг», «Метопролол 50» та «Метопролол 100»; фенілефрину гідрохлориду в розчині для ін'єкцій «Мезатон» 1% – 1 мл проводили випробування розчинів «плацебо». Для цього готували модельні суміші

допоміжних речовин. До кожної модельної суміші додавали відповідну лікарську речовину у концентрації, що міститься у досліджуваному препараті. Потім відтворювали усі етапи пробопідготовки та вимірювали абсорбцію розчину «плацебо» (A_{blank}) та розчину порівняння, що містить досліджувану лікарську речовину (A_{st}). Числові розрахунки впливу допоміжних речовин (δ_{exc}) на результати дослідження наведено у табл. 5.3.

Вклад плацебо (δ_{exc}) у сумарну величину фонового поглинання (δ_{noise}) повинний бути незначимим, тобто повинно виконуватися співвідношення:

$$\delta_{exc} \leq 0,32 \cdot \max \delta = 0,32 \cdot 0,32 \cdot \max \Delta_{As} = 0,033 \cdot B \quad (5.4)$$

де B – допуски вмісту аналізованої речовини.

Таблиця 5.3

Вплив «плацебо» на результати визначень

Лікарський препарат	A_{blank}	A_{st}	δ_{exc}	$0,033 \cdot B$
1	2	3	4	4
Таблетки «Атенолол-Астрафарм» 0,1 г	0,0034	1,4806	0,229	0,248
Таблетки «Атенобене» 0,1 г	0,0029	1,5269	0,189	0,248
Таблетки «Бісопролол-Ратіофарм» 10 мг	0,0013	0,6220	0,209	0,330
Таблетки «Бісопролол-Ратіофарм» 5 мг	0,0016	0,6660	0,240	0,330
Таблетки «Бісопролол-Лугал» 10 мг	0,0019	0,6980	0,272	0,330
Таблетки «Бісопролол-Лугал» 5 мг	0,0021	0,7190	0,292	0,330
Таблетки «Корвазан 25»	0,0013	0,7458	0,174	0,248
Таблетки «Корвазан 12,5»	0,0011	0,7188	0,153	0,248
Таблетки «Коріол 25»	0,0009	0,7617	0,118	0,248
Таблетки «Коріол 12,5»	0,0004	0,7586	0,053	0,248
Таблетки «Метопрололу тартрат», 0,1 г	0,0010	0,9440	0,106	0,248
Таблетки «Метопрололу тартрат», 0,05 г	0,0012	0,9170	0,131	0,248

Продовж. табл. 5.3

Таблетки «Егілок Ретард 50 мг»	0,0005	1,0428	0,048	0,248
Таблетки «Егілок Ретард 100 мг»	0,0003	0,9651	0,031	0,248
Таблетки «Метопролол 50»	0,0024	0,9729	0,246	0,248
Таблетки «Метопролол 100»	0,0023	0,9812	0,234	0,248
Розчин для ін'єкцій «Мезатон» 1% – 1 мл	0,0002	0,8300	0,024	0,248

Отже, як видно з табл. 5.3 у кожному випадку допоміжні речовини майже не поглинають випромінювання в області спектра, в якій спостерігаються максимуми поглинання діючої речовини, тобто їх вклад у сумарну величину фонового поглинання є незначимим і методики характеризуються припустимою специфічністю.

Лікарські форми атенололу (таблетки «Атенолол-Здоров'я» 0,05 г), бетаксолу гідрохлориду (таблетки «Бетак» 0,02 г, «Бетакор» 0,02 г, «Локрен» 0,02 г), небіволу гідрохлориду (таблетки «Небівал», 0,005 г), метопрололу тартрату (таблетки «Корвітол 100», «Корвітол 50», «Беталок ЗОК 25», «Вазокардін 100», «Вазокардін 50»), соталоу гідрохлориду (таблетки «Соритмік 80», «Соритмік 160») та сальбутамолу сульфату (аерозоль «Сальбутамол» 200 доз) мали відносно складний набір допоміжних речовин, тому створити модельні суміші препаратів в умовах лабораторії виявилось неможливим. У цих випадках було використано непрямий підхід визначення специфічності. Висновок щодо специфічності запропонованих методик робили після визначення правильності методик, порівнюючи результати з арбітражною методикою (у випадку сальбутамолу сульфату) або використовуючи метод добавок (в інших випадках).

Вплив домішок на результати кількісного визначення не вивчався, оскільки при виконанні даної роботи було використано лікарські препарати промислового виробництва, що не містили неприпустимої кількості домішок, про що свідчили сертифікати якості виробників.

Таким чином, розроблені методики характеризуються достатньою специфічністю, щоб визначати досліджувані сполуки окремо від допоміжних речовин.

5.3 Лінійність

Згідно ДФУ, лінійність – це здатність методики давати величини, прямо пропорційні концентрації аналізованих речовин у досліджуваному зразку [157]. Лінійну залежність досліджували у межах діапазону застосування розроблених методик. Вона була підтверджена безпосередньо на субстанціях, шляхом розведення стандартних розчинів (використано не менше 5 концентрацій для кожної лікарської речовини). Отримані результати переводили в нормалізовані координати, обробляли методом найменших квадратів та розраховували рівняння лінійної регресії, що мали загальний вигляд: $y=a+b \cdot x$, де y – вимірювана величина (оптична густина), x – концентрація визначуваної лікарської речовини, a – вільний член лінійної залежності для розрахованої регресійної прямої, b – кутовий коефіцієнт для розрахованої регресійної прямої.

Для кількісної оцінки відтворюваності результатів визначень та адекватності лінійної залежності розраховують числові показники лінійної залежності, а саме коефіцієнт кореляції r , залишкове стандартне відхилення S_0 , вільний член лінійної регресії a та коефіцієнт регресії b .

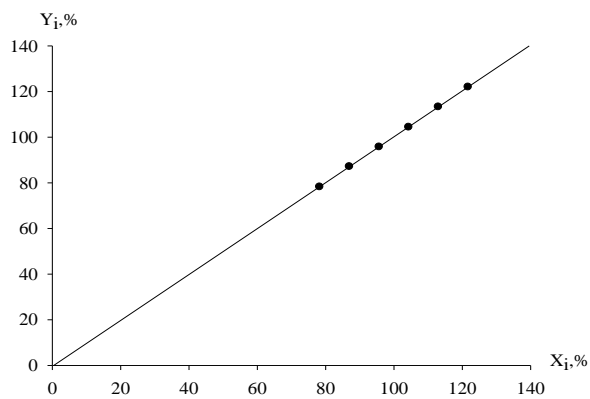


Рис. 5.2. Графік залежності оптичної густини від концентрації атенололу за реакцією з БТС

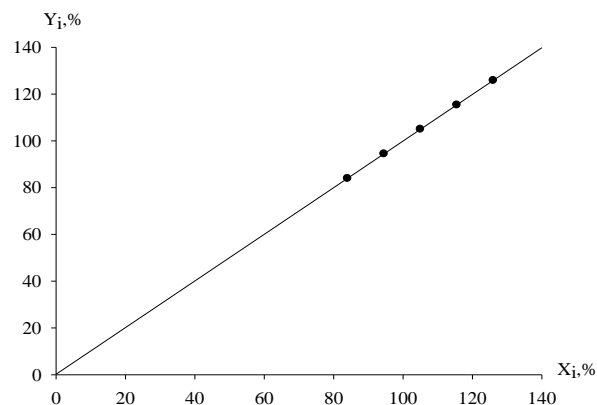


Рис. 5.3. Графік залежності оптичної густини від концентрації бетаксололу гідрохлориду за реакцією з БКЗ

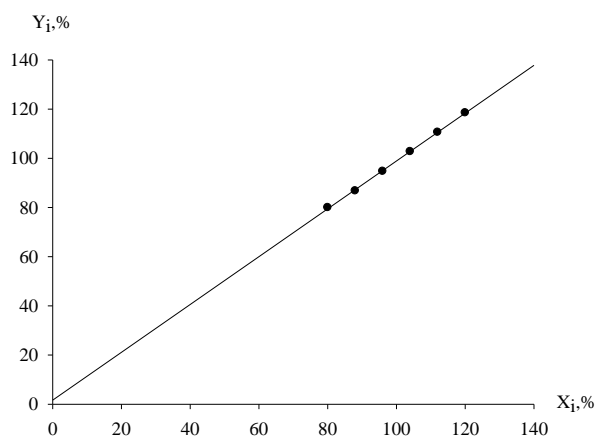


Рис. 5.4. Графік залежності оптичної густини від концентрації біспрололу фумарату за реакцією з ТС

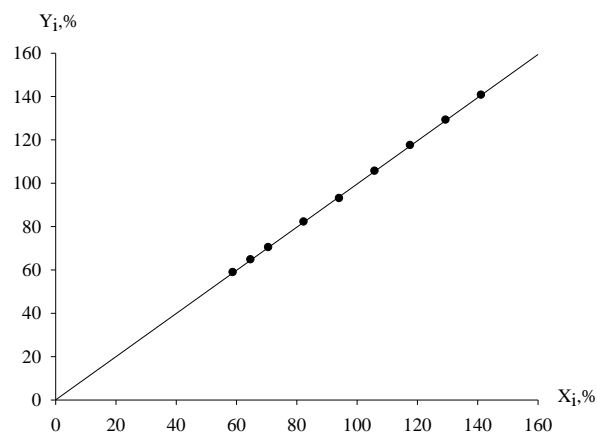


Рис. 5.5. Графік залежності оптичної густини від концентрації карведілолу за реакцією з БКП

Експериментальні дані, одержані при калібруванні, використовують для оцінки жорсткості, тобто ступеня не випадковості лінійного зв'язку між концентрацією досліджуваної речовини (x) та оптичною густиною (y). У даному випадку судити про жорсткість лінійного зв'язку між змінними x та y можна за величиною коефіцієнту кореляції (r). Чим ближче абсолютна величина r до одиниці, тим менш випадкова спостережувана лінійна залежність між змінними x і y .

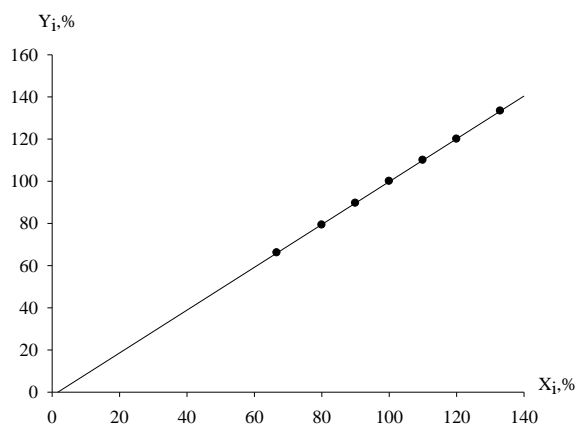


Рис. 5.6. Графік залежності оптичної густини від концентрації метопрололу тартрату за реакцією з БКП

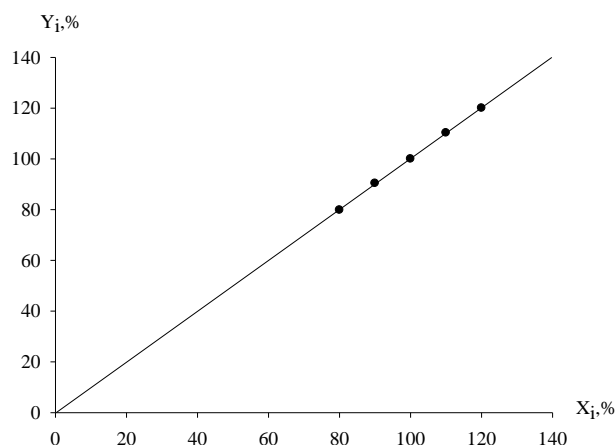


Рис. 5.7. Графік залежності оптичної густини від концентрації небіволулу гідрохлориду за реакцією з БТС

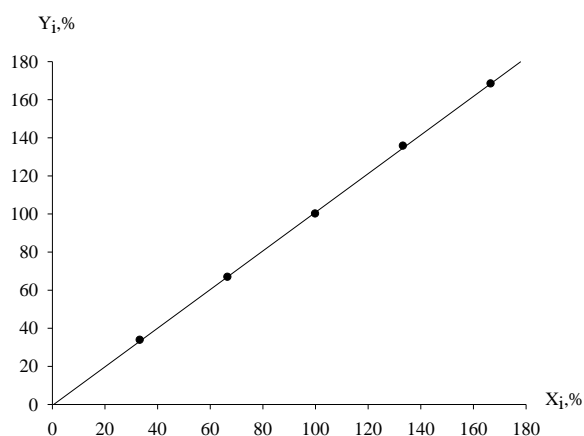


Рис. 5.8. Графік залежності оптичної густини від концентрації салбутамолу сульфату за реакцією з БКЗ

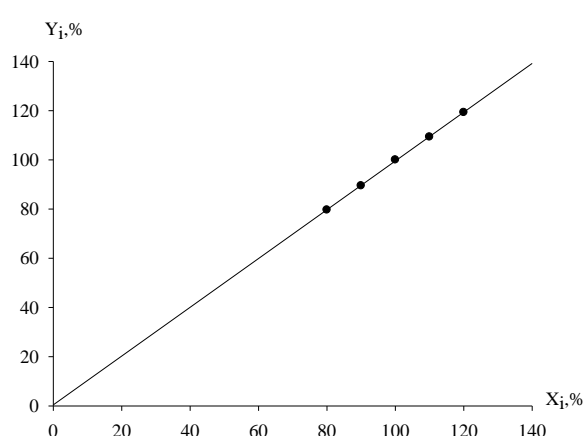


Рис. 5.9. Графік залежності оптичної густини від концентрації соталолу гідрохлориду за реакцією з БКП

Відсутність систематичної похибки, про що свідчить критерій статистичної незначущості, є обов'язковою умовою використання методу стандарту. У такому випадку вільний член a повинен статистично незначуще відрізнятись від нуля, тобто не перевищувати свій довірчий інтервал Δ_a . Якщо цей критерій не виконується, то згідно ДФУ використовують критерій практичної незначущості для вільного члена. Внесок вільного члена в

невизначеність результату аналізу має бути незначущим у порівнянні з максимально припустимою невизначеністю аналізу.

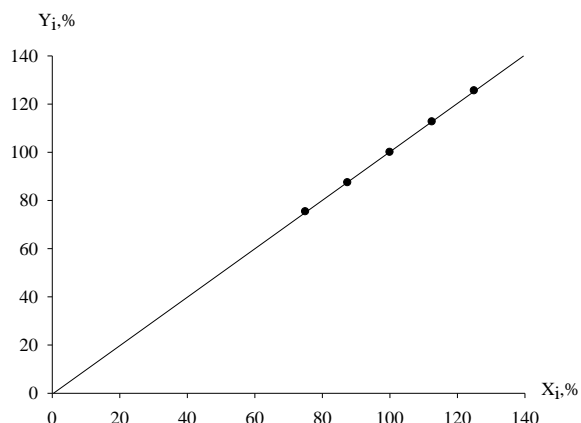


Рис. 5.10. Графік залежності оптичної густини від концентрації фенілефрину гідрохлориду за реакцією з БКЗ

Довірчий інтервал розкиду точок навколо прямої дорівнює добутку критерію Стюдента на залишкове стандартне відхилення по осі абсцис ($S_{x,0}$) і не має перевищувати гранично припустиму невизначеність аналізу Δ_{As} .

Згідно рекомендацій ДФУ було розраховано усі вищезазначені показники лінійної залежності (табл. 5.4). Отримані дані свідчать про те, що лінійність методик підтверджується в обраних діапазонах концентрацій та виконуються усі вимоги відносно параметрів лінійної залежності.

