

Міністерство охорони здоров'я України  
Запорізький державний медичний університет

На правах рукопису

ЗАГОРОДНІЙ СВЯТОСЛАВ ЛЕОНІДОВИЧ

УДК 543.544+543.422.3]:615.214.074:543.632.56

ЗАСТОСУВАННЯ ХРОМАТОГРАФІЧНИХ ТА СПЕКТРАЛЬНИХ  
МЕТОДІВ ДЛЯ АНАЛІЗУ ПСИХОТРОПНИХ РЕЧОВИН

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

Дисертація на здобуття наукового ступеня  
кандидата фармацевтичних наук

Науковий керівник:  
Васюк Світлана Олександрівна,  
доктор фармацевтичних наук, професор

Запоріжжя – 2015

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ .....	5
ВСТУП .....	6
РОЗДІЛ 1. МЕТОДИ АНАЛІЗУ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН, ЩО ЗНАХОДЯТЬ ЗАСТОСУВАННЯ ПОЗА МЕДИЧНОЮ ПРАКТИКОЮ	14
1.1. Сульфофталеїнові барвники як органічні аналітичні реагенти у спектрофотометричному аналізі лікарських засобів	15
1.2. Методи аналізу лікарських речовин, що знаходять застосування поза медичною практикою .....	27
1.3. Методи аналізу лікарських речовин груп антигістамінних, снодійних засобів та інших, що знаходять застосування поза медичною практикою .....	39
РОЗДІЛ 2. ОБ'ЄКТИ ДОСЛІДЖЕННЯ, РЕАГЕНТИ, РОЗЧИННИКИ ТА ЗАГАЛЬНІ МЕТОДИ АНАЛІЗУ .....	41
2.1. Об'єкти дослідження .....	41
2.2. Реагенти та розчинники .....	45
2.3. Загальні методи аналізу .....	47
РОЗДІЛ 3. ВИВЧЕННЯ ОПТИМАЛЬНИХ УМОВ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНОГО ТА ХРОМАТОГРАФІЧНОГО АНАЛІЗУ ДОСЛІДЖУВАНИХ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН .....	51
3.1. Вивчення оптимальних умов реакцій взаємодії сульфофталеїнових барвників з досліджуваними лікарськими речовинами .....	51
3.2. Вивчення оптимальних умов реакцій взаємодії сульфофталеїнових барвників з мекгідроліном .....	69
3.3. Встановлення чутливості реакцій досліджуваних лікарських речовин з сульфофталеїновими барвниками .....	75
3.4. Визначення стехіометричних співвідношень реагуючих компонентів в реакціях досліджуваних лікарських речовин з сульфофталеїновими барвниками .....	76

3.5. Синтез та ідентифікація продукту взаємодії мебгідроліну з БТС .....	84
3.6. Вивчення оптимальних умов високоефективного рідинного хроматографування досліджуваних лікарських речовин .....	89
ВИСНОВКИ .....	97
РОЗДІЛ 4. РОЗРОБКА МЕТОДИК КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ДОСЛІДЖУВАНИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ .....	99
4.1. Метод визначення вмісту досліджуваних речовин у лікарських препаратах .....	99
4.2. Розробка спектрофотометричних методик кількісного визначення досліджуваних лікарських засобів .....	101
4.2.1 Методика визначення питомого показника поглинання лікарських речовин за їх реакцією з сульфоталеїновими барвниками .....	101
4.2.2 Спектрофотометричні методики кількісного визначення дифенгідраміну гідрохлориду у лікарських формах .....	103
4.2.3 Спектрофотометричні методики кількісного визначення зопіклону у лікарських формах .....	105
4.2.4 Спектрофотометрична методика кількісного визначення мебгідроліну нападизилату у лікарських формах .....	106
4.2.5 Спектрофотометрична методика кількісного визначення тригексифенідилу у лікарських формах .....	107
4.2.6 Спектрофотометрична методика кількісного визначення тіопенталу натрію у лікарських формах .....	108
4.2.7 Спектрофотометрична методика кількісного визначення лоратадину у лікарських формах .....	109
4.2.8 Спектрофотометрична методика кількісного визначення дезлоратадину у лікарських формах .....	110

4.2.9	Спектрофотометрична методика кількісного визначення кетотифену у лікарських формах .....	111
4.3.	Розробка хроматографічних методик кількісного визначення лікарських засобів .....	117
4.3.1	Методика встановлення придатності хроматографічної системи для кількісного визначення досліджуваних речовин .....	117
4.3.2	Хроматографічні методики кількісного визначення дифенгідраміну гідрохлориду у лікарських формах .....	118
4.3.3	Хроматографічні методики кількісного визначення зопіклону у лікарських формах .....	119
	ВИСНОВКИ .....	121
	РОЗДІЛ 5. ВАЛІДАЦІЯ МЕТОДИК КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ДОСЛІДЖУВАНИХ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН .....	123
5.1.	Специфічність .....	124
5.2.	Лінійність .....	131
5.3.	Правильність .....	137
5.4.	Прецизійність .....	145
5.5.	Діапазон застосування .....	149
5.6.	Робасність .....	150
	ВИСНОВКИ .....	151
	ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ .....	153
	СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ .....	155
	ДОДАТКИ .....	184

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

БКЗ	- бромкрезоловий зелений;
БКП	- бромкрезоловий пурпуровий;
БТС	- бромтимоловий синій;
БФС	- бромфеноловий синій;
БФЧ	- бромфеноловий червоний;
ВЕРХ	- високоефективна рідинна хроматографія;
ДМСО	- диметилсульфоксид;
ДМФА	- диметилформаїд;
ДФУ	- Державна Фармакопея України;
ІЧ	- інфрачервоний;
КЧ	- крезоловий червоний;
МКЯ	- методики контролю якості;
РСЗ	- робочій стандартний зразок;
РХ	- рідинна хроматографія;
ТС	- тимоловий синій;
ТШХ	- тонкошарова хроматографія;
УФ	- ультрафіолетовий;
ФСЗ	- фармакопейний стандартний зразок;
ЯМР	- ядерний магнітний резонанс
ВР	- (British Pharmacopoeia) Британська фармакопея;
Ph.Eur.	- (European Pharmacopoeia) Європейська фармакопея
USP	- (United States Pharmacopoeia) Фармакопея США.

## ВСТУП

### **Актуальність теми**

Останнім часом стрімко зростає асортимент лікарських препаратів з груп антигістамінних та снодійних засобів, що мають вплив на центральну нервову систему. У першому випадку це обумовлено тенденцією до підвищення захворюваності людей на алергії різного типу, спричинене забрудненням навколишнього середовища речовинами техногенного походження, особливо у великих промислових містах. У другому випадку необхідність корекції психічної активності пацієнтів виникає через хронічні стресові стани, викликані надмірним перевантаженням людської психіки сучасними професійними видами діяльності. Тому у цих фармакологічних групах активно винаходяться нові діючі речовини, розробляються лікарські форми, збільшується асортимент препаратів-генериків. Вплив лікарських препаратів на центральну нервову систему призводить до виникнення та поширення випадків їх немедичного використання для досягнення психотропного ефекту, потенціювання дії інших психоактивних речовин, а також суїциду.

У цих умовах актуальною залишається проблема вдосконалення існуючих та розробки нових методик кількісного визначення діючих речовин у лікарських препаратах для застосування у лабораторіях відділів технічного контролю фармацевтичних виробництв, регіональних лабораторіях контролю якості ліків та хімічних криміналістичних лабораторіях.

На сьогодні в світі провідну роль в аналізі лікарських засобів відіграють фізико-хімічні методи. Серед спектральних методів вигідно виділяється абсорбційна спектрофотометрія у видимій області спектра з використанням фотометричних реагентів. У зв'язку з цим, постає питання розширення можливостей цього методу через використання нових аналітичних реагентів. У цьому питанні перспективними є сульфофталеїнові барвники, які давно відомі хімічному аналізу як індикатори, але крім цього

здатні утворювати інтенсивно забарвлені продукти з лікарськими речовинами різних хімічних та фармакологічних груп. Це дає можливість використання цих речовин для розробки нових спектрофотометричних методик аналізу лікарських засобів.

Серед хроматографічних методів одними з найпоширеніших є обернено-фазова високоефективна рідинна хроматографія завдяки можливості швидкого розділення компонентів, селективності та широких можливостей до автоматизації аналізу. Хоча вже відомо досить багато ВЕРХ-методик аналізу лікарських речовин, досі актуальним залишається питання їх валідації за вимогами Державної фармакопеї України.

Таким чином, розробка нових та вдосконалення існуючих спектрофотометричних та хроматографічних методик кількісного визначення діючих речовин у складі лікарських препаратів 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 теми «Застосування фізико-хімічних методів в аналізі лікарських речовин, похідних амінів, азолу та інших» (№ держреєстрації 0111U005857). Дисертантом особисто розроблені хроматографічні та спектрофотометричні методики кількісного визначення психотропних та антигістамінних лікарських речовин, похідних амінів, піридину, піримідину, піразину, піперидину та індолу.

### **Мета і задачі дослідження**

Метою дослідження була розробка чутливих, швидких та простих у виконанні валідованих хроматографічних та спектрофотометричних методик визначення лікарських речовин, якими зловживають для досягнення психотропного ефекту, потенціювання дії інших психоактивних речовин, а також суїциду. Для досягнення поставленої мети вирішувались наступні задачі:

✓ провести огляд літературних даних щодо застосування сульффталеїнових барвників у фармацевтичному аналізі, та існуючих методів аналізу лікарських речовин, якими зловживають для досягнення психотропного ефекту, потенціювання дії інших психоактивних речовин, а також суїциду;

✓ встановити оптимальні умови кількісного утворення продуктів реакцій сульффталеїнових барвників з лікарськими речовинами, що знаходять застосування поза медичною практикою, і розрахувати аналітичні показники чутливості реакцій;

✓ встановити коефіцієнти стехіометричних співвідношень «лікарська речовина – реагент», виділити та ідентифікувати продукти реакцій, встановити їх хімічну будову;

✓ встановити оптимальні умови високоефективного рідинного хроматографування лікарських речовин, що знаходять застосування поза медичною практикою, і розрахувати показники придатності хроматографічної системи;

✓ розробити методики кількісного визначення зазначених лікарських речовин у складі лікарських препаратів;

✓ провести валідацію розроблених спектрофотометричних та хромаграфічних методик з метою доведення їх коректності та придатності для виконання запланованих задач.

*Об'єкт дослідження.* Розробка методик спектрофотометричного та хроматографічного визначення лікарських речовин, якими зловживають для досягнення психотропного ефекту, потенціювання дії інших психоактивних речовин, а також суїциду.

*Предмет дослідження.* Кількісний спектрофотометричний аналіз у видимій області спектра, обернено-фазовий високоефективний рідинний хроматографічний аналіз, лікарські речовини.



## **Методи дослідження**

Для розробки нових спектрофотометричних методик кількісного аналізу досліджуваних лікарських речовин застосовували спектрофотометрію у видимій області спектра. Спектри реєстрували за допомогою спектрофотометра SPECORD 200, обробку проводили з використанням програмного пакету WinASPECT 2.2.1.0. Для вивчення хроматографічних методик кількісного аналізу досліджуваних лікарських речовин застосовували високоефективну рідинну хроматографію з УФ-детектором. Хроматографування проводили за допомогою рідинного хроматографа Thermo Spectra System P2000/UV2000, реєстрацію та обробку хроматограм проводили за допомогою програмного пакету МультиХром.  $^1\text{H}$  ЯМР спектри реагентів, досліджуваних речовин та продуктів реакцій записували на спектрометрах VarianMercury 400(400 МГц). ІЧ-спектри ( $4000\text{-}400\text{ см}^{-1}$ ) знімали на модулі ALPHA-T (KBr) спектрометра Bruker ALPHA FT-IR. Хромато-мас-спектри знімалися на високоефективному рідинному хроматографі Agilent 1100 Series з діодно-матричним та мас-селективним детектором Agilent LC/MSD SL. Вимірювання рН розчинів проводилось за допомогою іономіру універсального ЭВ-74. Встановлення температури плавлення проводилось на приладі Stuart SMP30 Melting Point Apparatus. Стехіометричні співвідношення реагуючих речовин встановлювали фотометричними методами: ізомольярних серій, відносного виходу, насичення.

## **Наукова новизна одержаних результатів**

Вперше науково обґрунтовано та експериментально доведено можливість застосування сульфоталейінових барвників в практиці фармацевтичного аналізу для кількісного визначення лікарських речовин групи антигістамінних засобів, снодійних засобів та інших, що знаходять застосування поза медичною практикою.

Вперше встановлено оптимальні умови перебігу реакцій бромтимолового синього з дифенгідраміном, зопіклоном та мебгідроліном, бромкрезолового зеленого з тригексифенідилом, тіопенталом натрію, лоратадином та

дезлоратадином, бромкрезолового пурпурового з кетотифеном, розраховано аналітичні показники чутливості реакцій.

Запропоновано і підтверджено експериментально імовірні хімізми реакцій, для реакцій лікарських речовин групи антигістамінних засобів, снодійних засобів та інших, що знаходять застосування поза медичною практикою, з сульфоталеїновими барвниками, визначено стехіометричні співвідношення учасників цих реакцій, виділено та ідентифіковано продукт реакції бромтимолового синього з мебгідроліном.

Уніфіковано та запропоновано просту та валідовану за вимогами Державної фармакопеї України оберенено-фазову високоефективну рідинну хроматографічну методику кількісного визначення дифенгідраміну та зопіклону в таблетках із застосуванням рухомої фази ацетонітрил:фосфатний буфер (20:80).

Наукова новизна одержаних результатів підтверджена 1 патентом України на корисну модель (дод. В).

### **Практичне значення одержаних результатів**

Розширено можливості кількісного спектрофотометричного аналізу лікарських речовин. Розроблено та валідовано нові, високочутливі, швидкі та прості у виконанні методики кількісного визначення 8 досліджуваних лікарських речовин групи антигістамінних засобів, снодійних засобів та інших, що знаходять застосування поза медичною практикою, у складі 32 лікарських форм промислового виробництва.

Оптимізовано та валідовано за вимогами Державної фармакопеї України методику кількісного визначення дифенгідраміну та зопіклону в таблетках методом ВЕРХ із застосуванням рухомої фази ацетонітрил:фосфатний буфер (20:80), що розширює можливості кількісного аналізу цих речовин у лікарських препаратах.

Розроблені способи кількісного визначення зопіклону та кетотифену впроваджено в роботу лабораторії Державної інспекції з контролю якості лікарських засобів Запорізької області (акти впровадження від 15.08.2015)

(дод. Д, Е), методики кількісного визначення дифенгідраміну і зопіклону методом ВЕРХ впроваджено в роботу відділу спеціальних видів досліджень Науково-дослідного експертно-криміналістичного центру при ГУ МВС України в Запорізькій області (акти впровадження від 15.08.2015) (дод. Ж, З).

Результати досліджень знайшли застосування в науково-педагогічному процесі при викладанні курсу фармацевтичної хімії на кафедрах фармацевтичних факультетів Запорізького державного медичного університету (дод. И, К), Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (дод. Л), Національного фармацевтичного університету (м. Харків) (дод. М), Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського (дод. Н); при викладанні циклу «Сучасні аспекти створення, стандартизації і сертифікації лікарських засобів» на кафедрі контролю якості і стандартизації лікарських засобів Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика (дод. П, Р); при викладанні курсу хімії на кафедрі хімії Запорізького національного університету (дод. С, Т).

### **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 обговорення результатів проведені з науковим керівником.

### **Апробація результатів дисертації**

Основні результати досліджень доповідалися та обговорювалися на Всеукраїнській конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2010» (Запоріжжя, 2010), VII Національному з'їзді фармацевтів України «Фармація України. Погляд у майбутнє» (Харків, 2010), 71-й Всеукраїнській науково-практичній

конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2011» (Запоріжжя, 2011), 72-й Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Медицина і фармація ХХІ століття – крок у майбутнє (Запоріжжя, 2012), I міжнародній інтернет-конференції молодих вчених та студентів «Современные достижения медицинской и фармацевтической науки» (Запоріжжя, 2012), III Всеукраїнській науково-практичній конференції студентів та молодих вчених «Сучасні можливості стоматології» (Луганськ, 2013), XVII міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених (Тернопіль, 2013), II Регіональній науково-практичній конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Актуальні проблеми та перспективи розвитку медичних, фармацевтичних та природничих наук – 2013» (Запоріжжя, 2013), Українській науково-практичній конференції, присвяченій 100-річчю з дня народження доктора хімічних наук П. О. Петюніна «Проблеми синтезу біологічно активних речовин та створення на їх основі лікарських субстанцій» (Харків, 2014), 74-й Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2014» (Запоріжжя, 2014), III Регіональній науково-практичній конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Актуальні проблеми та перспективи розвитку медичних, фармацевтичних та природничих наук – 2014» (Запоріжжя, 2014), Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Аналітична хімія у фармації» (Харків, 2015), Міжнародній науково-практичній конференції «Медична наука та практика на сучасному історичному етапі» (Київ, 2015), XXXII Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, 2015), 55-й науковій конференції студентів і молодих вчених Західно-Казахстанського державного медичного університету імені Марата Оспанова з міжнародною участю (Актобе, 2015), Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю

«Сучасні аспекти медицини і фармації – 2015» (Запоріжжя, 2015), науково-практичній конференції «Здобутки клінічної та експериментальної медицини» (Тернопіль, 2015).

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

### **Публікації**

За результатами дисертаційних досліджень опубліковано 20 наукова робота, у тому числі 7 статей (5 статей у наукових фахових виданнях України, 2 статті у виданнях іноземних держав), 6 з яких включені до міжнародних наукометричних баз, 1 патент України на корисну модель, 12 тез доповідей.

РОЗДІЛ 1  
МЕТОДИ АНАЛІЗУ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН, ЩО ЗНАХОДЯТЬ  
ЗАСТОСУВАННЯ ПОЗА МЕДИЧНОЮ ПРАКТИКОЮ  
(ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Спектрофотометричний аналіз у видимій області спектра ґрунтується на здатності аналізованих речовин утворювати забарвлені сполуки при взаємодії з відповідними аналітичними реагентами. Широка розповсюдженість та висока популярність даного методу обумовлені високою точністю вимірів, достатньою специфічністю, порівняною легкістю у виконанні, а також відносно невисокою вартістю обладнання, яким оснащені більшість лабораторій з контролю якості лікарських засобів. Таким чином, з метою підвищення точності, експресності та здешевлення кількісного визначення лікарських препаратів, необхідним і актуальним на сучасному етапі розвитку фармацевтичного аналізу є пошук специфічних та чутливих кольорореагентів. Серед численних органічних реагентів вигідно виділяються сульфофталеїнові барвники, що здатні утворювати забарвлені продукти в реакціях з багатьма лікарськими речовинами і можуть бути застосовані для створення на цій основі методик фотометричного аналізу.

Першочерговою задачею для ефективної роботи зі створення нових способів кількісного фотометричного аналізу є пошук і опрацювання інформаційних даних щодо існуючих сульфофталеїнових реагентів, їх фізико-хімічних властивостей, оцінки їх реакційної здатності, селективності, чутливості, а також доступності та економічної доцільності використання в аналітичних лабораторіях. Крім того, для вдосконалення контролю якості лікарських препаратів, аналіз інформації про існуючі методи кількісного аналізу обраних для дослідження діючих речовин представляється не менш важливим.

## 1.1 Сульфофталеїнові барвники як органічні аналітичні реагенти у спектрофотометричному аналізі лікарських засобів

Сульфофталеїнові барвники – це 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.