Таблиця 5.4

Числові показники лінійної залежності

Величина	Значення	Критерії	Висновок
1	2	3	4
Атенолол			
$b \pm (s_b)$	1,0057 ± (0,0023)	–	–
$a \pm (s_a)$	-0,3990 ± (0,2305)	$ a \leq \Delta a = t(95\%;4) \cdot s_a = 0,4914$	відповідає
$s_{x,0}(\%)$	0,0824	$\leq \Delta_{As}(\%) / t(95\%;4) = 1,501$	« »
r	1,000	$\geq 0,9992$	« »
Бетаксололу гідрохлорид			
$b \pm (s_b)$	0,9971 ± (0,0015)	–	–
$a \pm (s_a)$	0,2260 ± (0,1556)	$ a \leq \Delta a = t(95\%;3) \cdot s_a = 0,3662$	відповідає
$s_{x,0}(\%)$	0,0488	$\leq \Delta_{As}(\%) / t(95\%;3) = 1,359$	« »

Продовж. табл. 5.4

1	2	3	4
r	1,000	$\geq 0,9992$	« »
Біспрололу фумарат			
$b\pm(s_b)$	0,9721±(0,0117)	–	–
$a\pm(s_a)$	1,6943±(1,1787)	$ a \leq\Delta a=t(95\%;4)\cdot s_a=2,513$	відповідає
$s_{x,0}(\%)$	0,4020	$\leq\Delta_{As}(\%)/t(95\%;4)=1,501$	« »
r	0,9997	$\geq 0,9995$	« »
Карведілол			
$b\pm(s_b)$	0,9959±(0,0043)	–	–
$a\pm(s_a)$	0,0638±(0,4273)	$ a \leq\Delta a=t(95\%;6)\cdot s_a=0,8096$	відповідає
$s_{x,0}(\%)$	0,3569	$\leq\Delta_{As}(\%)/t(95\%;6)=1,6890$	« »
r	0,9999	$\geq 0,9994$	« »
Метопрололу тартрат			
$b\pm(s_b)$	1,0153±(0,0026)	–	–
$a\pm(s_a)$	-1,7164±(0,2690)	$ a \leq\frac{0,32\cdot\Delta As}{1-(\frac{x_{min}}{100})}=3,103$	відповідає
$s_{x,0}(\%)$	0,1467	$\leq\Delta_{As}(\%)/t(95\%;5)=1,588$	« »
r	1,000	$\geq 0,9989$	« »
Небівололу гідрохлорид			
$b\pm(s_b)$	1,0029±(0,0079)	–	–
$a\pm(s_a)$	-0,1880±(0,0079)	$ a \leq\frac{0,32\cdot\Delta As}{1-(\frac{x_{min}}{100})}=4,096$	відповідає
$s_{x,0}(\%)$	0,2487	$\leq\Delta_{As}(\%)/t(95\%;3)=1,359$	« »
r	0,9999	$\geq 0,9998$	« »
Сальбутамолу сульфат			
$b\pm(s_b)$	1,0141±(0,0076)	–	–
$a\pm(s_a)$	-0,5189±(0,8434)	$ a \leq\Delta a=t(95\%;3)\cdot s_a=1,9848$	відповідає
$s_{x,0}(\%)$	0,7929	$\leq\Delta_{As}(\%)/t(95\%;3)=1,359$	« »

Продовж. табл. 5.4

1	2	3	4
r	0,9999	$\geq 0,9997$	« »
Соталолу гідрохлорид			
$b\pm(s_b)$	0,9909 \pm (0,0094)	–	–
$a\pm(s_a)$	0,4500 \pm (0,9513)	$ a \leq \frac{0.32 \cdot \Delta A_s}{1 - (\frac{x_{min}}{100})} = 2,238$	відповідає
$s_{x,0}(\%)$	0,301	$\leq \Delta A_s(\%)/t(95\%;3)=1,359$	« »
r	0,9999	$\geq 0,9999$	« »
Фенілефрину гідрохлорид			
$b\pm(s_b)$	1,0052 \pm (0,0071)	–	–
$a\pm(s_a)$	-0,3500 \pm (0,7180)	$ a \leq \Delta a = t(95\%;3) \cdot s_a = 1,6897$	відповідає
$s_{x,0}(\%)$	0,2781	$\leq \Delta A_s(\%)/t(95\%;3)=1,359$	« »
r	0,9999	$\geq 0,9991$	« »

5.4 Діапазон застосування

Діапазон застосування аналітичної методики – це інтервал між мінімальною та максимальною концентраціями досліджуваних речовин у зразку (включаючи ці концентрації), для якого показано, що аналітична методика має потрібну прецизійність, правильність та лінійність [157]. Згідно ДФУ діапазон застосування методики залежить від її призначення і визначається при вивченні лінійності. Мініміально допустимий діапазон застосування методики для кількісного визначення лікарських субстанцій та лікарських форм складає 80–120% від номінального вмісту. Як видно з табл. 5.5 у всіх випадках діапазон застосування методик є не меншим за мініміально допустимий.

Таблиця 5.5

Діапазони застосування методик кількісного визначення досліджуваних лікарських речовин

Лікарська речовина	Діапазон робочих концентрацій
Атенолол	79–121%
Бетаксололу гідрохлорид	75–125%
Бісопрололу фумарат	80–120%
Карведілол	60–140%
Метопрололу тартрат	67–133%
Небівололу гідрохлорид	75–125%
Сальбутамолу сульфат	35–165%
Соталолу гідрохлорид	77–123%
Фенілефрину гідрохлорид	75–125%

5.5 Прецизійність

Прецизійність аналітичної методики показує ступінь близькості (або ступінь розкиду) результатів для серії вимірів, виконаних за даною методикою на різних пробах одного і того самого однорідного зразка. Прецизійність може розглядатися на трьох рівнях: збіжність, внутрішньолабораторна прецизійність та відтворюваність. Збіжність характеризує прецизійність методики при її виконанні в одних і тих самих умовах протягом невеликого проміжку часу. Внутрішньолабораторна прецизійність характеризує вплив внутрішньолабораторних варіацій (різні дні, різні аналітики, різне обладнання і т.д.). Відтворюваність характеризує прецизійність у міжлабораторному експерименті [157].

Прецизійність розроблених методик було вивчено на рівні збіжності. Для цього, згідно ДФУ, проводили дев'ять визначень у кожному випадку (три

концентрації/три повтори). Паралельно вимірювали оптичну густину стандартних розчинів, концентрація яких наведена в табл. 4.2. Вміст досліджуваних речовин у грамах розраховували за типовими формулами 4.2–4.4.

Згідно рекомендацій ДФУ було розраховано наступні метрологічні характеристики збіжності розроблених методик: стандартне відхилення (S) та відносне стандартне відхилення (RSD), відносний довірчий інтервал одиничного ($\Delta_{x,r}$) та середнього ($\Delta_{x,r}$) значення (табл. 5.6).

Стандартне відхилення (S) характеризує розкид варіант X_i навколо середнього \bar{X} . У даному випадку величина S розглядається як міра випадкової похибки, властивої даній методиці аналізу. Квадрат цієї величини S^2 називається дисперсією. Величина дисперсії розглядається як міра відтворюваності (збіжності) результатів поданих у даній вибірці. Довірчий інтервал характеризує ступінь невизначеності знань про справжнє значення μ величини, що визначається. Одnobічний довірчий інтервал одиничного значення ($\Delta_{x,r}$) не має перевищувати максимально припустиму невизначеність аналізу ($\Delta_{As} \%$).

Таблиця 5.6

**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
Таблетки «Атенолол-Астрафарм» 0,1 г	$9,79 \cdot 10^{-2}$	$8,66 \cdot 10^{-5}$	0,0885	$1,65 \cdot 10^{-3}$	$5,49 \cdot 10^{-4}$	3,20

Продовж. табл. 5.6

1	2	3	4	5	6	7
Таблетки «Атенобене» 0,1 г	$9,87 \cdot 10^{-2}$	$8,33 \cdot 10^{-5}$	0,0844	$1,57 \cdot 10^{-3}$	$5,23 \cdot 10^{-4}$	3,20
Таблетки «Атенолол- Здоров'я» 0,05 г	$4,91 \cdot 10^{-2}$	$1,00 \cdot 10^{-4}$	0,203	$3,77 \cdot 10^{-3}$	$1,26 \cdot 10^{-3}$	3,20
Таблетки «Бетак» 0,02 г	$1,99 \cdot 10^{-2}$	$1,22 \cdot 10^{-4}$	0,613	$1,14 \cdot 10^{-2}$	$3,79 \cdot 10^{-3}$	3,20
Таблетки «Бетакор» 0,02 г	$2,01 \cdot 10^{-2}$	$1,05 \cdot 10^{-4}$	0,522	$9,71 \cdot 10^{-3}$	$3,24 \cdot 10^{-3}$	3,20
Таблетки «Локрен» 0,02 г	$1,99 \cdot 10^{-2}$	$1,41 \cdot 10^{-4}$	0,708	$1,32 \cdot 10^{-2}$	$4,39 \cdot 10^{-3}$	3,20
Таблетки «Бісопролол- Ратіофарм» 10 мг	$9,42 \cdot 10^{-3}$	$3,12 \cdot 10^{-5}$	0,331	$6,16 \cdot 10^{-3}$	$2,05 \cdot 10^{-3}$	3,20
Таблетки «Бісопролол- Ратіофарм» 5 мг	$4,78 \cdot 10^{-3}$	$5,52 \cdot 10^{-2}$	1,15	$2,15 \cdot 10^{-2}$	$7,16 \cdot 10^{-3}$	3,20
Таблетки «Бісопролол- Лугал» 10 мг	$9,47 \cdot 10^{-3}$	$4,12 \cdot 10^{-5}$	0,435	$8,09 \cdot 10^{-3}$	$2,69 \cdot 10^{-3}$	3,20
Таблетки «Бісопролол- Лугал» 5 мг	$4,87 \cdot 10^{-3}$	$3,35 \cdot 10^{-5}$	0,688	$1,28 \cdot 10^{-2}$	$4,26 \cdot 10^{-3}$	3,20
Таблетки «Корвазан 25»	$2,48 \cdot 10^{-2}$	$1,05 \cdot 10^{-4}$	0,423	$7,87 \cdot 10^{-3}$	$2,62 \cdot 10^{-3}$	3,20
Таблетки «Корвазан 12,5»	$1,24 \cdot 10^{-2}$	$8,33 \cdot 10^{-5}$	0,671	$1,25 \cdot 10^{-2}$	$4,16 \cdot 10^{-3}$	3,20
Таблетки «Коріол 25»	$2,46 \cdot 10^{-2}$	$1,22 \cdot 10^{-4}$	0,496	$9,22 \cdot 10^{-3}$	$3,07 \cdot 10^{-3}$	3,20
Таблетки «Коріол 12,5»	$1,24 \cdot 10^{-2}$	$9,28 \cdot 10^{-5}$	0,748	$1,39 \cdot 10^{-2}$	$4,64 \cdot 10^{-3}$	3,20
Таблетки «Небівал», 0,005 г	$5,00 \cdot 10^{-3}$	$1,12 \cdot 10^{-5}$	0,224	$4,17 \cdot 10^{-3}$	$1,39 \cdot 10^{-3}$	3,20

Продовж. табл. 5.6

1	2	3	4	5	6	7
Таблетки «Метопрололу тарtrat», 0,1 г	0,100	$6,29 \cdot 10^{-4}$	0,629	$1,17 \cdot 10^{-2}$	$3,89 \cdot 10^{-3}$	3,20
Таблетки «Метопрололу тарtrat», 0,05 г	$5,00 \cdot 10^{-2}$	$1,45 \cdot 10^{-4}$	0,290	$5,39 \cdot 10^{-3}$	$1,79 \cdot 10^{-3}$	3,20
Таблетки «Корвітол 100»	$9,65 \cdot 10^{-2}$	$1,09 \cdot 10^{-4}$	0,113	$2,10 \cdot 10^{-3}$	$7,00 \cdot 10^{-4}$	3,20
Таблетки «Корвітол 50»	$4,77 \cdot 10^{-2}$	$7,82 \cdot 10^{-5}$	0,164	$3,05 \cdot 10^{-3}$	$1,02 \cdot 10^{-3}$	3,20
Таблетки «Егілок Ретард 50 мг»	$5,07 \cdot 10^{-2}$	$7,07 \cdot 10^{-5}$	0,139	$2,59 \cdot 10^{-3}$	$8,64 \cdot 10^{-4}$	3,20
Таблетки «Егілок Ретард 100 мг»	0,101	$8,82 \cdot 10^{-4}$	0,873	$1,62 \cdot 10^{-2}$	$5,41 \cdot 10^{-3}$	3,20
Таблетки «Метопролол 50»	$4,94 \cdot 10^{-2}$	$8,66 \cdot 10^{-5}$	0,175	$3,26 \cdot 10^{-3}$	$1,09 \cdot 10^{-3}$	3,20
Таблетки «Метопролол 100»	0,100	$5,45 \cdot 10^{-4}$	0,545	$1,01 \cdot 10^{-2}$	$3,38 \cdot 10^{-3}$	3,20
Таблетки «Беталок ЗОК 25»	$2,50 \cdot 10^{-2}$	$1,27 \cdot 10^{-4}$	0,508	$9,45 \cdot 10^{-3}$	$3,15 \cdot 10^{-3}$	3,20
Таблетки «Вазокардін 100»	0,100	$5,37 \cdot 10^{-4}$	0,537	$9,99 \cdot 10^{-3}$	$3,33 \cdot 10^{-3}$	3,20
Таблетки «Вазокардін 50»	$4,97 \cdot 10^{-2}$	$1,00 \cdot 10^{-4}$	0,201	$3,74 \cdot 10^{-3}$	$1,25 \cdot 10^{-3}$	3,20
Аерозоль «Сальбу- тамол» 200 доз	$9,74 \cdot 10^{-5}$	$1,56 \cdot 10^{-7}$	0,160	$2,98 \cdot 10^{-3}$	$9,93 \cdot 10^{-4}$	3,20

Продовж. табл. 5.6

1	2	3	4	5	6	7
Таблетки «Соритмік 80»	$8,09 \cdot 10^{-2}$	$6,01 \cdot 10^{-5}$	0,0743	$1,38 \cdot 10^{-3}$	$4,60 \cdot 10^{-4}$	3,20
Таблетки «Соритмік 160»	0,159	$1,05 \cdot 10^{-3}$	0,660	$1,23 \cdot 10^{-2}$	$4,09 \cdot 10^{-3}$	3,20
Розчин для ін'єкцій «Мезатон» 1% – 1 мл	$9,95 \cdot 10^{-3}$	$2,06 \cdot 10^{-5}$	0,207	$3,85 \cdot 10^{-3}$	$1,28 \cdot 10^{-3}$	3,20

5.6 Правильність

Правильність аналітичної методики характеризує ступінь відповідності між відомим справжнім значенням або довідковою величиною та значенням, одержаним за даною методикою [157].

Правильність визначають у межах діапазону застосування аналітичної методики.

Згідно ДФУ, правильність для готових лікарських форм встановлювали методом «модельних сумішей», методом добавок, а також шляхом порівняння результатів аналізу, одержаних з використанням методики, що валідується, та арбітражного методу, правильність якого відома.

Метод «модельних сумішей» використовували для встановлення правильності фенілефрину гідрохлориду в розчині для ін'єкцій (розчин для ін'єкцій «Мезатон» 1% – 1 мл). Для цього готували три модельні суміші допоміжних речовин (при цьому їх кількості залишали незмінними), а фенілефрину гідрохлорид вносили у кількості близько 80, 100 та 120% від номінального вмісту, охоплюючи весь діапазон застосування методики. Визначення з кожною модельною сумішшю повторювали тричі – тобто, усього 9 визначень.

Виходячи з того, що правильність характеризує близькість середнього результату величини, що вивчається до постульованого істинного значення

[157, 160], отримані в результаті аналізу дані щодо вмісту досліджуваної речовини виражали у відсотках (Z) від доданої кількості, розраховували середнє (\bar{Z}) та проводили статистичну обробку результатів відносно теоретичного значення 100%.

Згідно рекомендацій ДФУ, систематичну складову невизначеності характеризують відмінністю середнього значення для відношення (знайдено/введено) \bar{Z} від 100 %. Систематична похибка статистично не відрізняється від нуля, якщо відхилення \bar{Z} від 100% не перевищує свій довірчий інтервал:

$$\delta\% = |\bar{Z} - 100| \leq \frac{\Delta z}{\sqrt{n}} \quad (5.1)$$

Якщо зазначене співвідношення не виконується, то застосовують критерій незначущості цієї систематичної похибки у порівнянні з максимально припустимою невизначеністю аналізу:

$$\delta\% = |\bar{Z} - 100| \leq 0,32 \cdot \Delta A_s \quad (5.2)$$

Результати визначення правильності методики методом «модельних сумішей» наведені у табл. 5.7.

Таблиця 5.7

Результати визначення правильності методом модельних сумішей

Модельна суміш	\bar{Z}	RSD	$\Delta_{\bar{Z}}$	$ \bar{Z} - 100 $	$0,32 \cdot \Delta_{A_s}$
Розчин для ін'єкцій «Мезатон» 1% – 1 мл	99,5	0,642	1,19	0,46	1,024

У разі неможливості одержання усіх компонентів лікарського засобу застосовували метод добавок.

Основна мета при визначенні правильності методик методом добавок полягає у виявленні можливих систематичних похибок, що виникають в результаті впливу допоміжних речовин (матриці), що входять до складу лікарської форми.

Оскільки при внесенні добавок стандартів до розчинів досліджуваних препаратів під впливом матриці може змінюватися коефіцієнт чутливості b у порівнянні з чистими розчинами речовин, що не містять матриці, для одержаних залежностей було розраховано відповідні коефіцієнти, які порівнювали з коефіцієнтами чутливості, одержаними при визначенні лінійності (табл. 5.8). Чим ближче одержаний коефіцієнт чутливості до номінального, тим менше вплив матриці на результати визначення [160]. Точка перетину прямої з віссю абсцис відповідає концентрації досліджуваного розчину.

Таблиця 5.8

**Порівняння значень коефіцієнтів чутливості, встановлених
для РСЗ та лікарських форм**

Лікарський препарат	$b_1 \pm (s_b)$ (для стандартних розчинів)	$b_1 \pm (s_b)$ (для лікарських форм за методом добавок)
1	2	3
Таблетки «Атенолол-Астрафарм» 0,1 г	1,0057±(0,0023)	1,0064±(0,0022)
Таблетки «Атенобене» 0,1 г	1,0057±(0,0023)	1,0052±(0,0019)
Таблетки «Атенолол-Здоров'я» 0,05 г	1,0057±(0,0023)	1,0059±(0,0022)
Таблетки «Бетак» 0,02 г	0,9971±(0,0015)	0,9975±(0,0008)
Таблетки «Бетакор» 0,02 г	0,9971±(0,0015)	0,9968±(0,0017)
Таблетки «Локрен» 0,02 г	0,9971±(0,0015)	0,9965±(0,0009)
Таблетки «Бісопролол-Ратіофарм» 10 мг	0,9721±(0,0117)	0,9718±(0,0113)

Продовж. табл. 5.8

1	2	3
Таблетки «Бісопролол-Ратіофарм» 5 мг	0,9721±(0,0117)	0,9726±(0,0116)
Таблетки «Бісопролол-Лугал» 10 мг	0,9721±(0,0117)	0,9728±(0,0122)
Таблетки «Бісопролол-Лугал» 5 мг	0,9721±(0,0117)	0,9715±(0,0114)
Таблетки «Корвазан 25»	0,9959±(0,0043)	0,9965±(0,0036)
Таблетки «Корвазан 12,5»	0,9959±(0,0043)	0,9954±(0,0049)
Таблетки «Коріол 25»	0,9959±(0,0043)	0,9963±(0,0035)
Таблетки «Коріол 12,5»	0,9959±(0,0043)	0,9961±(0,0038)
Таблетки «Небівал», 0,005 г	1,0029±(0,0079)	1,0013±(0,0069)
Таблетки «Метопрололу тартрат», 0,1 г	1,0153±(0,0026)	1,0148±(0,0042)
Таблетки «Метопрололу тартрат», 0,05 г	1,0153±(0,0026)	1,0146 ±(0,0022)
Таблетки «Корвітол 100»	1,0153±(0,0026)	1,0154±(0,0039)
Таблетки «Корвітол 50»	1,0153±(0,0026)	1,0158±(0,0015)
Таблетки «Егілок Ретард 50 мг»	1,0153±(0,0026)	1,0161±(0,0046)
Таблетки «Егілок Ретард 100 мг»	1,0153±(0,0026)	1,0142±(0,0028)
Таблетки «Метопролол 50»	1,0153±(0,0026)	1,0151±(0,0034)
Таблетки «Метопролол 100»	1,0153±(0,0026)	1,0157±(0,0037)
Таблетки «Беталок ЗОК 25»	1,0153±(0,0026)	1,0160±(0,0025)
Таблетки «Вазокардін 100»	1,0153±(0,0026)	1,0145±(0,0023)
Таблетки «Вазокардін 50»	1,0153±(0,0026)	1,0150±(0,0024)
Таблетки «Соритмік 80»	0,9909±(0,0094)	0,9901±(0,0099)
Таблетки «Соритмік 160»	0,9909±(0,0094)	0,9912±(0,0098)

Результати визначення правильності методом добавок наведені у табл. 5.9.

Таблиця 5.9

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
Таблетки «Атенолол-Астрафарм» 0,1 г	1,850	0,400	100,40	100,38± 0,0647	0,38
	1,850	0,600	100,34		
	1,850	0,800	100,40		
Таблетки «Атенобене» 0,1 г	1,871	0,400	99,77	99,79± 0,0525	0,21
	1,871	0,600	99,80		
	1,871	0,800	99,81		
Таблетки «Атенолол-Здоров'я» 0,05 г	1,852	0,400	100,04	100,05± 0,0360	0,05
	1,852	0,600	100,05		
	1,852	0,800	100,05		
Таблетки «Бетак» 0,02 г	1,686	0,400	99,96	99,97± 0,0245	0,03
	1,686	0,600	99,96		
	1,686	0,800	99,98		
Таблетки «Бетакор» 0,02 г	1,767	0,400	99,98	99,98± 0,0155	0,02
	1,767	0,600	99,97		
	1,767	0,800	99,98		
Таблетки «Локрен» 0,02 г	1,719	0,400	99,91	99,92± 0,0145	0,08
	1,719	0,600	99,92		
	1,719	0,800	99,93		
Таблетки «Бісопролол-Ратіофарм» 10 мг	2,501	0,600	100,22	100,05± 0,638	0,05
	2,501	0,900	100,16		
	2,501	1,200	99,75		

Продовж. табл. 5.9

1	2	3	4	5	6
Таблетки «Бісопролол- Ратіофарм» 5 мг	2,545 2,545 2,545	0,600 0,900 1,200	100,23 99,67 100,24	100,25± 1,075	0,25
Таблетки «Бісопролол-Лугал» 10 мг	2,511 2,511 2,511	0,600 0,900 1,200	99,53 99,93 99,73	99,73± 0,690	0,27
Таблетки «Бісопролол-Лугал» 5 мг	2,526 2,526 2,526	0,600 0,900 1,200	99,67 99,73 99,20	99,53± 0,638	0,47
Таблетки «Корвазан 25»	1,213 1,213 1,213	0,340 0,510 0,680	100,10 100,20 100,20	100,20± 0,0145	0,20
Таблетки «Корвазан 12,5»	1,201 1,201 1,201	0,340 0,510 0,680	100,17 100,14 100,05	100,12± 0,215	0,12
Таблетки «Коріол 25»	1,030 1,030 1,030	0,340 0,510 0,680	100,99 101,01 101,01	101,00± 0,0333	1,00
Таблетки «Коріол 12,5»	1,058 1,058 1,058	0,340 0,510 0,680	100,17 100,14 100,05	100,12± 0,215	0,12
Таблетки «Небівал», 0,005 г	4,023 4,023 4,023	1,080 1,620 2,160	100,93 100,83 100,91	100,89± 0,0975	0,89
Таблетки «Метопрололу тарtrat», 0,1 г	1,002 1,002 1,002	0,300 0,450 0,600	100,67 100,67 100,53	100,62± 0,132	0,62

Продовж. табл. 5.9

1	2	3	4	5	6
Таблетки «Метопрололу тарtrat», 0,05 г	1,012	0,300	100,44	100,53± 0,346	0,53
	1,012	0,450	100,59		
	1,012	0,600	100,55		
Таблетки «Корвітол 100»	1,395	0,300	99,41	99,61± 0,353	0,39
	1,395	0,450	99,71		
	1,395	0,600	99,72		
Таблетки «Корвітол 50»	1,388	0,300	100,46	100,44± 0,132	0,44
	1,388	0,450	100,46		
	1,388	0,600	100,40		
Таблетки «Егілок Ретард 50 мг»	1,301	0,300	100,80	100,90± 0,228	0,90
	1,301	0,450	101,00		
	1,301	0,600	100,90		
Таблетки «Егілок Ретард 100 мг»	1,264	0,300	100,09	100,09± 0,148	0,09
	1,264	0,450	100,10		
	1,264	0,600	100,10		
Таблетки «Метопролол 50»	1,056	0,300	99,99	99,99± 0,0815	0,01
	1,056	0,450	99,98		
	1,056	0,600	99,99		
Таблетки «Метопролол 100»	1,123	0,300	99,97	99,97± 0,0290	0,03
	1,123	0,450	99,96		
	1,123	0,600	99,98		
Таблетки «Беталок ЗОК 25»	1,215	0,300	99,91	99,94± 0,0164	0,06
	1,215	0,450	99,95		
	1,215	0,600	99,95		
Таблетки «Вазокардін 100»	1,127	0,300	99,98	99,97± 0,0286	0,03
	1,127	0,450	99,97		
	1,127	0,600	99,96		

Продовж. табл. 5.9

1	2	3	4	5	6
Таблетки «Вазокардін 50»	1,139	0,300	99,95	99,96± 0,0396	0,04
	1,139	0,450	99,94		
	1,139	0,600	99,97		
Таблетки «Соритмік 80»	5,420	1,200	99,20	99,36± 0,227	0,64
	5,420	1,800	99,40		
	5,420	2,400	99,40		
Таблетки «Соритмік 160»	5,124	1,200	99,90	99,89± 0,850	0,11
	5,124	1,800	99,76		
	5,124	2,400	100,03		

Примітка: * – середнє для трьох визначень.

Для встановлення правильності методики кількісного визначення салбутамолу сульфату в аерозолі порівнювали результати кількісного визначення за розробленою методикою ($\bar{X} = 9,74 \cdot 10^{-5}$ г) з результатами визначення за методикою МКЯ ($\bar{X} = 9,20 \cdot 10^{-5}$ г). Результати визначення за обома методиками майже однакові, що свідчить про правильність розробленої методики.

5.7 Робасність

Згідно ДФУ, робасність аналітичної методики – це її здатність не зазнавати впливу малих задаваних (контрольованих) аналітиком змін в умовах виконання методики. Робасність є показником надійності методики при її використанні у зазначених умовах [157].

Оцінку робасності було проведено на стадії розробки методик під час встановлення оптимальних умов проведення перебігу реакцій та визначення факторів, які здатні впливати на величину оптичної густини: кількість доданих

реагентів, стабільність досліджуваних розчинів у часі, а також наявність води у розчиннику.

Було встановлено, що коливання кількості доданих реагентів у межах $\pm 10\%$ суттєво не впливає на результати дослідження. Це видно на рис. 5.11, де усі три спектра (при додаванні 90, 100 та 110% реагенту) накладаються один на одного.

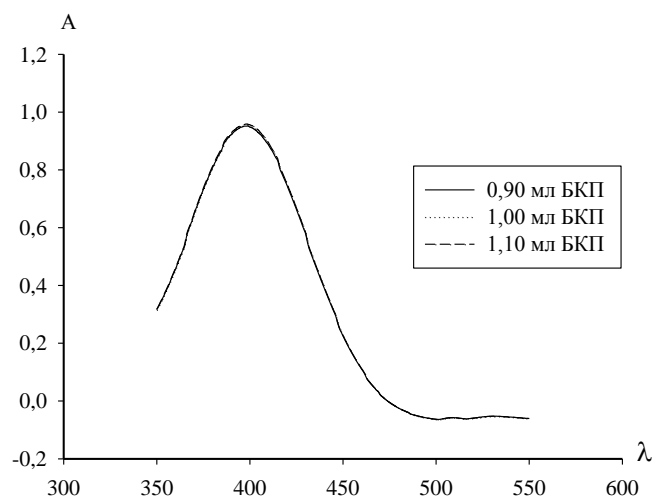


Рис. 5.11. Графік залежності оптичної густини від кількості доданого БКП за реакцією з метопрололу тартратом

Аналогічні результати було отримано й для інших лікарських речовин зі їх реакціями з відповідними сульфоталеїновими барвниками.

Було встановлено, що досліджувані розчини стабільні протягом щонайменше 30 хв. (розд. 3.1).

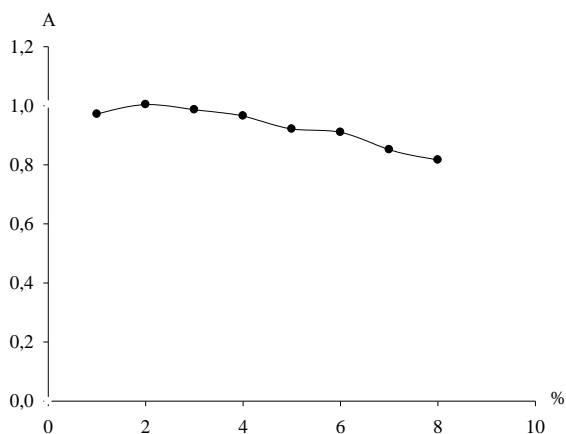


Рис. 5.12. Графік залежності оптичної густини від кількості води (%) в аналізованому розчині (за реакцією метопрололу тартрату з БКП)

У тих випадках, коли для розчинення лікарської речовини використовували воду (метопрололу тартрат, небівололу гідрохлорид, сальбутамолу сульфат, соталолу гідрохлорид та фенілефрину гідрохлорид) було визначено, як саме впливає її кількість на величину оптичної густини та характер спектра. При додаванні відносно великих кількостей води до аналізованих розчинів було виявлено негативний вплив на утворення продуктів реакції.

На спектрах це було видно зі зниження величини оптичної густини, а також власне характеру спектрів. Експериментально встановлено, що максимальна кількість води в аналізованих розчинах, яка не має негативного впливу на перебіг реакцій становить до 4% (рис. 5.12).

За матеріалами розділу опубліковано роботи [173, 174, 177, 189–193].

ВИСНОВКИ

1. Доведено, що розроблені методики будуть давати коректні результати й в інших лабораторіях, так як прогнозована повна невизначеність результатів аналізу у кожному випадку не перевищує критичного значення.

2. Доведено, що методики характеризуються достатньою специфічністю, щоб визначати досліджувані сполуки окремо від допоміжних речовин.

3. Доведено, що лінійність розроблених методик підтверджується в обраних діапазонах концентрацій досліджуваних речовин. Такий висновок було зроблено на основі розрахованих показників лінійної залежності.

4. Прецизійність розроблених методик було встановлено на рівні збіжності. Доведено, що методики є точними, так як однобічний довірчий інтервал у всіх випадках не перевищує максимально припустиму невизначеність аналізу.

5. Правильність було встановлено методом «модельних сумішей», методом добавок, а також шляхом порівняння результатів кількісного визначення, отриманих за розробленою методикою з результатами арбітражної методики. Розраховані критерії статистичної та практичної незначущості систематичної похибки свідчать, що методики є правильними.

6. Встановлено, що такі валідаційні характеристики, як лінійність, прецизійність та правильність лежать в інтервалах робочих концентрацій, які входять у межі мінімально допустимого діапазону застосування методики для кількісного визначення готових лікарських форм, згідно ДФУ.

ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі викладене теоретичне узагальнення та нове експериментальне вирішення наукової задачі з розробки та валідації чутливих, експресних та простих у виконанні спектрофотометричних методик визначення лікарських речовин, що містять вторинну аліфатичну аміногрупу з використанням сульфопфталеїнових барвників в якості аналітичних кольорореагентів.

1. На основі аналізу даних літератури обґрунтовано доцільність розробки нових методів аналізу лікарських речовин, що містять вторинну аліфатичну аміногрупу з використанням сульфопфталеїнових барвників в якості аналітичних кольорореагентів та абсорбційної спектрофотометрії у видимій області спектра.

2. Досліджено оптимальні умови проведення реакцій між досліджуваними лікарськими речовинами та сульфопфталеїновими барвниками (карведілолу, метопрололу тартрату та соталолу гідрохлориду з БКП, атенололу та небівололу гідрохлориду з БТС, бетаксолулу гідрохлориду, сальбутамолу сульфату та фенілефрину гідрохлориду з БКЗ, а також бісопрололу fumarату з ТС). Обрано оптимальні розчинники (хлороформ для бісопрололу fumarату та ацетон у випадку атенололу, бетаксолулу гідрохлориду, карведілолу, метопрололу тартрату, небівололу гідрохлориду, сальбутамолу сульфату, соталолу гідрохлориду та фенілефрину гідрохлориду), а також реагенти та їх кількість, необхідна для повноти перебігу реакції. Низькі значення відкритих мінімумів (0,67–5,88 мкг/мл) та високі значення молярних показників світлопоглинання ($2,16 \cdot 10^3$ – $4,54 \cdot 10^4$) свідчать про високу чутливість реакцій.

3. Методами насичення та ізомолярних серій встановлено стехіометричні співвідношення «лікарська речовина – сульфопфталеїновий барвник», які складають 1:1 для продуктів реакцій сульфопфталеїнових барвників з атенололом, бісопрололу fumarатом, бетаксолулу гідрохлоридом,

карведілолом, метопрололу тартратом, небівололу гідрохлоридом та соталолу гідрохлоридом.

4. Виділено та ідентифіковано продукти реакцій атенололу з БТС, бетаксолулу гідрохлориду з БКЗ, бісопрололу фумарату з ТС, карведілолу та соталолу гідрохлориду з БКП. За допомогою ІЧ-, ^1H ЯМР та ^{13}C ЯМР спектроскопії підтверджено, що продуктами реакцій є іонні асоціати.

5. Розроблено та валідовано спектрофотометричні методики кількісного визначення 9 лікарських речовин, що містять вторинну аліфатичну аміногрупу у складі 30 лікарських форм. Розроблені методики є простими у виконанні та не потребують особливих умов.

6. Прогнозована повна невизначеність результатів аналізу у кожному випадку не перевищує критичного значення, і свідчить про те, що методики будуть давати коректні результати й в інших лабораторіях.

7. Доведено, що за такими валідаційними характеристиками як специфічність, лінійність, правильність, діапазон застосування, прецизійність та робастність розроблені методики кількісного визначення досліджуваних лікарських речовин відповідають вимогам ДФУ і можуть бути застосовані у лабораторіях відділів технічного контролю виробників лікарських засобів і інспекцій з контролю якості лікарських засобів.