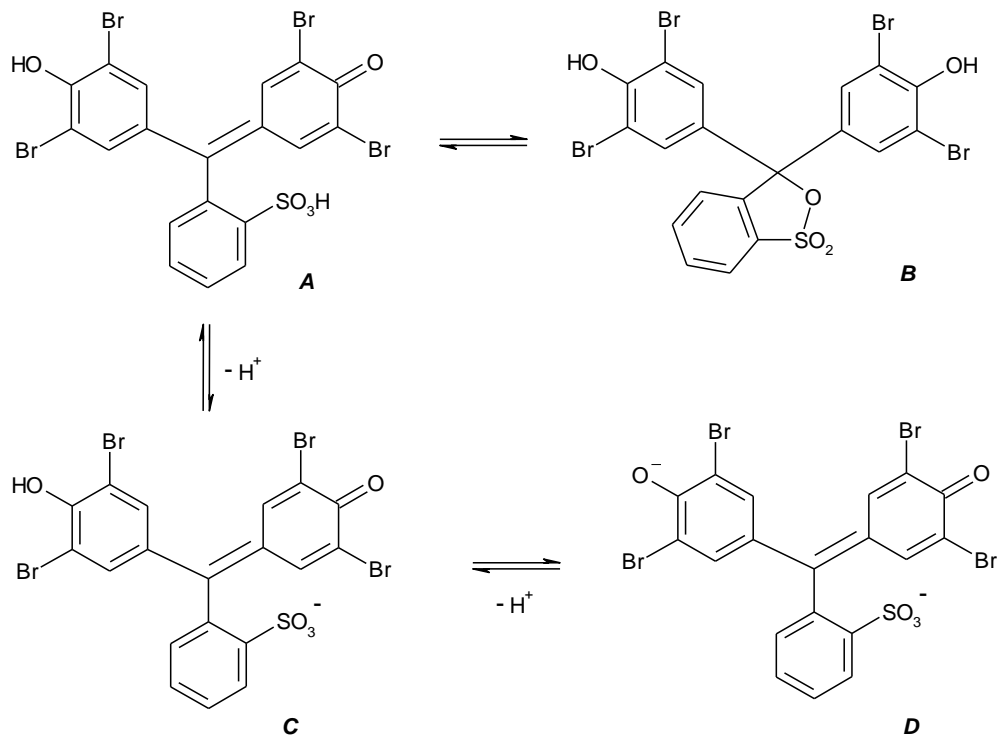


Рис. 1.1. Таутомерні форми бромфенолового синього: А – хіноїдна, В – сульфонова, С та D – дисоційовані хіноїдні форми барвника

Останнім часом дана група речовин все частіше ефективно використовується у кількісному спектрофотометричному аналізі лікарських препаратів. Це обумовлено наявністю в молекулах сульфофталеїнових 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. Результатом такої взаємодії є утворення забарвлених сполук – іонних асоціатів, що можливо покласти в основу розробки спектрофотометричних методик кількісного визначення лікарських речовин за поглинанням у видимій ділянці спектра.

Аналізуючи літературу можна відмітити, що більшість спектрофотометричних методик, розроблених із застосуванням в якості кольорореагентів сульфоталейнових барвників, включають процедуру екстракції забарвлених продуктів реакцій за допомогою органічних розчинників.

Наприклад, для кількісного аналізу каберголіну та ропінеролу гідрохлориду – допамінергічних засобів протипаркінсонічної дії, в їх лікарських засобах були використані БКЗ та БФС. Взаємодія досліджених лікарських речовин з реагентами відбувалась у буферних розчинах з рН 3,5 та 4,0. Автори вважають, що в кислому середовищі відбувається дисоціація використаних реагентів за першим ступенем з утворенням аніонної форми барвника жовтого кольору, що реагує з лікарськими речовинами, утворюючи іонний асоціат. Надалі продукт реакції екстрагували дихлорметаном. Оптичну густину отриманого продукту вимірювали за довжини хвилі 413 нм для каберголіну і 410 нм для ропінеролу – в реакціях з БФС, та 412 нм – у випадку реакцій обох речовин з БКЗ. Вчені експериментально показали, що використання саме дихлорметану забезпечує кількісну екстракцію та стабільність продуктів реакцій при кімнатній температурі протягом 24 год. Також вплив рН і встановлення його оптимального значення для перебігу реакцій досліджували за допомогою екстракції утворених сполук за присутності фталатних буферних систем. Крім того, в ході роботи були встановлені стехіометричні співвідношення реагент-досліджувана речовина для кожного іонного асоціату, які в усіх випадках становили 1:1 [2].

Відомою є також методика кількісного визначення енрофлоксацину та пефлоксацину – антибіотиків фторхінолонового ряду, 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. Запропонований спосіб також включає в себе стадію екстракції хлороформом на завершальному етапі аналізу. 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. Крім того, автори виявили, що екстракція хлороформом забарвленого продукту взаємодії досліджених фторхінолонів з БФС дозволяє виключити вплив допоміжних речовин на перебіг реакції. Таким чином, можливість кількісного аналізу зазначених антибіотиків в присутності допоміжних речовин є перевагою методики незважаючи на значну тривалість її виконання [3].

В літературі описано визначення пефлоксацину в таких лікарських формах, як таблетки та ін'єкційні розчини, що засноване на зворотній екстракції БФС після його взаємодії з даним фторхінолоном. Розробники пропонують проводити реакцію пефлоксацину з сульфоталеїновим реагентом в середовищі буферного розчину з рН 3,0, утворений іонний асоціат екстрагувати за допомогою хлороформу, отриманий екстракт відділяти та струшувати з водним буферним розчином з 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. Незважаючи на доведену авторами відтворюваність запропонованої методики, вона обтяжена багатостадійністю та складністю у виконанні [4].

Єгипетські вчені з Benha University та Zagazig University для аналізу кількісного вмісту у таблетках ще одного фторхінолону – 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 із значеннями рН 3,0–3,4 використані сульффталеїни існують у аніонній формі, а досліджувана лікарська речовина – у протонаній. Це створює умови до виникнення між цими молекулами іонних асоціатів. В ході проведених експериментів дослідники визначили стехіометричні співвідношення речовин в продуктах реакцій як 1:1 [5].

Також відомі методики спектрофотометричного кількісного аналізу широкого кола інших похідних фторхінолону із застосуванням сульффталеїнових барвників. Наприклад, вчені Ashour S. та Al-Khalil R. з Aleppo University (Syria) пропонують проводити кількісне визначення антибіотику левофлорсацину в таблетках, вимірюючи оптичну густину забарвлених іонних асоціатів, утворених з БФС за довжини хвилі 424 нм, або з БКЗ, використовуючи аналітичну довжину хвилі 428 нм. Авторами експериментально доведено високу чутливість запропонованих методик. Слід відмітити, що стехіометричні співвідношення реагуючих левофлорсацину та БФС встановили на рівні 1:1, а для левофлорсацину та БКЗ – 1:2 [6]. Також в літературі описаний спосіб кількісного аналізу таблеток спарфлорсацину, оснований на реакції з БТС [7], а вчені Suslu I. та Tamer A. (University of Hacettepe, Turkey) застосували екстрактивну спектрофотометрію для визначення еноксацину в таблетках за оптичною густиною асоціатів з БФС і БКП [8]. Схожі методики аналізу існують також для таких похідних фторхінолону, як офлорсацину та ломефлорсацину у складі лікарських форм для внутрішнього застосування, у яких використовуються реакції взаємодії з тими самими сульффталеїнами – БФС, БТС та БКП [9].

У фармацевтичному аналізі відомі досить численні способи визначення препаратів антидепресантів за допомогою екстрактивної спектрофотометрії. 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. На наступному етапі

вчені пропонують екстрагувати утворені продукти хлороформом та вимірювати їх оптичну густина. Розробники в якості переваги запропонованої методики вказують на можливість її застосування для визначення досліджуваної речовини не тільки в лікарських формах, а і в різних біологічних рідинах організму – сироватці та плазмі крові, сечі [10].

Описані у літературі способи визначення таких досить поширених в психіатричній практиці антидепресантів – інгібіторів зворотного захвату серотоніну як сертралін, флуоксетин та венлафаксин. Автори стверджують, що через те, що ці речовини мають в своїй структурі основні центри з надлишком електронної густини, вони здатні утворювати з деякими сульффталеїновими барвниками у кислому буферному середовищі іон-парні сполуки, розчинні у хлороформі. Дослідники у даній роботі встановили, що розраховані валідаційні характеристики розробленої ними методики статистично незначуще відрізнялися від референтного хроматографічного методу аналізу. Безперечна перевага описаного способу полягає у тому, що допоміжні речовини, що входили до складу досліджуваних лікарських форм абсолютно не впливали на результати вимірювань [11].

Для розробки способів кількісного аналізу тразодону гідрохлориду Sudhir Kumar R. (India) з 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 стехіометричне співвідношення реагуючих компонентів становило 1:1 для обох продуктів реакцій [12].

Вченими з Istanbul University (Turkey) запропоновано три спектрофотометричні методики встановлення кількісного вмісту пароксетину гідрохлориду в таблетках, основані на реакціях даної речовини з деякими сульффталеїнами [13]. Опублікована також робота вчених Cairo University (Giza, Egypt), у якій для визначення тразодону, амінептину і амітриптиліну у лікарських формах застосовано БКЗ [14].

Al Kaf1 A. та Gouda A. A. вивчили оптимальні умови взаємодії тадалафілу з БКЗ, в результаті чого встановили, що між цими сполуками у водно-метанольному середовищі при рН 3,5 формується іонний асоціат, який добре екстрагується хлороформом. Отриманий екстракт має максимум поглинання за довжини хвилі 410 нм [15].

Турецький дослідник Sevgi Tatar Ulu з Istanbul University запропонував застосовувати сульфоталеїни у трьох високочутливих екстрактивних методиках кількісного визначення протипухлинного препарату фінастериду в таблетках. Розроблені ним 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 [16].

В літературі описане дослідження, авторами якого на основі взаємодії алфузозіну гідрохлориду з трьома сульфоталеїновими барвниками – БКП, БФС, БТС – було запропоновано методики його кількісного в лікарських формах. Дослідники припускають, що атом азоту третинної аміногрупи в молекулі досліджуваної речовини протонується в кислому середовищі. Сульфоталеїни ж в даних умовах знаходяться в хіноїдній формі, дисоційованій за першим ступенем, внаслідок чого здатні вступати в реакцію з алфузозіном з утворенням іонних асоціатів. В ході роботи було встановлено що оптимальним значенням рН використовуваних буферних розчинів є 2,2, 2,4 та 2,6, оскільки у цих випадках спостерігалися максимальні величини абсорбції хлороформних екстрактів продуктів реакції. Крім того, доведено відсутність впливу на результати аналізу допоміжних речовин лікарських форм [17].

В роботі [18] для кількісного аналізу блокатора кальцієвих каналів – лерканідипіну в лікарських формах була використана його взаємодія 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. В ході роботи підбрано оптимальний екстрагент, виходячи з максимальної величини абсорбції екстрактів. Таким чином, встановлено, що в запропонованих методиках дихлорметан, 1,2-дихлоретан та хлороформ можна застосувати в якості екстрагентів. Але дослідження показали, що хлороформ має значно меншу екстракційну здатність відносно використаного реагенту та дещо більшу – відносно продуктів реакцій.

Rahman N. зі співавторами провели цікаву роботу із застосуванням сульфогфталейнів для визначення у складі лікарських форм ніфедипіну. Особливістю їх розробки є те, що на початку визначення проводять відновлення нітрогрупи в молекулі лікарської речовини до первинної аміногрупи під дією цинкового пилю у хлористоводневій кислоті. Надалі аміногрупа протонується в кислому середовищі і стає можливим утворення забарвлених іонних асоціатів з сульфогфталейновими барвниками. Як і в попередніх випадках, продукти реакції кількісно екстрагують хлороформом і вимірюють абсорбцію за аналітичної довжини хвилі 415 нм [19].

Ті ж автори у іншій роботі повідомляють про результати визначення ділтіазему 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 чутливість аналітичних реакцій зростала у ряді БТС – БКЗ – БФС. Встановлене експериментально стехіометричне співвідношення реагент–ділтіазем визначене як 1:1 [20].

Значна кількість досліджень присвячена використанню сульфогфталейнових барвників для розробки методик екстрактивного спектрофотометричного кількісного аналізу лікарських речовин групи антигістамінних препаратів. Наприклад, повідомляється про роботу, у 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. Надалі утворені

комплекси екстрагувались хлороформом та вимірювалась їх оптична густина за довжини хвилі 405 нм у всіх випадках. Дослідники встановили оптимальні умови реакцій та вираховали валідаційні характеристики запропонованих методик, за якими вони не поступаються іншим, описаним у літературі [21].

Вчені з Karnatak University (India) провели аналогічні дослідження для цетиризину гідрохлориду. Виявилось, що у кислому середовищі він утворює іонні асоціати з БКП або БФС, здатні добре екстрагуватись хлороформом. Максимуми поглинання отриманих екстрактів знаходяться у довжинах хвиль 409 та 414 відповідно. Автори вивчили вплив різних факторів на оптичну густина продуктів реакції та встановили підпорядкованість закону Бера у широкому діапазоні концентрацій [22].

Ще одна робота з екстрактивної спектрофотометрії у видимій області спектра із застосуванням сульфогфталейнів була проведена Azza A. Gazy з співавторами. У ній чотири антигістамінних речовини – фексофенадін, цетиризин, лоратадин та акривастин у субстанціях та лікарських формах визначаються за реакцією утворення асоціатів з БКП з наступною переекстракцією у хлороформ. Дослідниками ґрунтовно вивчено оптимальні умови проведення цих реакцій [23].

У своїх дослідженнях [24] для кількісного аналізу дифенгідраміну гідрохлориду тайландські вчені використали проточно-ін'єкційну спектрофотометрію. В основі їх методики лежить реакція утворення іонного асоціату досліджуваної речовини з БКЗ у середовищі буферу 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.

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. Для моделювання процесів деградації препарату, його окислювали перманганатом калію у лужному середовищі до двох продуктів – 4-гідрокси-4-хлорфеніл-піперідину та *N,N*-диметилформахід- $\alpha,\alpha$ -дифенілової кислоти. Склад отриманої суміші та відсутність у ній лопераміду контролювали методом ВЕРХ. Потім додавали отримані продукти до розчину досліджуваної лікарської речовини та аналізували за запропонованими методиками. В результаті не було виявлено взаємодії продуктів деградації з обраними реагентами, що свідчило про високу специфічність запропонованих методик [25].

У роботі [26] встановлено, що похідне бігуанідину – хлоргексидин, який містить в своїй структурі вторинну аміногрупу, також здатен реагувати з сульфоталеїновими барвниками. Експериментами авторів встановлено, що оптимальним екстрагентом для продуктів їх взаємодії є хлороформ, а БФС забезпечує найбільшу оптичну густину фотометрованого розчину. Дана методика була успішно застосована для встановлення кількісного вмісту хлоргексидину у стоматологічних лікарських формах.

Erk N. з Ankara University (Turkey) розроблений спосіб кількісного спектрофотометричного визначення індивідууму в субстанції та лікарських формах за реакціями з БКП та БТС [27].

Для кількісного визначення гіосцину бутилброміду та фамцикловіру вчені з Zagazig University (Egypt) розробили ряд екстрактивних методик аналізу, у яких в якості кольорореагентів було застосовано кілька сульфоталеїнових барвників. Оптимальними екстрагентами забарвлених продуктів реакції між досліджуваними речовинами та реагентами після проведення дослідження було обрано хлороформ та дихлорметан. Також в ході експерименту встановлено, що чутливість реакції при взаємодії

реагентів з гіосцином зростала у ряді БФС – БКЗ – БТС – БКП, а з фамцикловіру – у ряді БФС – БКЗ – БКП – БТС [28].

Автори роботи [29] для аналізу кількісного вмісту препаратів етидокаїну використали БКЗ, який у буферному розчині з рН 4,6 взаємодіяв з досліджуваною речовиною з утворенням забарвленого продукту жовтого кольору, що добре екстрагувався хлороформом і мав максимум поглинання за довжини хвилі 410 нм. Завдяки обробці отриманого екстракту 30% розчином триетаноламіну в 95% етанолі створювалось лужне середовище, в результаті розчин набував синього забарвлення з максимумом поглинання за довжини хвилі 625 нм, а значення оптичної густини у порівнянні з непідлуженим екстрактом значно зростали.

У літературі описана ще певна кількість екстрактивних спектрофотометричних методик, у яких лікарські речовини різних хімічних та фармакологічних груп кількісно визначають за забарвленими іонними асоціатами, утвореними з сульффталеїновими барвниками [30–36].

Наведені вище дані свідчать, що попри свої незаперечні переваги, наведені методики досить тривалі у виконанні та обтяжені труднощами, пов'язаними зі стадією екстрагування, розділення, можливим утворенням емульсій, що в свою чергу може привести до зниження відтворюваності результатів аналізів. Таких недоліків позбавлені спектрофотометричні методи, що також у свої основі мають здатність сульффталеїнових барвників до формування іонних асоціатів з лікарськими речовинами, але не передбачають стадію екстракції, тобто аналітична реакція проводиться безпосередньо в середовищі органічних розчинників.

Так, вчені з Karnatak University (India), для спектрофотометричного аналізу селективного бета-блокатору ацебутололу успішно застосували два сульффталеїнових 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. На думку авторів, утворення



таких продуктів можливе завдяки основним властивостям ацебутололу, який реагує з хіноїдними формами сульффталеїнових барвників. Дослідження специфічності методики відносно таких речовин, як тальк, лактоза, крохмаль, магнію стеарат, довели, що допоміжні речовини, не мають істотного впливу на перебіг реакції [37].

Shaoru Liu зі співавторами запропоновано кілька методик кількісного визначення вітаміну В<sub>1</sub>, у яких в якості реагентів застосовані сульффталеїнові барвники без стадії екстракції. Оптимізувати умови аналізу у цьому випадку дозволило застосування солубілізуючих агентів – полівінілового спирту, емульгаторів ОР, Triton X-100 та Твіну-80. Вони значно підвищують розчинність забарвленого продукту аналітичної реакції у воді [38].

El-Yazbi F. A. зі співавторами дослідили оптимальні умови перебігу реакції нізатидіну з БКП безпосередньо в органічному розчиннику і зробили висновок про можливість її застосування для кількісного аналізу препаратів цієї лікарської речовини. Експериментально доведена висока точність запропонованої методики [39]. Onal A. у своїй роботі [40] для кількісного аналізу антидіабетичних лікарських речовин – розіглітазону та метформіну запропонував дві прямі спектрофотометричні методики, основані на утворенні іонних асоціатів з БКЗ.

Також існує спосіб спектрофотометричного визначення карведілолу за допомогою реакцій утворення іонних асоціатів з БТС і БКЗ. Реакції швидко відбувалися у хлороформі при кімнатній температурі, а забарвлені продукти мають максимуми поглинання при 411 нм та 414 нм відповідно. Аналіз позбавлений незручної стадії екстракції. Методики успішно застосовані до лікарських форм карведілолу, таких як таблетки і капсули [41]. Крім цього вченим вдалося розробити методики кількісного аналізу інших бета-блокаторів, а саме, атенололу, тимололу і надололу, що також реагують з сульффталеїнами у хлороформному середовищі з утворенням іонних асоціатів з максимумами поглинання за довжини хвилі 415 нм [42].

Описані в літературі методики доводять можливість використання сульфоталеїнових барвників в якості кольорореагентів для кількісного визначення деяких лікарських речовин, що мають у своїх молекулах піперазиновий цикл [43]. Наприклад, для одного з найпоширеніших представників цієї групи – циннаризину описані методики спектрофотометричного аналізу з використанням у якості реагентів БКЗ, БКП та БФС. Ці методики, запропоновані Abdine H. зі співавторами, засновані на його здатності утворювати іон-парні асоціати з сульфоталеїновими барвниками, були успішно застосовані для кількісного визначення циннаризину у лікарських формах [44].