8. Розроблені методики впроваджено у практичну діяльність лабораторії з контролю якості лікарських засобів та медичної продукції Державної служби з лікарських засобів у Запорізькій області. Також розроблені методики знайшли використання в науково-педагогічному процесі Запорізького державного медичного університету, Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського, Національного фармацевтичного університету, Національної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Индикаторы: в 2 т. / [под ред. Э. Бишоп]. – Пер. с англ. / Под ред. И. Н. Марова. – М. : Мир, 1976. – Т. 1. – 137 с.
2. Ulu S. T. A new spectrophotometric method for the determination of tianeptine in tablets using ion-pair reagents / S. T. Ulu, Z. Aydogmus // Chem. Pharm. Bull. – 2008. – Vol. 56, № 12. – P. 1635–1638.
3. Spectrophotometric determination of certain antidepressants in pharmaceutical preparations / A. Onal, S. E. Kepekci, S. M. Cetin, S. Erturk // J. AOAC Int. – 2006. – Vol. 89, № 4. – P. 966–971.
4. Sensitive extractive spectrophotometric methods for the determination of trazodone hydrochloride in pharmaceutical formulations / R. Sudhir Kumar, D. H. Manjunantha, S. M. Shaikh [et al.] // Chem. Pharm. Bull. – 2006. – Vol. 54, № 7. – P. 968–971.
5. Onal A. Spectrophotometric methods for the determination of the antidepressant drug paroxetine hydrochloride in tablets / A. Onal, S. E. Kepekci, A. Oztunc // J. AOAC Int. – 2005. – Vol. 88, № 2. – P. 490–495.
6. Nour El-Dien F. A. Spectrophotometric determination of trazodone, amineptine and amitriptyline hydrochlorides through ion-pair formation using methyl orange and bromocresol green reagents / F. A. Nour El-Dien, G. G. Mohamed, N. A. Mohamed // Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc. – 2006. – Vol. 65, № 1. – P. 20–26.
7. Gouda A. A. Spectrophotometric determination of tadalafil in pure and dosage forms / A. A. Gouda, A. Al Kaf // Chem. Ind. Chem. Eng. Q. – 2011. – Vol. 17, № 2. – P. 125–132.
8. Mostafa S. Spectrophotometric determination of enrofloxacin and pefloxacin through ion-pair complex formation / S. Mostafa, M. El-Sadek, E. A. Alla // J. Pharm. Biomed. Anal. – 2002. – Vol. 28, № 1. – P. 173–180.

9. Basavaiah K. Spectrophotometric determination of pefloxacin mesylate in pharmaceuticals / K. Basavaiah, H. C. Prameela, B. C. Somashekar // *Acta Pharm.* – 2007. – Vol. 57, № 2. – P. 221–230.
10. Spectrophotometric determination of gatifloxacin in pure form and in pharmaceutical formulation / A. S. Amin, A. A. El-Fetouh Gouda, R. El-Sheikh, F. Zahran // *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* – 2007. – Vol. 67, № 5. – P. 1306–1312.
11. Ashour S. Simple extractive colorimetric determination of levofloxacin by acid-dye complexation methods in pharmaceutical preparations / S. Ashour, R. Al-Khalil // *Farmaco.* – 2005. – Vol. 60, № 9. – P. 771–775.
12. Marona H. R. Spectrophotometric determination of sparfloxacin in Pharmaceutical formulations using bromothimol blue / H. R. Marona, E. E. Schapoval // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2001. – Vol. 26, № 3. – P. 501–504
13. Suslu I. Spectrophotometric determination of enoxacin as ion-pairs with bromophenol blue and bromocresol purple in bulk and pharmaceutical dosage form / I. Suslu, A. Tamer // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2002. – Vol. 29, № 3. – P. 545–554.
14. Ulu S. T. A new spectrophotometric method for the determination of finasteride in tablets / S. T. Ulu // *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* – 2007. – Vol. 67, № 3–4. – P. 778–783.
15. Gouda A. A. Spectrophotometric determination of tadalafil in pure and dosage forms / A. A. Gouda, A. Al Kaf // *Chem. Ind. Chem. Eng. Q.* – 2011. – Vol. 17, № 2. – P. 125–132.
16. Ashour S. Spectrophotometric determination of alfuzosin HCL in pharmaceutical formulations with some sulphonephthalein dyes / S. Ashour, M. F. Chenna, R. Bayram // *Int. J. Biomed. Sci.* – 2006. – Vol. 2, № 3. – P. 273–279.
17. Rahman N. Extractive spectrophotometric methods for the determination of nifedipine in pharmaceutical formulations using bromocresol green, bromophenol blue, bromothymol blue and eriochrome black T / N. Rahman, N. Ahmad Khan, S. N. Hejaz Azmi // *Farmaco.* – 2004. – Vol. 59, № 1. – P. 47–54.

18. Rahman N. Extractive spectrophotometric methods for determination of diltiazem HCl in pharmaceutical formulations using bromothymol blue, bromophenol blue and bromocresol green / N. Rahman, S. N. Hejaz Azmi // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2000. – Vol. 24, № 1. – P. 33–41.
19. El-Didamoni A. M. Extractive spectrophotometric methods for the determination of oxememazine hydrochloride in bulk and pharmaceutical formulations using bromocresol green, bromocresol purple and bromophenol blue / A. M. El-Didamoni // *Arch. Pharm.* – 2005. – Vol. 338, № 4. – P. 190–197.
20. Gowda B. G. Extractive spectrophotometric determination of ceterizine in pharmaceutical preparations / B. G. Gowda, M. B. Melwanki, J. Seetharamappa // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2001. – Vol. 25, № 5-6. – P. 1021–1026.
21. Determination of some histamine H₁-receptor antagonists in dosage forms / A. A. Gazy, H. Mahgoub, F. A. El-Yazbi [et al.] // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2002. – Vol. 30, № 3. – P. 859–867.
22. Determination of diphenhydramine hydrochloride in some single tertiary alkylamine pharmaceutical preparations by flow injection spectrophotometry / P. Tipparat, S. Lapanantnoppakhum, J. Jakmunee, K. Grudpan // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2002. – Vol. 30, № 1. – P. 105–112.
23. Spectrophotometric determination of loperamide hydrochloride by acid-dye and charge-transfer complexation methods in the presence of its degradation products / Z. A. El Sherif, A. O. Mohamed, M. I. Walsh, F. M. Tarras // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2000. – Vol. 22, № 1. – P. 13–23.
24. Erk N. Spectrophotometric determination of indinavir in bulk and pharmaceutical formulations using bromocresol purple and bromothimol blue / N. Erk // *Pharmazie.* – 2004. – Vol. 59, № 3. – P. 183–186.
25. Spectrophotometric determination of hyoscine butylbromide and famciclovir in pure form and in pharmaceutical formulations / A. A. Gouda, Z. El Shafey, N. Hossny, R. El-Azzazy // *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* – 2008. – Vol. 70, № 4. – P. 785–792.

26. Silva N. Spectrophotometric determination of etidocaine in pharmaceutical (dental) formulation / N. Silva, E. E. Schapoval // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2002. – Vol. 92, № 4. – P. 749–754.
27. Extractive spectrophotometric determination of antiallergic drugs in pharmaceutical formulations using bromopyrogallol red and bromothymol blue / K. C. Ramesh, B. G. Gowda, M. B. Melwanki [et al.] // *Anal. Sci.* – 2001. – Vol. 17, № 9. – P. 1101–1103.
28. Laskova M. Extraction-spectrophotometric determination of carbethopendicinium-bromide in drug preparations / M. Laskova, M. Blesova // *Ceska Slov. Farm.* – 2003. – Vol. 52, № 5. – P. 252–257.
29. Aydogmus Z. Spectrophotometric determination of doxazosin mesylate in tablets by ion-pair and charge-transfer complexation reactions / Z. Aydogmus, A. Barla // *J. AOAC Int.* – 2009. – Vol. 92, № 1. – P. 1231–137.
30. Abdellatef H. E. Extractive-spectrophotometric determination of disopyramide and irbesartan in their pharmaceutical formulation / H. E. Abdellatef // *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* – 2007. – Vol. 66, № 4-5. – P. 1248–1254.
31. Aydogmus Z. Extractive spectrophotometric methods for determination of zolmitriptan in tablets / Z. Aydogmus, I. Inanli // *J. AOAC Int.* – 2007. – Vol. 90, № 5. – P. 1237–1241.
32. Simple and sensitive spectrophotometric methods for the determination of acebutolol hydrochloride in bulk sample and pharmaceutical preparations / D. H. Manjunata, S. M. T. Shaikh, K. Haricrishna [et al.] // *Ecletica Quimica.* – 2008. – Vol. 33, № 2. – P. 37–40.
33. Spectrophotometric determination of vitamin B₁ in a pharmaceutical formulation using triphenylmethane acid dyes / S. Liu, Z. Zhang, Q. Liu [et al.] // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2002. – Vol. 30, № 3. – P. 685–694.
34. Spectrophotometric and titrimetric determination of nizatidine in capsules / F. A. El-Yazbi, A. A. Gazy, H. Mahgoub [et al.] // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2003. – Vol. 31, № 5. – P. 1027–1034.

35. Onal A. Spectrophotometric and HPLC determinations of anti-diabetic drugs, rosiglitazone maleate and metformin hydrochloride, in pure form and in pharmaceutical preparations / A. Onal // *Eur. J. Med. Chem.* – 2009. – Vol. 44, № 12. – P. 4998–5005.

36. Cardoso S. G. Spectrophotometric determination of carvedilol in pharmaceutical formulations through charge-transfer and ion-pair complexation reactions / S. G. Cardoso, C. V. Ieggli, S. C. Pomblum // *Pharmazie.* – 2007. – Vol. 62, № 1. – P. 34–37.

37. Al-Ghannam S. M. A simple spectrophotometric method for the determination of β -blockers in dosage forms / S. M. / Al-Ghannam / *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2006. – Vol. 40, № 1. – P. 151–156.

38. Abdine H. Simple spectrophotometric determination of cinnarizine in its dosage forms / H. Abdine, F. Belal, N. Zoman // *Farmaco.* – 2002. – Vol. 57, № 4. – P. 267–271.

39. KN Prashanth. Rapid and Sensitive Spectrophotometric Measurement of Non-Specific Beta Blocker Propranolol Hydrochloride Using Three Sulphonphthalein Dyes In Pure Form, Pharmaceuticals and Human Urine / KN Prashanth, K Basavaiah, MS Raghu // *Chemical Sciences Journal.* – 2012. – Vol. CSJ-80. – <http://astonjournals.com/csj>

40. Визначення флуконазолу в лікарських формах за реакцією з бромтимоловим синім / Ю. В. Бурлака, О. О. Тарханова, С. О. Васюк, І. М. Кейтлін // *Фармац. журн.* – 2010. – № 3. – С. 69–75.

41. Спектрофотометричне визначення клотримазолу у лікарських формах / Ю. В. Бурлака, О. О. Тарханова, С. О. Васюк, І. М. Кейтлін // *Запорж. мед. журн.* – 2010. – № 4. – С. 63–66.

42. Спектрофотометричне визначення деяких цефалоспоринів за реакцією з крезоловим червоним / Ю. В. Бурлака, К. П. Портна, О. О. Тарханова, С. О. Васюк // *Актуальні питання фармац. та мед. науки та практики : зб. наук. статей.* – Запоріжжя, 2010. – Вип. XXIII. – № 4. – С. 17–19.

43. Бурлака Ю. В. Спектрофотометричне визначення цефтриаксону / Ю. В. Бурлака, О. О. Тарханова, С. О. Васюк // Запорж. мед. журн. – 2009. – № 6. – С. 93–94.
44. Монайкіна Ю. В. Застосування сульфоталейнових барвників у спектрофотометричному аналізі лікарських засобів: дис. ... кандидата фарм. наук : 15.00.02 / Монайкіна Юлія Віталіївна. – Запоріжжя, 2011. – 177 с.
45. Загородній С. Л. Спектрофотометричне визначення димедролу в таблетках / С. Л. Загородній, С. О. Васюк // Актуальні питання фармац. та мед. науки та практики. – 2013. – № 2 (12). – С. 98–101.
46. Загородній С. Л. Quantitative determination of ketotifen in drug dosage forms by spectrophotometric method / С. Л. Загородній, С. О. Васюк, Ю.В. Монайкіна // ІАРВС. – 2015. - № 4 (2). – С. 373-377.
47. Загородній С. Л. Кількісне визначення зопіклому у таблетках «Сонован» методом спектрофотометрії / С. Л. Загородній, С. О. Васюк // Актуальні питання фармац. та мед. науки та практики. – 2014. – № 2 (15). – С. 23–26.
48. Загородній С. Л. Спектрофотометричне визначення циклодолу в таблетках / С. Л. Загородній, С. О. Васюк // Фармац. часопис. – 2014. – № 4 (32). – С. 58–63.
49. Загородній С. Л. Спектрофотометрическое определение зопиклона в таблетках / С. Л. Загородній, С. О. Васюк // Рецепт. – 2014. – № 2 (94). – С. 71–78.
50. Загородній С. Л. Застосування хроматографічних та спектральних методів для аналізу психотропних речовин: дис. ... кандидата фарм. наук : 15.00.02 / Загородній Святослав Леонідович. – Запоріжжя, 2015. – 201 с.
51. Беловол, А. Н. Клиническая фармакология бета-блокаторов, применяемых при хронической сердечной недостаточности / А. Н. Беловол // Світ медицини та біології. – 2012. – № 1. – С. 7–13.

52. Радченко, О. М. Бета-адреноблокатори у лікуванні серцевої недостатності / О. М. Радченко // Медична гідрологія та реабілітація. – 2009. – Т. 7, № 1. – С. 11–19.

53. Беликов В. Г. Анализ лекарственных веществ фотометрическими методами. Опыт работы отечественных специалистов / В. Г. Беликов // Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева). – 2002. – Т. XLVI, № 4. – С. 52–56.

54. Rapid analysis of labetalol in human plasma using liquid chromatography-tandem mass spectrometry / M. Ganesan, S. Nanjundan, K. S. Rauthan [et al.] // International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. – 2010. – Vol. 1, Issue 12. – P. 209–218.

55. Krzek, J. Application of Densitometry for Determination of Beta-Adrenergic-Blocking Agents in Pharmaceutical Preparations / J. Krzek, A. Kwiecień // Journal of Planar Chromatography – Modern TLC. – 2005. – Vol. 18, № 104. – P. 308–313.

56. Development of rp-hplc method for the simultaneous estimation of propranolol hydrochloride and hydrochlorothiazide in combined dosage form / P. Bendapudi, R. P. Venketeswara, A. M. S. Sudhakar babu, N. Pramo. // International Journal of Biological & Pharmaceutical Research. – 2012. – Vol. 3, № 7. – P. 899–903.

57. Chitlange S. RP-HPLC method for simultaneous estimation of amlodipine and metoprolol in tablet formulation / S. Chitlange, M. Imran, D. Sakarkar // Asian Journal of Pharmaceutics. – 2008. – Vol. 2, № 4. – P. 232.

58. A validated RP-HPLC method for simultaneous determination of propranolol and valsartan in bulk drug and gel formulation / M. Aqil, Y. Sultana, A. Ali [et al.] // Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences. – 2013. – Vol. 5, № 1. – P. 61.

59. Simultaneous determination of metoprolol and propranolol using chemometricassisted spectrophotometry and high-performance liquid chromatography / A. Sarafrazyzdi, M. R. Abedi, Z. Eshaghi, J. Fadaee-Kakhki //

International Journal of Pharma and Bio Sciences. – 2012. – Vol. 3, № 3. – P. 532–542.

60. Santoro M. I. R. M. Enantiomeric separation and quantitative determination of atenolol in tablets by chiral high-performance liquid chromatography / M. I. R. M. Santoro, H. S. Cho, E. R.M. Kedor-Hackmann // Drug Development and Industrial Pharmacy. – 2000. – Vol. 26, № 10. – P. 1107–1110.

61. Validated reversed-phase HPLC method for the determination of atenolol in the presence of its major degradation product / R. Ceresole, M. A. Moyano, M. T. Pizzorno, A. I. Segall // Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies. – 2006. – Vol. 29, № 20. – P. 3009–3019.

62. Bing L. HPLC determination of atenolol and nifedipine in compound atenolol tablets / L. Bing, D. F. Hu, F. Liu // Yaowu Fenxi Zazhi. – 2004. – Vol. 24, № 5. – P. 485–486.

63. Singh A. K. Development and validation of a chiral liquid chromatographic method for the determination of atenolol and metoprolol enantiomers in tablet preparations / A. K. Singh, E. R. M. Kedor-Hackmann, M. I. R. M. Santoro // Journal of AOAC International. – 2001. – Vol. 84, № 6. – P. 1724–1729.

64. Bhushan R. Reversed-phase high-performance liquid chromatographic enantioresolution of six β -blockers using dinitrophenyl-1-Pro-N-hydroxysuccinimide ester, N-succinimidyl-(S)-2-(6-methoxynaphth-2-yl) propionate and twelve variants of Sanger's reagent as chiral derivatizing reagents / R. Bhushan, S. Tanwar // Biomedical Chromatography. – 2009. – Vol. 23, № 12. – P. 1291–1299.

65. El Deeb S. Evaluation of a vancomycin-based LC column in enantiomeric separation of atenolol: method development, repeatability study and enantiomeric impurity determination / S. El Deeb // Chromatographia. – 2010. – Vol. 71, № 9–10. – P. 783–787.

66. Simultaneous determination of thirteen (beta)-blockers and one metabolite by gradient high-performance liquid chromatography with photodiode-

array UV detection / M. Delamoye, C. Duverneuil, F. Paraire, P [et al.] // *Forensic Science International*. – 2004. – Vol. 141, № 1. – P. 23–31.