Чимала кількість аналітичних методик із застосуванням сульфоталеїнів створена в стінах Запорізького державного медичного університету. Бурлака Ю. В. з колегами використали ці речовини для аналізу деяких протигрибкових препаратів, вивчили оптимальні умови перебігу фотометричних реакцій, встановили, що оптимальним розчинником для взаємодії флуконазолу з БТС, міконазолу та кетоконазолу з БКЗ, клотримазолу з БКП є хлороформ, а для реакції тербінафіну з БКЗ оптимальним є ацетон. Виділені продукти реакцій та встановлено їх будову [45, 46, 49]. Також ці автори провели експерименти з цефалоспориновими антибіотиками і встановили, що вони реагують з сульфоталеїнами у ацетоні [47–49]. Розраховані відкривальні мінімуми за цими реакціями становили 1,10 – 2,24 мкг/мл для цефалоспоринових антибіотиків та 0,680 – 2,76 мкг/мл – для протигрибкових препаратів. На базі отриманих даних авторами розроблені методики кількісного визначення досліджених речовин та успішна проведена процедура їх валідації за вимогами ДФУ.

Жук Ю. М. вивчила можливість використання сульфоталеїнів для аналізу  $\beta$ -адреноблокаторів. В результаті встановлено, що оптимальним реагентом для метапрололу є БКП у ацетоні, а для бісопрололу – ТС у середовищі хлороформу. Абсорбцію забарвлених розчинів вимірюють за 399 нм та 420 нм відповідно [50–51]. Крім того, автором була розроблена

методика кількісного аналізу сальбутамолу в інгаляційних формах за основі його взаємодії з 0,3 % розчином БКЗ у ацетоні. У цьому випадку максимум поглинання спостерігався за 413 нм [52]. Показана висока чутливість цих реакцій. Розроблені методики кількісного аналізу аналізованих речовин у лікарських формах. Розраховані у кожному випадку такі характеристики, як лінійність, прецизійність та правильність свідчать про відповідність вимогам ДФУ.

Аналіз літературних даних свідчить, що більшість досліджень, пов'язаних із застосуванням сульфоталеїнових 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 відмітити, що недостатньо вивчена можливість використання даної групи реагентів в аналізі антигістамінних, снодійних препаратів та лікарських речовин деяких інших фармакологічних груп що знаходять немедичне застосування та випадки зловживання якими поширюються останнім часом. Таким чином перспективним напрямком досліджень в галузі фармацевтичного аналізу є застосування сульфоталеїнових барвників для розробки нових методик кількісного визначення лікарських речовин, що знаходять застосування поза медичною практикою. З точки зору простоти виконання та експресності аналізу, незаперечною перевагою спектрофотометричної методики є відсутність стадії екстракції в техніці виконання експерименту.

## 1.2 Методи аналізу лікарських речовин, що знаходять застосування поза медичною практикою

Дифенгідраміну гідрохлорид – антигістамінний препарат першого покоління, крім вираженого терапевтичного ефекту, має сильний вплив на центральну нервову систему, належить до групи етаноламінів. Досить давно і

широко використовується в медичній практиці та з метою зловживання. Тому в літературі описана велика кількість методик його аналізу.

Так, дифенгідрамін визначають у лікарських формах спектрофотометрією у видимій області спектра за його комплексом з 2,3-дихлор-5,6-диціанбензохіноном [53]. Для аналізу дифенгідраміну в комбінованих назальних краплях застосовували похідну спектрофотометрію в УФ-області [54]. Вище вже згадувалась методика, заснована на проточно-ін'єкційній спектрофотометрії [24].

Описано також метод прямої УФ-спектрофотометрії за іон-парними комплексами з різними реагентами. Так автори [55] використали в якості реагентів патентований синій, еріохром чорний Т, метиловий оранжевий та БКП у дихлорметановому розчині, які давали максимуми поглинання за довжин хвиль 632, 514, 428 та 414 нм відповідно.

Відомі екстрактивні спектрофотометричні способи визначення дифенгідраміну за іонними асоціатами з тіоціаномолібдатом, що екстрагують до метиленхлориду та спектрофотометрують при 470 нм, а також з алізарином червоним С, що екстрагують до хлороформу і спектрофотометрують при 425 нм [56]. К. Basavaiah та V. S. Charan запропонували визначати дифенгідраміну гідрохлорид за хлорид-іоном, який витісняє дифенілкарбазон з його комплексу з ртуттю (II). Оптичну густину розчину дифенілкарбазону вимірюють за 540 нм [57].

Існують дані про використання ІЧ-спектроскопії у ближній області спектра для аналізу дифенгідраміну у твердих лікарських формах з парацетамолом [58] і у розчині [59]. Кількісне визначення цієї речовини проводили єгипетські вчені, застосовуючи метод атомно-абсорбційної спектрофотометрії [60].

Широко застосовується для аналізу дифенгідраміну у лікарських формах та біологічних рідинах метод ВЕРХ з використанням різноманітних рухомих фаз. Наприклад, пропонується ацетонітрил:(0,01 фосфорна кислота з триетиламіном, рН 2,8) (22:78) [61], метанол:(розчин амонію ацетату,

фосфорної кислоти та триетиламіну, рН 5,2) (95:5) [62], ацетонітрил:(фосфатний буфер з 0,2% триетиламіну, рН 3,0) (30:70) [63], ацетонітрил:(форміатний буфер, рН 3) (5:95) [64], метанол:вода:мурашина кислота (65:35:0,5) [65].

Відомі також методики кількісного визначення дифенгідраміну, засновані на методі капілярного електрофорезу. Так, деякі автори застосовують його до комбінованих протизастудних сиропів [66–68], інші – для назальних крапель [69]. А китайські вчені Jifeng Liu з співавторами аналізували цим методом біологічні рідини пацієнтів [70].

В роботі [71] запропоновано потенціометричну методику визначення дифенгідраміну в субстанції, лікарських формах та біологічних рідинах.

Зопіклон – снодійний лікарський засіб, що належить до похідних піролопіразину і впливає на бензодіазепінові рецептори головного мозку. Відсутність впливу на периферичні рецептори та виражений снодійний ефект зумовили його високу популярність у медичній практиці, а також поширення випадків зловживання ним.

Аналіз літератури показав, що спектральні методи аналізу досить обмежено використовуються для кількісного визначення зопіклону і серед них провідне місце займає спектрофотометрія в УФ-області. Так, описано кілька методик контролю якості лікарських засобів, одна з яких заснована на двохвильовому спектрофотометричному аналізі зразку при 252 нм та 301 нм. Інша для кількісного аналізу використовує похідну третього порядку спектра при 283,6 нм. Також автори запропонували спосіб встановлення вмісту цієї речовини, вимірюючи амплітуду піку першої похідної спектра при 263,2 нм. Обчислені валідаційні характеристики всіх методик вказують на високу точність та збіжність отриманих результатів [72].

Beata Paw, Genowefa Misztal (Poland) для кількісного аналізу таблеток зопіклону вимірювали абсорбцію їх розчину в ацетонітрилі при 304 нм. Питомий коефіцієнт поглинання зопіклону за цією методикою склав 420, що свідчить про досить високу чутливість способу. Також автори застосували

ВЕРХ-методику, використавши в якості рухомої фази суміш 0,067 М фосфатного буферу з рН 7,95 з ацетонітрилом (55:45)[73].

Широка популярність зопіклону серед зловмисників призвела до появи великої кількості ВЕРХ-методик для аналізу біологічних рідин та волосся. Наприклад у роботах [74, 75] органічний екстракт розділяли на С18 колонці за допомогою градієнту ацетонітрилу та форміатного буферу. Інші дослідники використали для визначення зопіклону тандемну мас-спектрометрію після розділення у системах 0,05 % мурашина кислота:ацетонітрил (25:75) та 0,05 % мурашина кислота:ацетонітрил:метанол (25:65:10) [76]. Швейцарські вчені повідомляють про успішне застосування фази амонійно-форміатний буфер (рН 3,5):метанол з наступною мас-детекцією [77], а у роботі [78] амонійно-форміатний буфер (рН 10,2) комбінується з ацетонітрилом. Ren-Yu Hsu з співавторами (Taiwan) запропонували використовувати градієнт форміатного буферу у воді та форміатного буферу у ацетонітрилі [79]. Описана також методика із використанням елюенту, що складається з метанолу та води [80]. Загалом описано ще досить багато подібних визначень [81–92].

Також повідомляється про чимало методик визначення зопіклону та його метаболітів у біологічних зразках методом газової хроматографії із застосуванням різноманітних детекторів [93–97].

Éva Szökő та Tamás Tábi з Semmelweis University (Hungary) розробили методику кількісного аналізу цієї речовини на базі капілярного електрофорезу з флюоресцентною детекцією [98].

Тригексифенідилу гідрохлорид містить в своїй структурі піперидиновий цикл і належить до синтетичних холінолітичних препаратів, що застосовуються для лікування паркінсонізму. Важливою особливістю циклодолу є його сильний вплив на центральну нервову систему, що при передозуванні зумовлює психічне та рухове збудження, галюцинації.

Серед спектральних методів кількісного аналізу тригексифенідилу найпоширенішим є пряма УФ-спектрофотометрія у кислих розчинах. Одну з

таких методик описали S. P. Wate і A. A. Borkar. Вони пропонують розчиняти зразок у суміші метанолу та 0,1 М хлороводневої кислоти (90:10) та вимірювати оптичну густину за довжини хвилі 206 нм. Автори успішно застосували цей спосіб до комбінованих таблеток тригексифенідилу з галоперидолом [99].

Інші дослідники визначали цю речовину в лікарських формах з рісперідонем. Для цього наважку лікарської форми розчиняють у 0,1 М хлороводневій кислоті і розраховують концентрацію тригексифенідилу, вимірюючи оптичну густину за довжини хвилі 219 нм. За цією методикою добра лінійність спостерігається у інтервалі концентрацій 8–80 мкг/мл [100].

Повідомляється також про методику кількісного аналізу комбінованих таблеток тригексифенідилу з галоперидолом за допомогою деривативної спектрофотометрії [101].

Індійські вчені при розробці двошарових таблеток тригексифенідилу з зіпрасідонем, кількісно визначали перший вимірюючи абсорбцію розчину зразку у 0,1 М хлороводневій кислоті при довжині хвилі 250 нм [102].

Також описана робота, у якій тригексифенідил визначається у кислому розчині при 217 нм [103].

Існує екстрактивна спектрофотометрична методика, розроблена Ashwin Patel з співавторами. Вона базується на здатності тригексифенідилу створювати іонний асоціат з БКЗ. Продукт реакції екстрагують до хлороформу і вимірюють абсорбцію при 410 нм. Підпорядкування закону Бера спостерігається в інтервалі 2–18 мкг/мл [104].