67. Saleem K. Recent Developments in HPLC Analysis of β -Blockers in Biological Samples / K. Saleem, I. Ali, U. Kulsum, H. Y. Aboul-Enein // *Journal of Chromatographic Science*. – 2013. – Vol. 51, № 8. – P. 807–818.

68. Simultaneous Spectrophotometric Determination of Amlodipine and Metoprolol by Principal Component Regression Multivariate Calibration and Comparison with HPLC / M. Shahlaeia, F. Hassanzadehb, J. Emamic [et al.] // *Journal of Reports in Pharmaceutical Sciences*. – 2013. – Vol. 2, № 2. – P. 179–189.

69. Novel SPE-HPLC Method for Analyses of β -Blockers in Human Plasma Using New Generation Phenyl-Ethyl Column / I. Ali, U. Kulsum, K. Saleem [et al.] // *American Journal of Advanced Drug Delivery*. – 2015. – Vol. 3, № 1. – P. 32–51.

70. Gas chromatographic-mass spectrometric differentiation of atenolol, metoprolol, propranolol and an interfering metabolite product of metoprolol / M. K. Angier, R. J. Lewis, A. K. Chaturvedi, D. V. Canfield // *Journal of Analytical Toxicology*. – 2005. – Vol. 29, № 6. – P. 517–521.

71. Coragem Briguenti A. C. Quantitative analysis of beta-blockers in pharmaceutical preparations by capillary electrophoresis / A. C. Coragem Briguenti, P. S. Bonato // *Drug Development and Industrial Pharmacy*. – 2005. – Vol. 31, № 2. – P. 209–214.

72. Simultaneous determination of atenolol and chlorthalidone in pharmaceutical preparations by capillary-zone electrophoresis / K. Al Azzam, A. A. Elbashir, M. A. Elbashir [et al.] // *Analytical Letters*. – 2009. – Vol. 42, № 10. – P. 1458–1470.

73. El-Ries M. A. Polarographic determination of pro-pranolol in pharmaceutical formulation / M. A. El-Ries, M. M. Abou-Sekkina, A. A. Wassel // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. – 2002. – Vol. 30, № 3. – P. 837–842.

74. Fully validated simultaneous determination of bisoprolol fumarate and hydrochlorothiazide in their dosage forms using different voltammetric,

chromatographic, and spectrophotometric analytical methods / B. Bozal, M. Gumustas, B. D. Topal [et al.] // *Journal of AOAC International*. – 2013. – Vol. 96, № 1. – P. 42–51.

75. Goyal R. Voltammetric determination of atenolol at C60-modified glassy carbon electrodes / R. Goyal, S. Singh // *Talanta*. – 2006. – Vol. 69, № 4. – P. 932–937.

76. Vaikosen E. N. Simple, Sensitive and Reproducible Acetous Perchlorate and Spectrophotometric Determination of Atenolol in Tablet Dosage Form / E. N Vaikosen, B. U Ebeshi, P. P. K Joffa // *J. Pharm. Sci. & Res.* – 2012. – Vol. 4, № 10. – P. 1933–1938.

77. Patil S. M. Development of validated uv spectrophotometric method for estimation of betaxolol hydrochloride in bulk and pharmaceutical dosage form / S. M. Patil, V. S. Panchal, R. N. Chilkawar // *International Journal of Pharmaceutical Research and Bio-science*. – 2013. – Vol. 2, № 5. – P. 404–413.

78. Abdelwahab N. S. Spectrophotometric methods for simultaneous determination of Carvedilol and Hydrochlorothiazide in combined dosage form / N. S. Abdelwahab // *Arabian Journal of Chemistry*. – 2011. – doi:10.1016/j.arabjc.2011.05.002

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

80. Theivarasu C. UV Spectrophotometric determination of carvedilol in pharmaceutical formulations / C. Theivarasu, S. Ghosh, T. Indumathi // *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. – 2010. – Vol. 3, № 4. – P. 64–68.

81. Desai D. C. Simple spectrophotometric estimation of carvedilol phosphate in bulk and tablet dosage forms / D. C. Desai, V. V. Karkhanis // *International Research Journal of Pharmacy*. – 2012. – Vol. 3, № 2. – P. 114–116.

82. Yu L. L. Spectrophotometry determination of atenolol in tablets based on charge transfer complex of atenolol with chloranilic acid / L. L. Yu, J. C. Liu, H. K. Li // *Yaowu Fenxi Zazhi*. – 2010. – Vol. 30, № 3. – P. 538–540.

83. Prashanth K. N. Simple, Sensitive And Selective Spectrophotometric Methods For The Determination Of Atenolol In Pharmaceuticals Through Charge Transfer Complex Formation Reaction / K. N. Prashanth, K. Basavaiah // *Acta Poloniae Pharmaceutica and Drug Research*. – 2012. – Vol. 69, № 2. – P. 213–223.

84. Coragem Briguenti, A. C. Quantitative analysis of β -blockers in pharmaceutical preparations by capillary electrophoresis / A. C. Coragem Briguenti, P. S. Bonato // *Drug Development and Industrial Pharmacy*. – 2005. – Vol. 31, № 2. – P. 209–214.

85. Al-Ghannam SM. Kinetic spectrophotometric determination of atenolol in dosage forms / Al-Ghannam SM, Belal F. // *J AOAC Int*. – 2002. – Vol. 85, № 4. – P. 817–823.

86. Ulu S. T. Spectrophotometric determination of bisoprolol in pharmaceutical preparations by charge transfer reactions / S. T. Ulu, E. Kel // *Optics and Spectroscopy*. – 2012. – Vol. 112, № 6. – P. 864–867.

87. Salem H. Spectrophotometric determination of beta-adrenergic blocking agents in pharmaceutical formulations / Salem H. // *J Pharm Biomed Anal*. – 2002. – Vol. 29, № 3. – P. 527–538.

88. Spectrofluorimetric and Spectrophotometric Determination of Irbesartan and Bisoprolol hemifumarate independently in their Tablets / Afaf A. Abdelmonem, Gamal H. Ragab, Hisham A. Hashem, Eman A. Bahgat // *UK Journal of Pharmaceutical and Biosciences*. – 2016. – Vol. 4, № 2. – P. 43–52.

89. Пат. на корисну модель 67203 Україна, МПК G01N 21/78. Спосіб кількісного визначення бісопрололу фумарат в таблетках / Тарханова О. О., Шара Є. О., Васюк С. О. – № u2011 08150 ; заявл. 29.06.11 ; опубл. 10.02.12, Бюл. № 3.

90. D. Murali. Spectrophotometric Determination of Nebivolol Hydrochloride in Bulk and Pharmaceutical Formulation / D. Murali, T. Neeharika, C. Rambabu // *Asian Journal of Chemistry*. – 2013. – Vol. 25, № 6. – P. 2987–284.

91. Kudige Nagaragu Prashanth. Simple, sensitive and selective spectrophotometric methods for the determination of atenolol in pharmaceuticals

through charge transfer complex formation reaction / Kudige Nagaragu Prashanth, Kanakapura Basavaiah // *Acta Poloniae Pharmaceutica ñ Drug Research*. – 2012. – Vol. 69, № 2. – P. 213–223.

92. Nagaraja Setty K. A UV-Visible Spectrophotometric Determination of atenolol in Pharmaceutical Formulations / Nagaraja Setty K, Chakravarthi I. E // *International Journal of Scientific Research*. – 2013. – Vol. 2, № 3. – P. 31–32.

93. Hesham Salem. Spectrophotometric determination of β -adrenergic blocking agents in pharmaceutical formulations / Hesham Salem // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2002. – Vol. 29 (8). – P. 527–538.

94. Cardoso SG. Spectrophotometric determination of carvedilol in pharmaceutical formulations through charge-transfer and ion-pair complexation reactions / Cardoso SG, Ieggli CV, Pomblum SC // *Pharmazie*. – 2007. – Vol. 62, № 1. – P. 34–37.

95. Verma J. K. Extractive Spectrophotometric Method for Determination of Carvedilol in Tablets / Verma J. K., Syed, H. A. // *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2007. – Vol. 69, № 2. – P. 303.

96. Shetty D. N. Simple Methods for the Spectrophotometric Determination of Carvedilol / D. N. Shetty, B. Narayana // *ISRN Spectroscopy*. – 2012. – Vol. 2012. – P. 1–6.

97. Cesme M. Spectrophotometric Determination of Metoprolol Tartrate in Pharmaceutical Dosage Forms on Complex Formation with Cu(II) / M. Cesme, D. Tarinc, A. Golcu // *Pharmaceuticals*. – 2011. – Vol. 4, № 12. – P. 964–975.

98. Gölcü A1. Spectrophotometric determination of some beta-blockers in dosage forms based on complex formation with Cu(II) and Co(II) / Gölcü A1, Yücesoy C, Serin S. // *Farmaco*. – 2004. – Vol. 59, № 6. – P. 487–492.

99. A novel spectrophotometric determination of atenolol using sodium nitroprusside / Nadia Bashir, S W H Shah, Masroor Bangesh, Riazullah // *Journal of Scientific & Industrial Research*. – 2011. – Vol. 70. – P. 51–54.

100. Validation of a spectrophotometric assay method for bisoprolol using picric acid / A. D. Panainte, N. Bibire, G. Apostu, M. M. Vieriu // *Revista medico-*

chirurgical a Societ ii de Medici i Naturali ti din Ia i. – 2013. – Vol. 117, № 2. – P. 520–524.

101. Kudige N. Prashanth. Sensitive Spectrophotometric Determination of Atenolol in Pharmaceutical Formulations Using Bromate-Bromide Mixture as an Eco-Friendly Brominating Agent / Kudige N. Prashanth, Kanakapura Basavaiah // *Journal of Analytical Methods in Chemistry*. – 2012. – Vol. 2012. <http://dx.doi.org/10.1155/2012/810156>.

102. Quantitative determination of propranolol with bromate and methyl orange / K. Basavaiah, U. Chandrashekar, H. Prameela, P. Nagegowda // *Acta Ciencia Indica, Chemistry*. – 2003. – Vol. 29. – P. 25–30.

103. Basavaiah K. Sensitive determination of atenolol in tablets using chloramine-T and two dyes / K. Basavaiah, U. Chandrashekar, P. Nagegowda // *Indian Journal of Chemical Technology*. – 2004. – Vol. 11, № 6. – P. 769–776.

104. Spectrophotometric estimation of Betaxolol Hydrochloride in bulk powder and its dosage forms / B.N. Suhagia, S.A. Shah, I.S. Rathod [et al.] // *Indian Journal of Pharmaceutical Science*. – 2006. – Vol. 68, № 2. – P. 267-269.

105. Hiremath G. C. Kinetic methods of determination of atenolol in pure compound and in pharmaceutical formulations / G. C. Hiremath, R. M. Mulla, S. T. Nandibewoor // *Chemia Analityczna*. – 2005. – Vol. 50, № 2. – P. 449–455.

106. Spectrophotometric Determination of Betaxolol Hydrochloride And Metoprolol Tartrate / K.V Kanna Rao, B.V.V Ravi Kumar, M.E Bhanoji Rao, S.S Rao // *Indian Journal of Farmaceutical Sciences*. – 2003. – Vol. 65, № 5. – P. 516–518.

107. A. D. Gudruman. Spectrophotometric determination of bisoprolol using methyl orange as reagent / A. D. Gudruman, A. Murarasu, V. Dorneanu // *Farmacia*. . – 2012. – Vol. 60, № 5. – P. 634–641.

108. Utility of complexation reaction for the determination of some cardiovascular drugs / M. Ayad, H. Abdellatef, M. Hosny, Y. Sharaf // *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. – 2013. – Vol. 6, № 1. – P. 92–102.

109. Spectrophotometric method for estimation of bisoprolol fumarate in tablets / Panainte AD, Bibire N, Tântaru G [et al.] // *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi.* – 2014. – Vol. 118, № 2. – P. 558–563.

110. Akram M. El-didamony. Extraction-spectrophotometric determination of some antihypertensive drugs in pharmaceutical and biological fluids using two sulphonphthalein dyes / Akram M. El-didamony, Sameh M. Hafeez, Ahmed A. Saad // *International Journal of Applied Farmaceutics.* – 2015. – Vol. 7, № 1. – P. 10–17.

111. Tripti Sharma. Extractive Spectrophotometric Determination of Nebivolol Hydrochloride in Pharmaceutical Formulation and Biological Fluids / Tripti Sharma, Dannana Gowrisankar, Sudam Chandra.Si // *Int.J. PharmTech Res.* – 2014. – Vol. 6, № 5. – P. 1571–1579.

112. Nikita D Patel. Extractive spectrophotometric method for simultaneous determination of losartan potassium and atenolol in bulk and in pharmaceutical dosage form / Nikita D Patel, Anandkumari D Captain // *International Journal of PharmTech Research.* – 2013. – Vol. 5, № 2. – P. 629–640.

113. Shama SA. Spectrophotometric determination of phenylephrine HCl and orphenadrine citrate in pure and in dosage forms / Shama SA // *J Pharm Biomed Anal.* – 2002. – Vol. 30, № 4. – P. 1385–92.

114. UV/VIS spectrophotometric methods for determination of caffeine and phenylephrine hydrochloride in complex pharmaceutical preparations. Validation of the methods / Muszalska I, Zajac M, Wróbel G, Nogowska M. // *Acta Pol Pharm.* – 2000. – Vol. 57, № 4. – P. 247–52.

115. El-Mossalamy E.H. Charge-transfer complexes of phenylephrine with nitrobenzene derivatives / El-Mossalamy E.H. // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy.* – 2004. – Vol. 60, № 5. – P. 1161–1167.

116. N.W. Beyene. Sequential injection spectrophotometric determination of phenylephrine hydrochloride in pharmaceutical preparations / N.W. Beyene, J.F. Staden // *Talanta.* – 2004. – Vol. 63. – P. 599–604.

117. M.Q. Al-Abachi. Spectrophotometric micro determination of phenylephrine hydrochloride in pharmaceutical preparations via oxidative coupling

with 4-aminoantipyrine in the presence of sodium periodate / M.Q. Al-Abachi, H.S. Al-Ward // National J. Chem. – 2002. – Vol. 6. – P. 221–230.

118. Theia'a N. Al-Sabha. Spectrophotometric Assay of Phenylephrine Hydrochloride Using 4-Aminoantipyrine and Copper (II) / Theia'a N. Al-Sabha // Jordan Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2011. – Vol. 4, № 1. – P. 9–18.

119. C. Kelly. Ion exchange separation and Colorimetric determination of phenylephrine in pharmaceutical products / C. Kelly, M. Auerbach // J. Pharm. Sci. – 2006. – Vol. 50. – P. 490–493.

120. N.S. Othman. Spectrophotometric determination of phenylephrine hydrochloride by coupling with diazotized 2-aminobenzothiazole / N.S. Othman, Abdul N.T. Fatah // J. Raf. Sci. – 2009. – Vol. 20. – P. 69–81.

121. I.S. Ahmed. Spectrophotometric microdetermination of phenylephrine hydrochloride in pure and in pharmaceutical formulations using haematoxylin / I.S. Ahmed, A.S. Amin // J. Mol. Liq. – 2007. – Vol. 130. – P. 84–87.

122. Nabeel Sabeh Othman. Indirect Spectrophotometric Determination of Phenylephrine Hydrochloride in Pharmaceutical Preparations / Nabeel Sabeh Othman, Noha Thamer Abdul Fatah // Tikrit Journal of Pure Science. – 2011. – Vol. 16, № 2. – P. 12–17.

123. O.V.Kryvanych. Development of the method for the quantitative determination of phenylephrine hydrochloride in the combined drops / O.V.Kryvanych, N.Yu.Bevz, V.A.Georgiyants // Вісник фармації. – 2014. – Vol. 4, № 80. – P. 17–21.

124. Бевз, Н. Ю. Валідація методики кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду в назальних краплях / Н. Ю. Бевз, О. В. Криванич, В. А. Георгіянец // Фармацевтичний часопис. – 2013. – № 2. – С. 57–67.

125. Бевз, Н. Ю. Валідація методики кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду в очних краплях / Н. Ю. Бевз, О. В. Криванич, П. О. Безуглий // Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П.Л. Шупика. – 2013. – Вип. 22 (4). – С. 347–354.

126. Бевз, Н. Ю. Разработка методики количественного определения фенилэфрина гидрохлорида в таблетках / Н. Ю. Бевз, А. В. Криванич, В. А. Георгиянц // Вестник ЮКГФА. – 2014. – № 3 (68). – С. 11–13.

127. The use of 2,6-dichloroquinone-4-chlorimide for quantitative determination of phenylephrine hydrochloride in combined tablets with paracetamol and chlorpheniramine maleate / О. Kryvanych, N. Bevz, N. Harna, O. Bevz // Ceska and slovenska farmacie journal. – 2015. – № 64. P. 202–227.

128. Abdolraouf Samadi-Maybodi. Simultaneous determination of paracetamol, phenylephrine hydrochloride and chlorpheniramine maleate in pharmaceutical preparations using multivariate calibration 1 / Abdolraouf Samadi-Maybodi, Seyed Karim Hassani Nejad-Darzi // Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. – 2010. – Vol. 75, № 4. – P. 1270–1274.

129. Nevin Erk. Quantitative analysis of chlorpheniramine maleate and phenylephrine hydrochloride in nasal drops by differential-derivative spectrophotometric, zero-crossing first derivative UV spectrophotometric and absorbance ratio methods / Nevin Erk // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 2000. – Vol. 23, № 6. – P. 1023–1031.

130. Shlear H. Hasan. Determination of Phenylephrine-HCl using Conductometric Titration Method / Shlear H. Hasan, Nabeel S. Othman, Kafia M Surchi // Current Analytical Chemistry. – 2016. – Vol. 12, № 6. – P. 1–5.

131. Development and validation of a novel RP-HPLC method for simultaneous determination of paracetamol, phenylephrine hydrochloride, caffeine, cetirizine and nimesulide in tablet formulation / A.P. Dewani, S.M. Dabhade, R.L. Bakal [et.al.] // Arabian Journal of Chemistry. – 2015. – Vol. 8, № 4. – P. 591–598.

132. Validation of a HPLC quantification of acetaminophen, phenylephrine and chlorphenitamine in pharmaceutical formulations: capsules and sachets / A. Marin, E. Garcia, A. Garcia, C. Barbas // J. Pharm. Biomed. Anal. – 2002. – Vol. 29. – P. 701–714.

133. Somsorn Chittrakarn. Quantitative analysis of mitragynine, codeine, caffeine, chlorpheniramine and phenylephrine in a kratom (*Mitragyna speciosa*

Korth.) cocktail using high-performance liquid chromatography / Somsorn Chittrakarn, Pimpimol Penjamras, Niwat Keawpradub // *Forensic Science International*. – 2012. – Vol. 217, № 1–3. – P. 81–86.

134. Determination of active ingredients in cough-cold preparations by micellar liquid chromatography / M. Gil-Agusti, L. Monferrer-Pons, M. C. Garcia-Alvarez-Coque, J. Esteve-Romero // *Talanta*. – 2001. – Vol. 54. – P. 621–630.

135. Simultaneous determination of naphazoline, diphenhydramine and phenylephrine in nasal solutions by capillary electrophoresis / A.F Marchesini, M.R Williner, V.E Mantovani [et. al.] // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. – 2003. – Vol. 31, № 1. – P. 39–46.

136. 2,6-Dichloroquinone chlorimide and 7,7,8,8-tetracyanoquinodimethane reagents for the spectrophotometric determination of salbutamol in pure and dosage forms / G.G. Mohamed, Shaban M. Khalil, M.A. Zayed, M.Abd El-Hamid El-Shall // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. – 2002. – Vol. 28, № 6. – P. 1127–1133.

137. Spectrofluorimetric estimation of salbutamol sulphate in different dosage forms by formation of inclusion complex with β -cyclodextrin / Harshit Narmadashankar Pandya, Hiren Harshadlal Berawala, Deepak Mohanlal Khatri, Priti Jignesh Mehta // *Pharmaceutical Methods*. – 2010. – Vol. 1, № 1. – P. 49–53.

138. Mohammed S.Al-Enizzi. Use of Charge Transfer Complex Formation Reaction in Spectrophotometric Microdetermination of Some Drugs / Mohammed S.Al-Enizzi, Theia'a N. Al-Sabha, Thabit S. Al-Ghabsha // *Jordan Journal of Chemistry*. – 2012. – Vol. 7, № 1. – P. 87–102.

139. Basavaiah K. Rapid titrimetric and spectrophotometric methods for salbutamol sulphate in pharmaceuticals using N-bromosuccinimide / Basavaiah K, Somashekar BC, Ramakrishna V. // *Acta Pharm.* – 2007. – Vol. 57, № 1. – P. 87–98.

140. B. C. Somashekar. Sensitive bromatometric methods for the determination of salbutamol sulphate in pharmaceuticals / B. C. Somashekar, K. Basavaiah // *Journal of Analytical Chemistry*. – 2007. – Vol. 62, № 5. – P. 432–437.

141. Hind Hadi. Developed spectrophotometric determination of salbutamol sulphate in pharmaceutical samples by coupling with o-nitroaniline / Hind Hadi // Iraqi Journal of Science. – 2008. – Vol. 49, № 1. – P. 12–17.

142. Nabeel S. Othman. Diazotised p-Nitroaniline reagent for the determination of trace amounts of salbutamol sulphate in aqueous solution / Nabeel S. Othman, Inaam A. Hamdon // Raf. Jour. Sci. Chemistry. – 2005. – Vol. 16, № 3. – P. 60–67.

143. Isabel Dol. Flow-injection spectrophotometric determination of salbutamol with 4-aminoantipyrine / Isabel Dol, Moisés Knochen // Talanta. – 2004. – Vol. 15, № 5. – P. 1233–1236.

144. Mouayed Q. Al Abachi. Determination of Salbutamol Sulphate in Pharmaceutical Preparations Using Continuous/Stopped Flow Injection Method / Mouayed Q. Al Abachi, Hind Hadi // International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences. – 2012. – Vol. 3, № 3. – P. 1233–1236.

145. Васюк С.О. Спосіб кількісного спектрофотометричного визначення сальбутамолу / Васюк С. О. // Фармац. журн. – 2003. – № 5. – С. 65-68.

146. I.H.I. Habib. Simultaneous spectrophotometric determination of salbutamol and bromhexine in tablets / I.H.I. Habib, M.E.M. Hassouna, G.A. Zaki // Il Farmaco. – 2005. – Vol. 60, № 3. – P. 185–278.

147. H.N. Dave. Simultaneous determination of salbutamol sulphate, bromhexine hydrochloride and etofylline in pharmaceutical formulations with the use of four rapid derivative spectrophotometric methods / H.N. Dave, R.C. Mashru, A.R. Thakkar // Analytica Chimica Acta. – 2007. – Vol. 597, № 1. – P. 113–120.

148. Simultaneous determination of Salbutamol sulphate and doxophylline in tablets by reverse phase liquid chromatography / Deepak Kumar Jain, Pratibha Patel, Abhay Kushwaha [et.al.] // Der Pharmacia Lettre. – 2011. – Vol. 3, № 4. – P. 56–62.

149. Cleber Antonio Lindino. Determination of fenoterol and salbutamol in pharmaceutical formulations by electrogenerated chemiluminescence / Cleber Antonio Lindino, Luís Otávio S. Bulhões // Talanta. – 2007. – Vol. 72, № 5. – P. 1746–1751.

150. Yingxia Wang. Voltammetric behavior of complexation of salbutamol with calf thymus DNA and its analytical application / Yingxia Wang, Yongnian Ni, Serge Kokot // *Analytical Biochemistry*. – 2011. – Vol. 419, № 2. – P. 76–80.
151. Quantitative determination of salbutamol in tablets by multiple-injection capillary zone electrophoresis / Henrik Lodén, Curt Pettersson, Torbjörn Arvidsson, Ahmad Amini // *Journal of Chromatography A*. – 2008. – Vol. 1207, № 1–2. – P. 181–185.
152. Y.M Issa. Conductimetric determination of reproterol HCl and pipazethate HCl and salbutamol sulphate in their pharmaceutical formulations / Y.M Issa, A.F Shoukry, R.M El-Nashar // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. – 2001. – Vol. 26, № 3. – P. 379–386.
153. Державна Фармакопея України. – 1-е вид. – Харків: PIPEГ, 2001. – Доповнення 1. – 2004. – 520 с.
154. British Pharmacopeia. – Her Majesty's Stationery Office. – London, 2013.
155. European Pharmacopoeia. – 8th ed. – Strasbourg, France: Council of Europe, 2013. – 3655 с.
156. Государственная Фармакопея Российской Федерации. – 12-е вид. – М.: Научный центр экспертизы средств медицинского применения, 2008. – 704 с.
157. Japanese Pharmacopoeia 15. – The National Institute of Health Sciences. – 2007.
158. Державна Фармакопея України. – 1-е вид. – Х. : Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр", 2008. – Доповнення 2. – 2008. – 620 с.
159. United States Pharmacopeia. – 32 ed. – Rockville: USP Convention Inc., 2008. – 3577 с.
160. Булатов М. И. Практическое руководство по фотометрическим методам анализа – 5-е изд. / М. И. Булатов, И. П. Калинин – Л.: Химия, 1986. – 432 с.

161. 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.

162. A New Method for the Assay of Bisoprolol Using Bromocresol Green / A. D. Panainte, N. Bibire, G. Tantar, M. Apostu, M. Vieriu, V. Dorneanu // REV. CHIM. (Bucharest) – 2014. – 65(8). – 916-920.

163. S. M. Al-Ghannam. A simple spectrophotometric method for the determination of β -blockers in dosage forms / S.M. Al-Ghannam // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 2006. – Vol. 40. – P. 151–156.

164. Bromocresol green

http://www.hanhonggroup.com/nmr/nmr_en/RE04000075.html

165. Bromocresol purple

http://www.hanhonggroup.com/nmr/nmr_en/RE04000072.html

166. Thymol blue

http://www.molbase.com/en/hnmr_76-61-9-moldata-28714.html#tabs

167. M. A. Zielinska-Pisklak. ^1H and ^{13}C NMR characteristics of β -blockers / M. A. Zielinska-Pisklak, D. M. Pisklak, Iwona Wawer // Magnetic Resonance Chemistry. – 2011. – № 49. – P. 284–290.

168. Bisoprolol and bisoprolol-valsartan compatibility studied by differential scanning calorimetry, nuclear magnetic resonance and X-ray powder diffractometry / M. Skotnicki, J. A. Aguilar, M. Pyda, P. Hodgkinson // Pharm. Res. – 2015. – Vol. 32, № 2. – P. 414-429.

169. Гризодуб О. І. Стандартизованні процедури валідації методик контролю якості лікарських засобів / Гризодуб О. І. – Х.; Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств», 2016. – 396 с.

170. Лебідь Ю. М. Спектрофотометричне визначення сальбутамолу в аерозолі за реакцією з бромкрезоловим зеленим / Лебідь Ю. М. // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики. – 2011. – Вип. XXIV. – № 2. – С. 90–92.

171. Жук Ю. М. Спектрофотометричне визначення бісопрололу за реакцією з тимоловим синім / Жук Ю. М., Васюк С. О., Кейтлін І. М. // Запорізький медичний журнал. – 2012. – Вип. 72. – № 3. – С. 62–64.

172. Жук Ю. Н. Спектрофотометрическое определение метопролола тартрата в таблетках / Жук Ю. Н., Васюк С. А. // Вестник фармации. – 2014. – Вип. 64. – № 2. – С. 64–70.

173. Жук Ю. М. Спектрофотометричне визначення карведілолу в таблетках / Жук Ю. М., Васюк С. О., Верьовкіна І. С. // Фармацевтичний часопис. – 2015. – № 3. – С. 24–27.

174. Zhuk Y. N. Spectrophotometric determination of betaxolol in pure form and pharmaceuticals / Zhuk Y. N., Vasyuk S. O. // The Pharma Innovation. – 2016. – № 5 (6). – P. 31–33

175. Жук Ю. М. Спектрофотометричне визначення соталолу в таблетках / Жук Ю. М., Васюк С. О. // Фармацевтичний журнал. – 2016. – № 1. – С. 49–55.

176. Патент на корисну модель 76557 Україна, МПК G01N 21/78. Спосіб кількісного визначення мезатону в розчині для ін'єкцій / Ю. М. Жук, С. О. Васюк – № u2012 07090 ; заявл. 12.06.12 ; опубл. 10.01.13, Бюл. № 1.

177. Патент на корисну модель 96464 Україна, МПК G01N 21/78. Спосіб спектрофотометричного визначення метопрололу тартрату в таблетках / Ю. М. Жук, С. О. Васюк – № u2014 08570 ; заявл. 28.07.14 ; опубл. 10.02.15, Бюл. № 3.

178. Патент на корисну модель 106404 Україна, МПК G01N 21/78. Спосіб кількісного визначення карведілолу в таблетках / Ю. М. Жук, С. О. Васюк – № u2015 10440 ; заявл. 26.10.15 ; опубл. 25.04.16, Бюл. № 8.

179. Жук Ю. М. Спектрофотометричне визначення сальбутамолу за реакцією з бромкрезоловим зеленим / Жук Ю. М. // Тези доповідей 80-ої ювілейної науково-практичної конференції студентів і молодих вчених за участю міжнародних спеціалістів «Працюємо, творимо, презентуємо», 7-8 квіт. 2011 року. – Івано-Франківськ, 2011. – С. 215.

180. Жук Ю. М. Спектрофотометричне визначення мезатону за реакцією з бромкрезоловим зеленим / Жук Ю. М. // Матеріали 72 Всеукр. наук.-практ.

конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю, присвячена Дню науки «Медицина та фармація ХХІ століття – крок у майбутнє», 19-20 квіт. 2012 року. – Запоріжжя, 2012. – С. 188.

181. Жук Ю. М. Спектрофотометричне визначення метопрололу тартрату / Жук Ю. М., Васюк С. О. // Матеріали І міжнар. інтерн.-конф. «Современные достижения медицинской и фармацевтической науки», 23–25 жовт. 2012 року. – Запоріжжя, 2012. – С. 103.

182. Жук Ю. М. Спектрофотометричне визначення метопрололу в таблетках / Жук Ю. М. // Матеріали І Регіон. наук.-практ. конф. студентів, аспірантів та молодих учених «Актуальні проблеми та перспективи розвитку природничих наук», 15 груд. 2012 року. – Запоріжжя, 2012. – С. 136–137.

183. Портна К. П. Розробка та валідація спектрофотометричних методик кількісного визначення речовин з первинною та вторинною аміногрупами / Портна К. П., Жук Ю.М. // Матеріали Х Міжнародної студентської наукової конференції «Перший крок в науку – 2013», 11-12 квіт. 2013 року. – Вінниця, 2013. – С. 292.

184. Жук Ю. М. Спектрофотометричне визначення деяких β -адреноблокаторів в лікарських формах / Жук Ю. М. // Матер. ХVІІ міжнар. мед. конгресу студ. та мол. вчених, 22-24 квіт. 2013 року. – Т., 2013. – С. 306.

185. Жук Ю. М. Кількісне визначення метопрололу тартрату в таблетках «Корвітол® 50» / Жук Ю. М. // Матер. Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю «Сучасні аспекти медицини та фармації – 2013», присвячена Дню науки, 16-17 трав. 2013 року. – Запоріжжя, 2013. – С.209.

186. Жук Ю. М. Кількісне визначення метопрололу тартрату в таблетках «Корвітол® 100» / Жук Ю. М., Васюк С. О. // Матеріали 5-ї науково-практичної конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів». – 2013. – С. 184-186.

187. Жук Ю. М. Застосування сульфоталеїнових барвників в аналізі бета-адреноблокаторів / Жук Ю. М., Васюк С. О. // Український науково-медичний молодіжний журнал. – 2013. - № 4 (74). – С. 322–323.

188. Жук Ю. М. Кількісне визначення карведілолу / Жук Ю. М., Васюк С. О. // Науково-практична конференція «Сучасні аспекти медицини і фармації Півдня України». – 2013. – С. 123-124.

189. Жук Ю. М. Спектрофотометричне визначення метопрололу в таблетках «Вазокардін 50 мг» / Жук Ю. М. // Тези доповідей II Регіональної науково-практичної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Актуальні проблеми та перспективи розвитку медичних, фармацевтичних та природничих наук – 2013». – 2013. – С. 10.

190. Розробка та валідація спектрофотометричних методик кількісного визначення речовин в лікарських формах на основі взаємодії з сульфоталеїновими барвниками та похідними хінону. / Васюк С.О., Загородній С.Л., Портна К.П., Жук Ю.М. // Матеріали Української науково-практичної конференції, присвяченої 100-річчю з дня народження доктора хімічних наук, професора Павла Олексійовича Петюніна «Проблеми синтезу біологічно активних речовин та створення на їх основі лікарських субстанцій». – 2014. – С. 88.

191. Жук Ю. М. Спектрофотометричне визначення метопрололу в таблетках «Егілок ретард 50 мг» та «Егілок ретард 100 мг» / Жук Ю. М., Васюк С. О. // Сучас. аспекти мед. і фармац. – 2014 : тези доп. 74 Всеукр. наук.-практ. конф. мол. вчених та студ. з міжнар. Участю. – 2014. – С. 171.

192. Жук Ю. М. Кількісне визначення метопрололу тартрату в таблетках «Беталок ЗОК 25 мг» та «Метопролол 100 мг» / Жук Ю. М., Верьовкіна І. С., Васюк С. О. // Сучас. аспекти мед. і фармац. – 2015 : тези доп. Всеукр. наук.-практ. конф. мол. вчених та студ. з міжнар. Участю – 2015. – С. 150-151.

193. Жук Ю. М. кількісне визначення бетаксолу в таблетках / Жук Ю. М., Васюк С. О. // Матеріали II Міжн. наук-практ. інт.-конф. «Аналітична хімія в фармації» – 2016. – С.53–54.

194. Жук Ю. М. Спектрофотометричне визначення небівололу / Жук Ю. М. // Сучас. аспекти мед. і фармац. – 2016 : тези доп. Всеукр. наук.-практ. конф. мол. вчених та студ. з міжнар. участю – 2016. – С. 232.