Широко застосовується для аналізу даної речовини також метод ВЕРХ. У роботі [105] пропонується для розділення рухома фаза з градієнтом суміші ацетонітрил:метанол (50:50) з форміатним буфером з рН 3,5. Дослідження проводились з тандемним мас-спектрометричним детектором [106]. Автори дослідження [107] використовували в роботі  $\beta$ -циклодекстринову колонку та квадрупольний мас-детектор і досягли високої чутливості методики. Відомі і інші ВЕРХ-методики кількісного аналізу тригексифенідилу [108–110].

Деякі роботи присвячені аналізу цієї лікарської речовини методом капілярної газової хроматографії з мас-селективним детектором [111–113].

Існує методика визначення тригексифенідилу методом капілярного електрофорезу з УФ-детекцією при довжині хвилі 190 нм. Оптимальне розділення досягається в разі використання в якості розчинника фосфатного буферу з рН 2,7 [114]. Інші вчені використали у своїй роботі електрохемілюмінісцентний детектор [115]. Вивчили умови розділення цієї речовини у капілярному електрофорезі та запропонували оптимальну методику Hua Li зі співавторами [116].

Тіопентал натрію використовується для ультракороткої загальної анестезії і належить до похідних барбітурової кислоти.

Для кількісного визначення цієї речовини Robert Zakrzewski, Witold Ciesielski використали ВЕРХ з постколоночною хімічною детекцією. Вони запропонували в якості рухомої фази використовувати суміш ацетонітрилу з водним розчином азиду натрію. Після розділення рухома фаза змішується з розчином йоду та йодид-іонів, тіопентал натрію ініціює взаємодію йодид-іонів з азидом з виділенням вільного йоду. Збільшення концентрації йоду фіксується УФ-детектором при довжині хвилі 310 нм. Це дозволило досягнути високої чутливості методики – відкриваний мінімум був зафіксований на рівні 20 мкг, а лінійність результатів спостерігалась від 40 мкг [117].

Gilberto Corra з колегами запропонували визначати тіопентал натрію у волоссі використовуючи С18 обернено-фазову колонку та рухому фазу складу вода:метанол:ацетонітрил (50:40:10). Післяколоночний потік рухомої фази контролювали УФ-детектором при довжині хвилі 290 нм. Побудований калібрувальний графік був лінійний у широкому діапазоні концентрацій від 0,2 до 100 мкг/мл [118].

У роботі [119] тіопентал у біологічних зразках успішно аналізували використовуючи в якості мобільної фази 50 % об. метанол з мас-спектрометричною детекцією.



Вчені з University Hospital of Padova (Italy) розробили методику кількісного аналізу тіопенталу у волоссі жертв сексуальних злочинів, використовуючи для цього капілярну газову хроматографію. Детектування велось на тандемному мас-спектрометрі з хімічною іонізацією [120].

Описана методика визначення даного препарату у біологічному зразку використовуючи високоефективну тонкошарову хроматографію. Розділення проводилось на УФ-активованих пластинах з рухомою фазою гексан:дихлорметан:етилацетат (7,5:2:0,5). Детектуючи плями денситометрично при довжині хвилі 290 нм, вчені побудували калібрувальний графік від 1 до 100 мкг/мл з коефіцієнтом кореляції 0,994. Межа кількісного визначення за цією методикою склала 1,5 мкг/мл [121].

Кетотифену гідрофумарат належить до антигістамінних препаратів, зменшує вивільнення медіаторів з опасистих клітин. За будовою молекули належить до похідних піперидину. Через високу фармакологічну активність дози його у лікарських формах досить низькі, що створює труднощі для його кількісного аналізу.

Серед спектральних методів аналізу кетотифену широко застосовується хемілюмінесцентний аналіз. Наприклад, розроблена методика, що ґрунтується на вимірюванні люмінесценції продукту взаємодії тріс(1,10-фенантролін)рутенію з Се (IV), що відбувається за присутності кетотифену. Методика має високу чутливість, демонструє лінійність у діапазоні концентрацій 0,34–34 мкг/мл [122]. Інші вчені у своїй роботі використали взаємодію гексаціаноферату (III) з сумішшю кальцеїну та кетотифену. Дослідники відмічають, що інтенсивність люмінесценції підвищується за присутності слідових кількостей  $Mg^{2+}$  і сильно залежить від концентрації кетотифену. Свої спостереження вони взяли за основу при розробці методики його кількісного визначення у таблетках [123].

Відома методика, за якою кетотифен реагує з тіоціанатом кобальту у кислому середовищі з утворенням комплексу, який екстрагують у органічний розчинник і визначають за допомогою атомної абсорбції за поглинанням

іонів кобальту. За другим, спектрофотометричним способом кетотифен взаємодіє з тіоціанатом молібдену з утворенням забарвленого іон-парного комплексу з максимумом поглинання при 496,5 нм у дихлорметані. Також застосовують у екстрактивній спектрофотометрії продукт його реакції з 2,3-дихлоро-5,6-диціано-*n*-бензохіноном, який має максимум поглинання при 588 нм. Всі три методики показують добрі валідаційні характеристики при застосуванні до лікарських форм [124].

Мирошниченко Ю. О. розробила фотометричну екстрактивну методику визначення кетотифену, використовуючи його здатність утворювати іонний асоціат з метиловим оранжевим. Продукт реакції екстрагували хлороформом, але через малу інтенсивність його забарвлення, для руйнування комплексу додавали 1 % розчин сірчаної кислоти у абсолютному етанолі. При цьому вивільнявся метиловий оранжевий, що значно підвищувало інтенсивність забарвлення розчину [125, 126]. Також екстрактивну методику визначення вмісту кетотифену розробили індійські вчені [127]. Вона базується на утворенні іонного асоціату кетотифену з БКЗ у середовищі буферу з рН 3. У подальшому продукт взаємодії екстрагується у хлороформ та спектрофотометрується при максимумі поглинання 423 нм. Автори довели підпорядкування оптичної густини розчину основному закону світлопоглинання у діапазоні концентрацій 5,15–61,91 мкг/мл та успішно застосували розроблену методику для аналізу таблеток та сиропу з кетотифеном.

Горова О. Г. [128] з співавторами кількісно визначала кетотифен за його власною абсорбцією у 0,1 М розчині хлороводневої кислоти при 300 нм. Встановлено, що оптична густина такого розчину підпорядковується основному закону світлопоглинання у інтервалі концентрацій 5–32 мкг/мл. Інші автори проводили реакцію з надлишком Се (IV), залишок якого взаємодіяв з *n*-диметиламінобензальдегідом або *o*-діанізидіном з утворенням забарвлених продуктів [129].

Активно застосовується для аналізу кетотифену у лікарських формах метод ВЕРХ з УФ-детектором. Автори роботи [130] використовують рухому фазу ацетонітрил:гідрофосфатний буфер з рН 6,5 (45:55), а у роботі [131] пропонують метанол:0,01 М амонію ацетат (30:70). Існує кілька ВЕРХ методик для біологічних матеріалів [132–136]. Описані також денситометричні [137, 138] та електрохімічні [139] методики кількісно визначення цієї речовини.

Лоратадин – речовина за хімічною будовою та фармакологічними властивостями аналогічна кетотифену.

У спектрофотометричному аналізі лоратадину широко застосовуються деривативні методики. Наприклад, Mabrouk M. M. зі співавторами пропонує використовувати першу похідну спектра при довжині хвилі 307 нм [140], а інші автори проводили визначення при 276,1 нм. Описані і ще деякі подібні методики, що дозволяють підвищити селективність визначення лоратадину [141–143].

Застосували пряму спектрофотометрію для аналізу лікарських форм лоратадину і у методиці [144]. Крім того, її розробники запропонували нову модель обчислення УФ-спектрів, що дозволяє зменшити вплив протонування молекули на результати аналізу.

Вже згадувались методики визначення лоратадину на основі його іонного асоціату з БКП, що екстрагується у хлороформ, та взаємодії з еозином [23], а також методики, у яких автори аналізували лоратадин аналогічно кетотифену [124].

Успішно застосовується для встановлення кількісного вмісту лоратадину у лікарських засобах метод ВЕРХ. Автори роботи [145] пропонують використовувати для розділення рухому фазу ацетонітрил:ортофосфорна кислота (35:65) та детектувати її потік при 250 нм. Інші вчені використали для розробки методики мікроемульсійну рухому фазу, що представляє собою розчин 1 % октанолу, 10 % *n*-пропанолу та 0,1 М додецилсульфату натрію у 0,02 М ортофосфорній кислоті [146]. Крім того

існує багато методик кількісного визначення лоратадину у екстрактах біологічних зразків [147–160].

Відомі методики аналізу лоратадину на основі капілярного електрофорезу [161, 162], обернено-фазової тонкошарової хроматографії [163] та полярографії [164].

Дезлоратадин також є речовиною, за будовою і властивостями близькою до кетотифену та лоратадину. Хоча він з'явився у медичній і фармацевтичній практиці зовсім недавно, його популярність обумовила розробку чималої кількості аналітичних методик.

Серед спектрофотометричних методик значне місце займають такі, що ґрунтуються на утворенні дезлоратадином забарвлених комплексів з органічними реагентами. Наприклад, Ауман А. Goudaa і Mohamed Kassem запропонували три способи, використовуючи в якості кольорореагентів алізарин, алізарин червоний S та хіналізарин. Абсорбцію продуктів реакцій вимірювали за максимальної довжини хвилі 528, 505 та 560 нм відповідно. Підпорядкування закону Бера для цих реакцій спостерігається у досить широких діапазонах а коефіцієнт кореляції лінійної залежності склав 0,9993 [165].

Описаний спосіб, заснований на реакції цієї речовини з еозином з утворенням комплексу з максимумом поглинання при довжині хвилі 549 нм. У цій методиці авторам вдалось уникнути стадії екстракції завдяки застосуванню неіоногенного поверхнево-активного агенту – метилцелюлози. Розраховані валідаційні характеристики даної методики, застосованої до лікарських форм, вказують на її високу точність та збіжність [166].