195. Жук Ю. М. Спосіб кількісного визначення мезатону в розчині для ін'єкцій / Жук Ю. М., Васюк С. О. // Реєстр галузевих нововведень МОЗ України (Реєстр № 173/1/14). – К., 2014. – С. 170

Додаток А

Таблиця А.1

Результати ^1H -ЯМР спектрів досліджуваних β -блокаторів: хімічний зсув (м.ч.), кількість протонів, мультиплітетність, константа спін-спінової взаємодії (J, Гц)

Сполука / номер протону	NH, NH ₂ ⁺	ОН	1	2	3	4	5	6	7	10	8	9	11	12	13	14	15	16	17		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
Атенололу гідрохлорид [166]	7,60 2H	5,90 уш.с.	1,21 д 6	3,10 м	4,12 уш.м.	3,92 м.	6,85 д 8	7,16 д 8	3,07 с	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	8,52 1H																				8,80 уш.с.
Атенолол	7,19 1H	-	1,01 6H д 5,3	3,14 3H м	4,78 1H м	3,84 2H м	6,81 2H д 7,7	7,15 2H д 7,8	3,24 2H с	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1,41 1H																				
Атенолол- БТС	8,47 8,37 2H	6,65 уш.с.	1,26 6H м	3,17 3H м	4,14 1H м	3,94 2H м	6,83 2H м	7,18 2H д 7,7	3,29 2H с	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	7,34 1H																				
Бісопрололу фумарат	-	-	1,15 12H д 16,6; 4,4	3,07 2H м	4,04 2H м	3,90 4H д 12,4; 7,1	6,88 4H д 8,5	7,21 4H д 8,5	4,39 4H с	3,48 8H с	1,09 12H д 6,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Продовж. дод. А

Продовж. табл. А.1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
Бісопрололу фуларат -ТС	8,23 1Н уш.с.	6,54 уш.с.	1,25; 1,57 12Н дд 16,6; 4,4	3,07 2Н М	2,96 4Н М	4,13 2Н М	3,95 4Н дд 9,6; 5,3	6,90 4Н д 8,4	7,23 4Н д 8,2	4,41 4Н с	3,49 8Н с	1,10 12Н д 6,1	3,55 2Н геп. 6,0							
	9,28 8,78 1Н уш.с.	5,81 уш.с.	1,32 6Н т 7,3	2,94 1Н М	2,74 2Н т 6,5	4,26 1Н М	3,95 2Н М	6,84 2Н д 8,0	7,11 2Н д 7,9	3,53 2Н т 6,6	3,14 2Н М	3,22 2Н д 6,4	0,97 1Н М	0,46 2Н М						
Бетаксололу гідрохлорид	8,75 8,41 1Н уш.с.	6,88 уш.с.	1,27 6Н М	2,97 1Н М	2,74 2Н М	4,14 1Н М	3,93 2Н М	6,82 2Н д 7,8	7,11 2Н д 7,8	3,53 2Н М	3,34, 3,11 2Н дм 6,4	3,21 2Н д 6,4	0,97 1Н М	0,46 2Н М						
	9,69 1Н уш.с.	6,07 уш.с.	1,31 6Н т 7,5	3,01 1Н М	2,91 2Н М	5,04 1Н д 8,9		7,22 1Н д 8,0	9,54 1Н М	3,17 3Н уш.с										
Соталолу гідрохлорид	9,67 7,34 1Н уш.с.	7,10 уш.с.	1,27 6Н М	3,02 1Н М	2,91 2Н М	4,94 1Н М		7,22 1Н М	8,91 1Н М	2,91 3Н уш.с										
	11,26 2,01 1Н уш.с.	5,19 уш.с.	3,7 4,0 2 1т 5,2 с	2,94 М	2,89 М	4,17 М		6,86 М	6,92 М	6,69 д 8	7,29 т 8	7,08 д 8	7,46 д 8	7,14 т 8	7,34 т 8				8,2 5 д 8	

Продовж. дод. А

Продовж. табл. А.1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Карведілол	11,06	5,01 уш.с.	3,7 7 3Н с	4,0 4 2Н т 4,6	2,9 8 2Н м	2,89 2Н м	4,17 3Н м	6,92-6,86 4Н м	6,64 1Н д 7,8	7,29 1Н т 7,5	7,05 1Н д 7,9	7,42 1Н д 7,8	7,10 1Н т 7,4	7,25 1Н т 7,9	8,2 2 1Н д 7,5				
	9,69															1,96	1Н	уш.с.	
Карведілол – БКП	11,14	5,93 уш.с.	3,7 4 3Н с	4,2 0 1Н м	3,24 4Н м	4,24 3Н м	6,87 1Н м	6,95 2Н м	6,66 1Н д 7,6	7,27 1Н м	7,02 1Н м	7,43 1Н м	7,07 1Н м	7,27 1Н м	8,2 1 1Н д 7,2				
	8,83															2Н	уш.с.		

Продовж. дод. А

Таблиця А.2

Результати ¹Н-ЯМР спектрів досліджуваних барвників: хімічний зсув (м.ч.), кількість протонів, мультиплетність, константа спин-спінової взаємодії (J, Гц)

Сполука / номер протону	ОН	1'	3'	9'	10'	2'	8'	4'	7'	6'	11'	5'	12'	13'	14'	15'	16'							
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18							
Тимоловий синій [165]	5,35	1,20		3,05		6,82		2,18		7,70		7,74		7,61		7,80								
Тимоловий синій	8,23	0,98	12Н	дд	18,6	6,8	3,04	2Н	гепт	6,61	4Н	с	1,91	6Н	7,06	1Н	7,97							
Бісопрололу фумарат – ТС	5,94	0,98, 0,94	12Н	дд	16,8	6,7	3,08-3,06	2Н	м	6,63	1Н	с	0,83	3Н	с	2,07	3Н	7,07-7,02	1Н	7,64	1Н	7,39-7,35	1Н	7,94-7,90
Бромтимоловий синій	5,45	уш.с.	0,99	12Н	м	3,08	1Н	3,01	1Н	7,02	1Н	с	2,08	3Н	с	1,92	3Н	6,90	1Н	7,44	1Н	7,39	1Н	7,96
Атенолол – БТС	5,76	4,14	уш.с.	1,00	12Н	м	2,98	2Н	м	6,78	1Н	с	2,10	3Н	с	1,81	3Н	6,83	1Н	7,67	1Н	7,34	1Н	7,97
Бромрезоловий зелений [163]	5	уш.с.	-	-	-	-	-	7,42	7,47	-	-	1,93	2,09	6,79	7,49	7,40	7,95							

Додаток Б

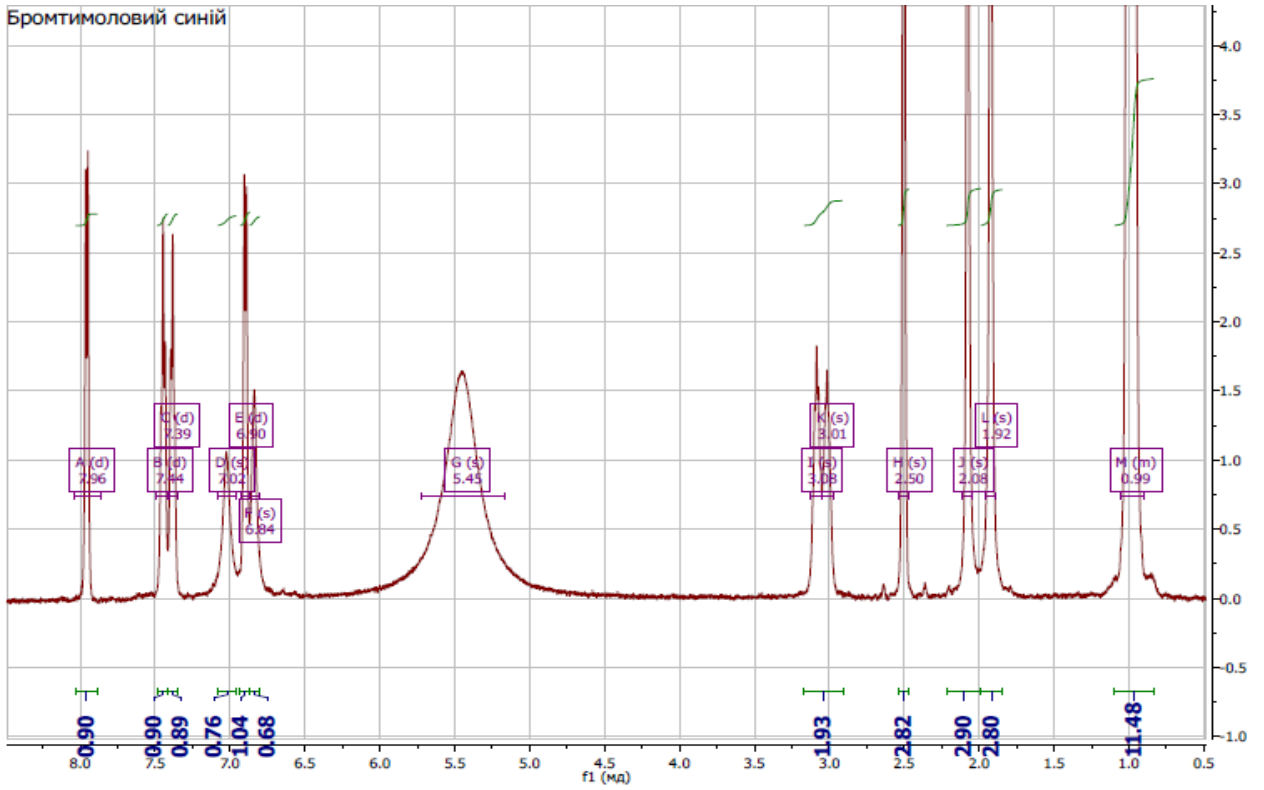


Рис. А.1. ¹H ЯМР-спектр БТС

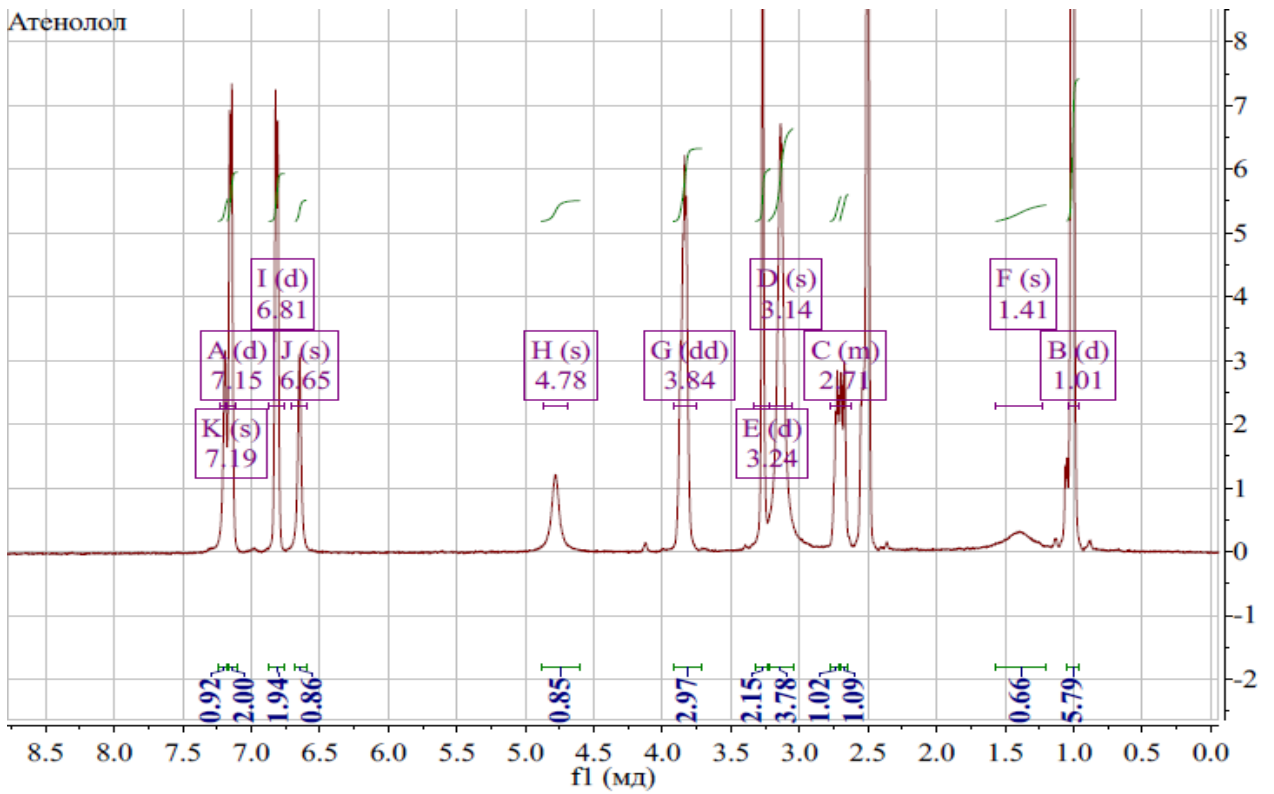
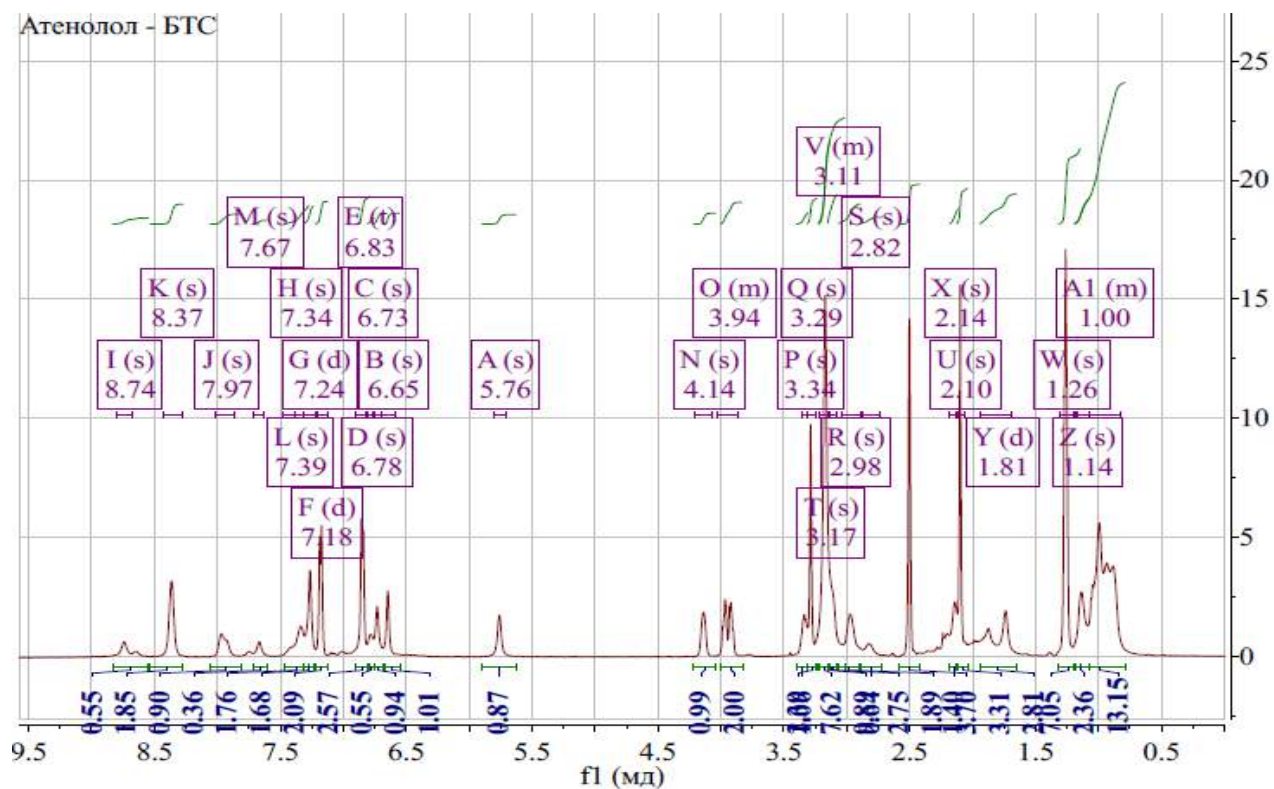
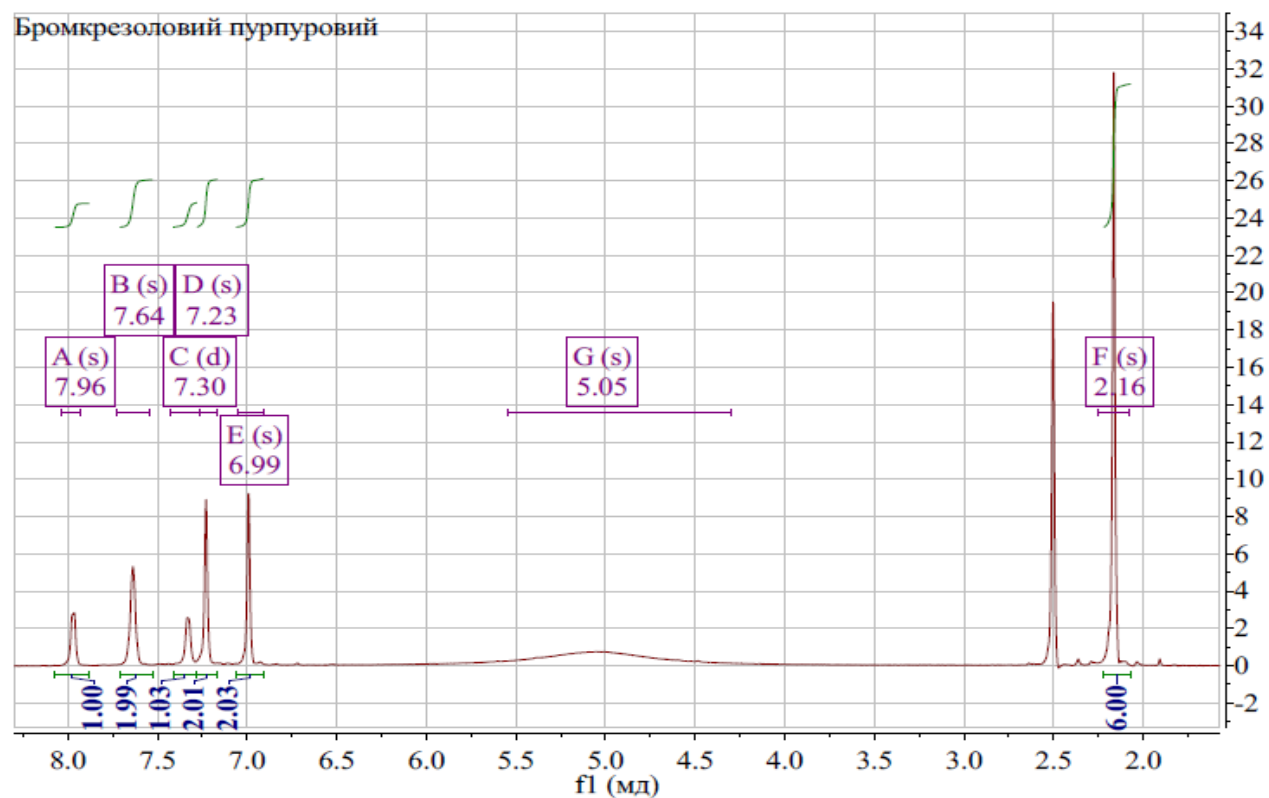
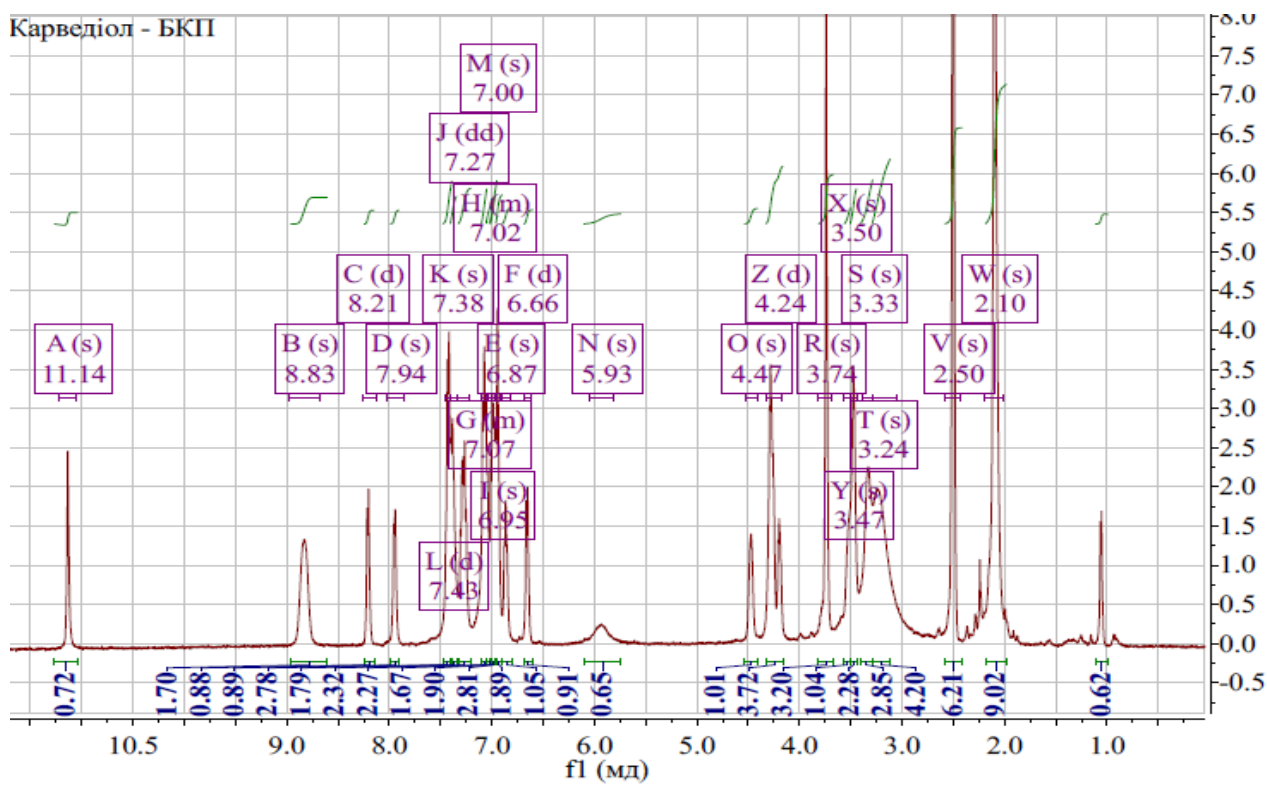