Вище вже була згадана пряма спектрофотометрична методика, застосована розробниками для аналізу лоратадину та дезлоратадину [144].

Існують численні ВЕРХ-методики кількісного аналізу дезлоратадину у лікарських препаратах. В якості рухомих фаз автори використовують ізократичну суміш метанол:фосфатний буфер (70:30) [167], градієнтну суміш цитратного буферу та ацетонітрилу [168, 169], метанол:0,03 М

гептасульфонат натрію:безводна оцтова кислота (70:30:4) [170]. Також описана ціла низка ВЕРХ-методик для аналізу біологічних рідин [171–177].

Мебгідролін містить у структурі молекули піридо-індолу конденсовану систему і належить до антигістаміних препаратів. На даний час ця речовина дуже мало використовується в світі, у останніх редакціях провідних фармакопей світу не міститься окремих статей на мебгідролін. Між іншим лікарські препарати на його основі випускаються кількома фармацевтичними підприємствами України та традиційно популярні серед населення.

Здатність мебгідроліну до утворення комплексів з переносом електронів покладена в основу розробки екстрактивної спектрофотометричної методики його визначення у таблетках [178]. Автори вивчили умови утворення та будову комплексу мебгідроліну з швидким зеленим FCF, а також встановили, що він має максимум поглинання у хлороформі при довжині хвилі 620 нм. Розраховане відносне стандартне відхилення результатів вимірювання становило 1,3 % і статистично значуще не відрізнялось від результатів за референтною методикою.

Вчені з Andhra University (India) розробили спосіб визначення мебгідроліну, що заснований на його взаємодії з 3-метил-2-бензотіазоліноном гідразону з утворенням іон-парного комплексу [179].

Таджисєва А. Д. для стандартизації запропонованих нею таблеток з вмістом мебгідроліну, розробила пряму спектрофотометричну методику його кількісного аналізу. Вона пропонує розчиняти таблеткову масу у лужній спирто-водній суміші та вимірювати абсорбцію розчину при довжині хвилі 286 нм на фоні дистильованої води [180].

Крім спектральних, також описані хроматографічні методики кількісного аналізу цієї речовини. У своїх дослідженнях L. Wulandari з співавторами застосували з цією метою вискоефективну тонкошарову хроматографію у системі метанол:етилацетат (1:1) з денситометричною детекцією при довжині хвилі 287 нм. Вчені повідомили, що розрахований

відкриваний мінімум за цією методикою склав 19 нг/зону, а межа кількісного визначення 56 нг/зону[181]. Інші дослідники аналізували мебгідролін методом ВЕРХ, розділення проводили на обернено-фазовій С18 колонці використовуючи в якості рухомої фази суміш ацетонітрил:аміак 25% (80:20) та УФ детектор при довжині хвилі 320 нм [182].

Російські вчені Г. І. Мантром та І. К. Шевчук визначали мебгідролін потенціометрично, використовуючи розроблений ними іон-селективний електрод [183].

Аналіз літературних даних щодо методів аналізу досліджуваних лікарських речовин, що знаходять застосування поза медичною практикою, показав, що описані УФ-спектрометричні методики визначення зазвичай потребують підвищення селективності, а для дослідження у видимій області спектра використовують реакції, що зазвичай вимагають спеціальних умов або додаткових процедур, наприклад, регулювання рН, нагрівання, екстракції, або залучення дорогих важкодоступних реагентів. Розроблені хроматографічні методики, безсумнівно, є досить точними та селективними, тим не менше, тривалі етапи пробопідготовки та розділення, висока вартість витратних матеріалів та обладнання знижує їх доступність. 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 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 Кількісний аналіз досліджуваних лікарських речовин за офіціальними методиками

В Україні контроль якості лікарських засобів регламентується Державною Фармакопеею України, яка є основним нормативним документом, та методиками контролю якості лікарських засобів. Серед обраних для дослідження лікарських речовин, ДФУ з доповненнями містить монографії лише на дифенгідраміну гідрохлорид та кетотифену гідрофумарат, що добре узгоджуються з фармакопеями провідних країн світу.

Дифенгідраміну гідрохлорид згідно ДФУ, Британської Фармакопеї та Європейської Фармакопеї кількісно визначають методом потенціометричного титрування гідроксидом натрію у середовищі етилового спирту, підкисленого хлористоводневою кислотою [184–186]. Фармакопея Сполучених Штатів рекомендує для кількісного аналізу цієї речовини у субстанції та лікарських формах метод ВЕРХ [187].

Кетотифену гідрофумарат за ДФУ, ВР та ЕРн титрують хлорною кислотою у суміші безводної оцтової кислоти та оцтового ангідриду, точку кінця титрування визначають потенціометрично [188, 185–186].

Аналогічно кетотифену, ВР та ЕРн рекомендують титриметрично визначати також зопіклон, тіопентал натрію та лоратадин, а рекомендована ними методика для тригексифенідилу гідрохлорид збігається з такою для дифенгідраміну [185–186].

Дезлоратадин з'явився у асортиментів антигістамінних лікарських засобів нещодавно, тому лише ЕРн містить на нього монографію, яка рекомендує для кількісного аналізу застосовувати метод ВЕРХ [186].

У ВР описані окремі рекомендації щодо визначення кількісного вмісту дифенгідраміну гідрохлориду, зопіклону, тригексифенідилу гідрохлорид та лоратадину у таблетках методом ВЕРХ, а для визначення тіопенталу натрію у

порошку для приготування ін'єкційного розчину вона регламентує екстрактивне гравіметричне дослідження [185].

Для встановлення вмісту тригексифенідилу гідрохлорид та лоратадину у субстанціях та лікарських формах USP пропонується застосовувати ВЕРХ, а для тіопенталу натрію – ультрафіолетову спектрофотометрію [186].

Статей по меггідроліну не міститься у ДФУ та у проаналізованих виданнях фармакопей країн Європи та Америки. Державна Фармакопея СРСР X видання рекомендує для його кількісного аналізу визначати азот за методом Кьельдаля після лужної екстракції хлороформом [189]. А Державна Фармакопея Російської Федерації XII видання вимагає для встановлення вмісту цієї лікарської речовини проводити неводне ацидіметричне титрування у середовищі оцтової кислоти та оцтового ангідриду за присутності кристалічного фіолетового в якості індикатора [190].

Аналізуючи наведені дані можна зробити висновки, що більшість офіційних методів аналізу вищезазначених лікарських речовин належать до титриметричних, які, попри високу точність, значною мірою залежать від умов навколишнього середовища лабораторії, способів фіксування точки еквівалентності та суб'єктивності аналітика. Другий, досить поширений метод з використанням ВЕРХ вимагає дорогих розчинників високого ступеню чистоти і не завжди є доступним, оскільки лабораторії з контролю якості лікарських засобів, та інші, пов'язані з аналізом лікарських речовин значною мірою не мають необхідної апаратури.

Виходячи з того, що досить обмежено вивчено можливості використання у спектрофотометричному аналізі обраних для дослідження лікарських речовин, що знаходять застосування поза медичною практикою, в якості кольорореагентів сульфоталеїнових барвників, робота у цьому напрямку аналізу є актуальною.



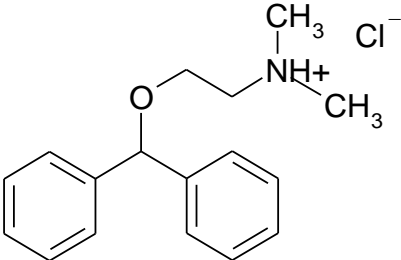
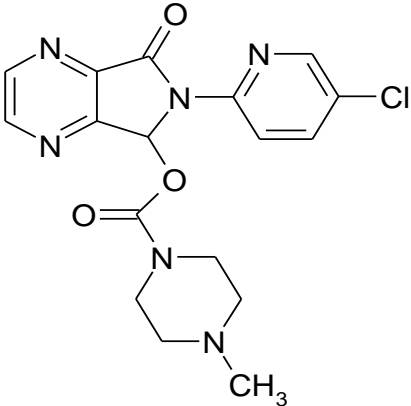
РОЗДІЛ 2  
 ОБ'ЄКТИ ДОСЛІДЖЕННЯ, РЕАГЕНТИ, РОЗЧИННИКИ ТА ЗАГАЛЬНІ  
 МЕТОДИ АНАЛІЗУ

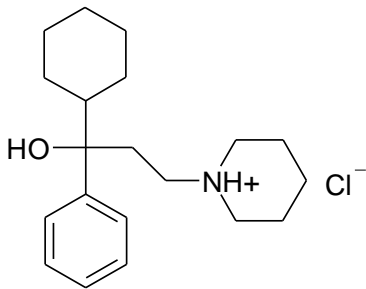
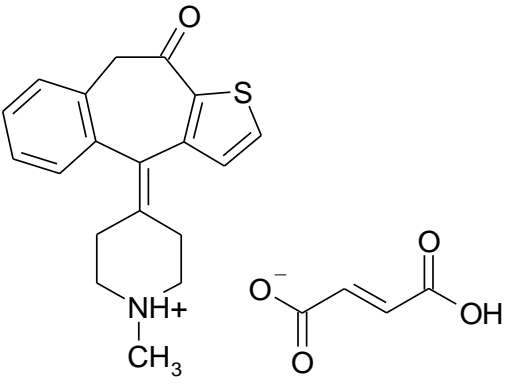
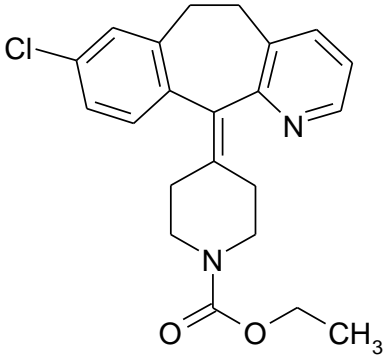
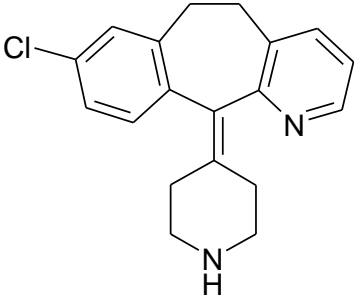
2.1 Об'єкти дослідження

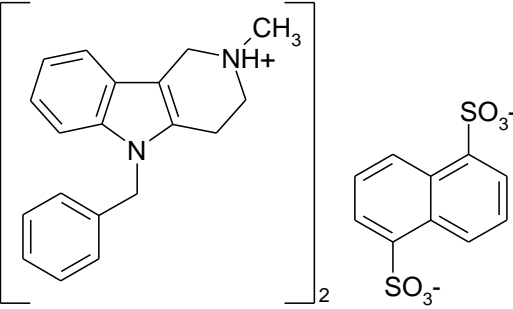
При розробці методик кількісного визначення в якості об'єктів дослідження були використані ФСЗ, атестовані ДП «Науково-експертний фармакопейний центр», а також РСЗ субстанцій лікарських речовин, які відповідали вимогам нормативних документів (табл. 2.1), а також наведені нижче лікарські форми промислового виробництва.