Рис. А.2. ¹H ЯМР-спектр атенололу

Продовж. дод. Б

Рис. А.3. ^1H ЯМР-спектр продукту реакції атенололу з БТСРис. А.4. ^1H ЯМР-спектр БКП

Продовж. дод. Б

Рис. А.5. ^1H ЯМР-спектр карведіолуРис. А.6. ^1H ЯМР-спектр продукту реакції карведіолу з БКП

Додаток В.1



Додаток В.2



Додаток В.3



Додаток Д

«УЗГОДЖЕНО»
 Голова комісії з реорганізації
 Державної служби з лікарських засобів
 у Запорізькій області
 Єрохіна О. В.
 «20» жовтня 2016 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Спектрофотометричне визначення карведілолу в таблетках.
2. **Установа, автор:** Запорізький державний медичний університет, пр. Маяковського, 26, м. Запоріжжя, 69121, Жук Юлія Миколаївна, Васюк Світлана Олександрівна
3. **Джерело інформації:** Жук Ю. М. Спектрофотометричне визначення карведілолу в таблетках / Жук Ю. М., Васюк С. О. // Фармацевтичний часопис. – 2015. – № 3. – С. 24–27.
4. **Впроваджено:** в практичну роботу Державної служби з лікарських засобів у Запорізькій області.
5. **Строки впровадження:** з 20.04.16 р. по 20.08.16 р.
6. **Ефективність впровадження:** розроблений спосіб кількісного визначення карведілолу дозволяє економічно та з достатньо високою точністю встановити його кількісний вміст в таблетках.
7. **Зауваження, додатки:**

Відповідальний за впровадження:

Зав. лабораторії з контролю якості
 лікарських засобів та медичної продукції
 Державної служби з лікарських засобів
 у Запорізькій області

Кейтлін І. М.

Додаток Е.1

Форма N ІВ-6
ЗАТВЕРДЖЕНО
наказом Державного комітету
статистики України
від 10 серпня 2004 р. № 469

Організація
ідентифікаційний код ЄДРПОУ

А К Т
про використання об'єкта права інтелектуальної власності

« 14 » 03 20 13 р.

Назва і номер охоронного документу Патент на корисну модель № 76557

Назва об'єкта права інтелектуальної власності (винаходу, корисної моделі, промислового зразка, компонування інтегральних мікросхем, раціоналізаторської пропозиції)

Спосіб кількісного визначення мезатону в розчині для ін'єкцій

Технічний або інший об'єкт (виріб, технологія виробництва, процес організації виробництва тощо) в якому використано винахід, корисну модель, промисловий зразок, компонування ІМС або раціоналізаторську пропозицію

В науково-педагогічний процес кафедри фармацевтичної хімії ЗДМУ

Дата початку використання « _____ » 20 ____ р.

Проректор з наукових робіт
ЗДМУ




підпис

Туманський В. О.

Члени комісії

зав. каф. фарм. хімії


підпис

Кучеренко Л. І.

доцент каф. фарм. хімії


підпис

Моряк З. Б.

З актом ознайомлено
(винахідник(и), автор(и)):


підпис

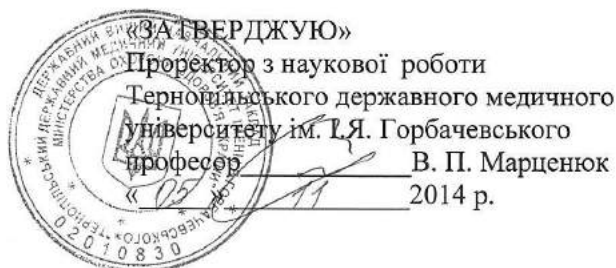
Жук Ю. М.


підпис

Васюк С. О.

« _____ » 20 ____ р.

Додаток Е.2



АКТ

**впровадження результатів наукових досліджень Жук Ю. М.
 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 асистентом Жук Ю. М. розроблені нові способи кількісного визначення салбутамолу (стаття: Лебідь Ю. М. Спектрофотометричне визначення салбутамолу в аерозолі за реакцією з бромкрезоловим зеленим / Лебідь Ю. М. // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики. – 2011. – Вип. XXIV. № 2. – С. 90 – 92.), біспрололу (стаття: Жук Ю. М. Спектрофотометричне визначення біспрололу за реакцією з тимоловим синім / Жук Ю. М., Васюк С. О., Кейтлін І. М. // Запорізький медичний журнал. – 2012. – Вип. 72. - № 3. – С. 62 – 64.), мезатону (патент на корисну модель № 76557) за реакціями з сульфогталеїновими барвниками 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 Е.3

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Проректор з наукової роботи
Національного фармацевтичного
університету
професор  С. М. Коваленко
« 12 » 2013 р.

Акт

**впровадження результатів наукових досліджень Ю. М. Жук в
науково-педагогічний процес кафедри фармацевтичної хімії
Національного фармацевтичного університету**

На кафедрі аналітичної хімії Запорізького державного медичного університету асистентом Жук Ю. М. розроблені нові способи кількісного визначення сальбутамолу (стаття: «Спектрофотометричне визначення сальбутамолу в аерозолі за реакцією з бромкрезоловим зеленим»), бісопрололу (стаття: «Спектрофотометричне визначення бісопрололу за реакцією з тимоловим синім»), мезатону (патент на корисну модель № 76557) на підставі реакцій з сульфофталеїновими барвниками 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. Георгіянци

Додаток Е.4

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Проректор з наукової роботи
 Запорізького державного
 медичного університету
 професор  В.О. Туманський
 2013 р.



АКТ

**впровадження результатів наукових досліджень Жук Ю.М. в
 науково-педагогічний процес кафедри фармацевтичної хімії
 Запорізького державного медичного
 університету**

На кафедрі аналітичної хімії Запорізького державного медичного університету асистентом Жук Ю.М. розроблені нові способи кількісного визначення сальбутамолу (стаття: «Спектрофотометричне визначення сальбутамолу в аерозолі за реакцією з бромкрезоловим зеленим»), бісопрололу (стаття: «Спектрофотометричне визначення бісопрололу за реакцією з тимоловим синім»), мезатону (патент на корисну модель № 76557) на підставі реакцій з сульфоталеїновими барвниками 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.5

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 перший проректор Львівського
 національного медичного університету
 імені Данила Галицького
 чл.-кор. НАМН України, професор
 М.Р. Гжегоцький
 « 17 » 05 2014 р.

АКТ

**впровадження результатів наукових досліджень Ю.М. Жук 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 асистентом Жук Ю. М. розроблені нові способи кількісного визначення сальбутамолу (стаття: Лебідь Ю. М. Спектрофотометричне визначення сальбутамолу в аерозолі за реакцією з бромкрезоловим зеленим / Лебідь Ю. М. // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики. – 2011. – Вип. XXIV. № 2. – С. 90 – 92.), бісопрололу (стаття: Жук Ю. М. Спектрофотометричне визначення бісопрололу за реакцією з тимоловим синім / Жук Ю. М., Васюк С. О., Кейтлін І. М. // Запорізький медичний журнал. – 2012. – Вип. 72. - № 3. – С. 62 – 64.), мезатону (патент на корисну модель № 76557) за реакціями з сульфоталеїновими барвниками 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 студентів.

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

 Р.Б. Лесик

Додаток Е.6



ЗАТВЕРДЖУЮ

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

06. 2016 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Спектрофотометричне визначення карведілолу в таблетках
2. **Установа, автор:** Запорізький державний медичний університет, кафедра аналітичної хімії, Ю. М. Жук, С. О. Васюк.
3. **Джерела інформації:** Фармацевтичний часопис. – 2015. – № 3. – С. 24–27.
4. **Впроваджено:** в педагогічний процес кафедри контролю якості і стандартизації лікарських засобів на циклі інтернатура «Загальна фармація»
5. **Термін впровадження:** 01.03-30.06.2016 р.
6. **Ефективність впровадження:** провізори – інтерни циклу спеціалізації (інтернатури) за спеціальністю «Загальна фармація», випускники різних ВНМЗ України з цікавістю сприйняли новий спектрофотометричний метод визначення карведілолу в таблетках з використанням бромкрезолового пурпурного в якості кольорореагенту.
7. **Зауваження, пропозиції:** включити інформацію у навчання інших циклів, спрямованих на підготовку провізорів-інтернів та провізорів, які відповідають за систему забезпечення якості лікарських засобів.

Відповідальний за впровадження
Завідувач кафедри контролю якості і
стандартизації лікарських засобів,
професор

Ветютнева Наталія Олександрівна
«30» 06 2016 р.

Додаток Ж.1

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-ГІДРОКСИБЕНЗОІЛ)ГІДРАЗОНО)ЕТИЛІО)-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 ВІЯВЛЕННОЇ 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

Додаток Ж.2

13. Запорізький державний медичний університет, 69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26, тел. (0612) 224-64-69.
14. Немає.
15. Каплаушенко А.Г. (0612336197), Парченко В.В. (0612342261), Щербина Р.О. (0612342261), Панасенко О.І. (0612342261), Книш Є.Г. (0612362248), Беленічев І.Ф. (0612342741), Павлов С.В. (0612342741).

Реєстр. № 173/1/14

1. **СПОСІБ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ МЕЗАТОНУ В РОЗЧИНІ ДЛЯ ІН'ЄКЦІЙ.**
2. НДР «Застосування фізико-хімічних методів для аналізу якості лікарських засобів, похідних амінів, азолів та інших», 0111U005857, 2011 – 2015 рр.
3. Фармацевтична хімія та фармакогнозія.
4. 1+, А.
5. Патент на корисну модель № 76557, МПК G01N21/78. Спосіб кількісного визначення мезатону в розчині для ін'єкцій // Промислова власність.-2013.-№ 1.
6. Немає.
7. Мезатон взаємодіє з реагентом у середовищі ацетону, при кімнатній температурі з утворенням забарвленого продукту з максимумом абсорбції при 410 нм, при цьому як реагент застосовують бромкрезоловий зелений.
8. Спрощення методики та тривалості її виконання.
9. Спектрофотометр, ваги електронні аналітичні, ацетон, 1 % розчин бромкрезолового зеленого, піпетки, мірні колби.
10. Для спрощення методики та тривалості її виконання.
11. Немає.
12. Немає.
13. Запорізький державний медичний університет, 69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26, тел. (0612) 224-64-69.
14. Немає.
15. Жук Ю.М. (0612342181), Васюк С.О.

Реєстр. № 174/1/14

1. **СПОСІБ ОТРИМАННЯ ДІАГНОСТИЧНОЇ ГІПЕРІМУННОЇ СИРОВАТКИ КРОВІ ДО МЕТАПНЕВМОВІРУСУ ПТИЦЬ.**
2. НДР «Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості похідних 1,2,4-тріазолу», 0109U003987.
3. Фармація.
4. 2+, С.
5. Патент України на корисну модель № 83752 МПК (2013.01), C07D 249/00, A61K 31/00, A61K 39/00. Спосіб отримання діагностичної гіперімунної сироватки крові до метапневмовірусу в птахівництві // Промислова власність. – 2013. – № 18.
6. Немає.
7. Нова біологічно активна сполука – піперидиний 2-(5-(піридил-4-іл)-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетат, структура якого забезпечує імуномодулюючу активність, завдяки чому зменшується необхідність у додатковому навантаженні тварин антигенами. Синтезовані сполуки можуть бути використані в отриманні нових біологічно активних субстанцій у ряді похідних 1,2,4-тріазолу, які можуть бути застосовані для створення лікарських форм на основі цих сполук для медицини.