Таблиця 2.1

**Перелік досліджуваних лікарських речовин**

Лікарська речовина та її хімічна назва	Брутто- та структурна формула	Нормативні документи (№ серії ФСЗ)
1	2	3
Дифенгідраміну гідрохлорид N,N-диметил-2-(дифенілметокси)- етиламіну гідрохлорид	$C_{17}H_{21}NO \cdot HCl$ 	ДФУ, доп. 1, (серія ФСЗ 2)
Зопіклон 6-(5-хлор-2-піридиніл)- 6,7-дигідро-7-оксо-5Н- піроло[3,4-в]піразин-5- іловий ефір 4-метил-1- піперазинкарбонової кислоти	$C_{17}H_{17}ClN_6O_3$ 	ВР 17 <sup>th</sup> , (серія ФСЗ 1)

1	2	3
<p>Тригексифенідилу гідрохлорид 1-циклогексил-1-феніл-3-(1-піперидил)пропан-1-олу гідрохлорид</p>	<p><math>C_{20}H_{31}NO \cdot HCl</math></p> 	<p>BP 17<sup>th</sup></p>
<p>Кетотіфену гідрофумарат 4-(1-метилпіперидин-4-іліден)-4,9-дигідро-10Н-бензо[4,5]циклогепта[1,2-б]тіофен-10-он гідроген (Е)-бутендіоат</p>	<p><math>C_{23}H_{23}NO_5S</math></p> 	<p>BP 17<sup>th</sup></p>
<p>Лоратадін етил 4-(8-хлор-5,6-дигідро-11Н-бензо[5,6]циклогепта[1,2-б]піридин-11-іліден)-1-піперидинкарбоксилату</p>	<p><math>C_{22}H_{23}ClN_2O_2</math></p> 	<p>BP 17<sup>th</sup></p>
<p>Дезлоратадін 8-хлор-6,11-дигідро-11-(4-піперидиніліден)-5Н-бензо[5,6]циклогепта[1,2-б]піридин</p>	<p><math>C_{19}H_{19}ClN_2</math></p> 	<p>Ph.Eur.8<sup>th</sup>, р. 2005</p>

1	2	3
Мебгідроліну нападизилат 9-бензил-2-метил-2,3,4,9- тетрагідро-1Н-β- карболіну 1,5-нафта- ліндисульфонат (2:1)	$(C_{19}H_{20}N_2)_2 \cdot C_{10}H_8O_6S_2$ 	Державна Фармакопея Російської Федерації XII видання

Лікарські форми промислового виробництва:

- таблетки «Димедрол», 0,05 г дифенгідраміну гідрохлориду (0,14632 г), ПАТ «Луганський хімфармзавод», Україна, серія № 381211;
- таблетки «Димедрол», 0,05 г дифенгідраміну гідрохлориду (0,14417 г), ОВХФП «Біостимулятор», Україна, серія № 1731108;
- таблетки «Димедрол-Дарниця», 0,05 г дифенгідраміну гідрохлориду (0,14968 г), ЗАТ «Дарниця», Україна, серія № ЕН31013;
- таблетки «Димедрол», 0,1 г дифенгідраміну гідрохлориду (0,20059 г), ПАТ «Київський вітамінний завод», Україна, серія № 10712;
- таблетки «Зопіклон», 7,5 мг зопіклону (0,14606 г), ПАТ «Лубнифарм», Україна, серія № 130510;
- таблетки «Соннат», 7,5 мг зопіклону (0,17154 г), «Київмедпрепарат», Україна, серія № 42571;
- таблетки «Сонован», 7,5 мг зопіклону (0,16270 г), «Pharmascience Inc.», Канада, серія № 7458042;
- таблетки «Зопіклон-ЗН», 7,5 мг зопіклону (0,16730 г), ТОВ «ХФП Здоров'я народу», Україна, серія № 4441212;
- таблетки «Циклодол», 2 мг тригексифенідилу гідрохлориду (0,09822 г), ЗАТ НВЦ «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод», Україна, серія № 40207;

- таблетки «Кетотифен-ЛХ», 1 мг кетотифену (0,25141 г), АТ «Лекхім-Харків», Україна, серія № 90613;
- таблетки «Кетотифен Софарма», 1 мг кетотифену (0,14035 г), АТ «Софарма», Болгарія, серія № 5010514;
- таблетки «Кетотифен», 1 мг кетотифену (0,25387 г), ТОВ «ДЗ «ГНЦЛС», Україна, серія № 121114;
- таблетки «Лоратадин-Дарниця», 10 мг лоратадину (0,12108 г), ЗАТ «Дарниця», Україна, серія № FB40614;
- таблетки «Алерік», 10 мг лоратадину (0,10072 г), ТОВ ЮС «Фармація», Польща, серія № U2305962;
- таблетки «Кларитин», 10 мг лоратадину (0,10074 г), «Шеринг-Плау Лабо Н.В.», Бельгія, серія № 3RXFA33002;
- таблетки «Лорано», 10 мг лоратадину (0,13932 г), Лек Фармацевтична компанія д. д., Словенія, серія EF8029;
- таблетки «Лоратадин», 10 мг лоратадину (0,19766 г), ПАО «Фармак», Україна, серія № 351214;
- таблетки «Лоризан», 10 мг лоратадину (0,09834 г), ПАТ «Київмедпрепарат», Україна, серія № 84919;
- таблетки «Едем», 5 мг дезлоратадину (0,10455 г), ПАО «Фармак», Україна, серія № 470714;
- таблетки «АлергоМакс», 5 мг дезлоратадину (0,10364 г), ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я», Україна, серія № 0020714;
- таблетки «Трексил Нео», 5 мг дезлоратадину (0,10410 г), «Ранбаксі Лабораторіз Лімітед», Індія, серія № 2639904;
- таблетки «Алерсіс», 5 мг дезлоратадину (0,09949 г), «Лабораторіос Нормон С.А.», Іспанія, серія № J3RN1;
- таблетки «Алергостоп», 5 мг дезлоратадину (0,10410 г), ПАТ «Фітофарм», Україна, серія № 21014;

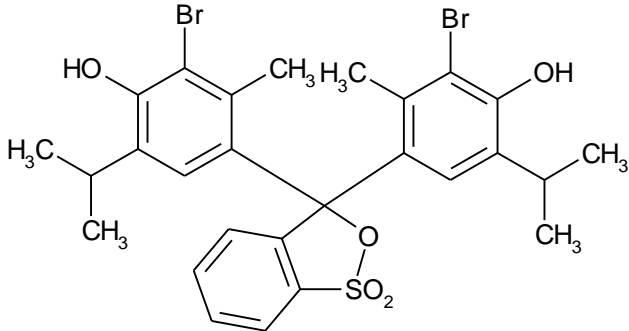
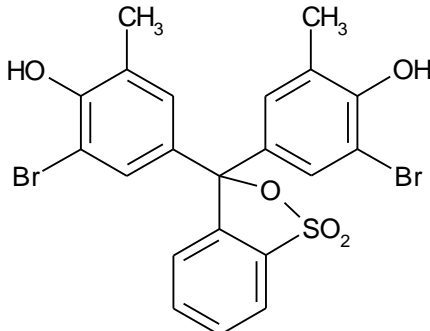
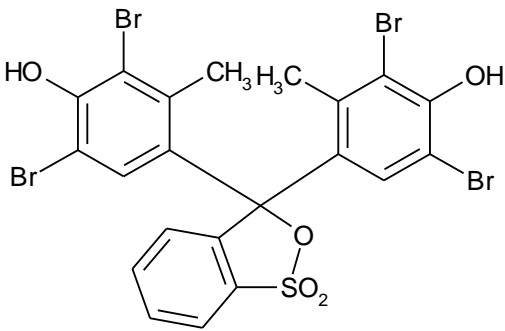
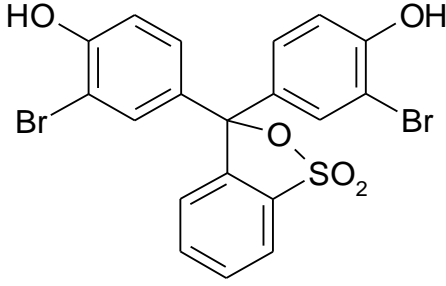
- таблетки «Дезлоратадин», 5 мг дезлоратадину (0,11822 г), ПрАТ«Технолог», Україна, серія № 10115;
- таблетки «Діазолін-Дарниця», 100 мг мебгідроліну (0,26998 г), ЗАТ «Дарниця», Україна, серія № ED30415;
- капсули «Кетотифен-В», 1 мг кетотифену (0,12947 г), ВАТ «Монфарм», Україна, серія № 11212;
- Драже «Діазолін» 0,1 г мебгідроліну (0,24468 г), ПАО «Фармак», Україна, серія № 871214;
- Драже «Діазолін» 0,05 г мебгідроліну (0,32433 г), ПАО «Фармак», Україна, серія № 310515;
- Гранули для оральної суспензії «Діазолін для дітей», 0,6 г мебгідроліну (9,2354 г), ТОВ «ДЗ «ГНЦЛС», Україна, серія № 10415;
- розчин для ін'єкцій «Димедрол-Дарниця», 10 мг дифенгідраміну гідрохлориду (1 мл), ЗАТ «Дарниця», Україна, серія № 441112;
- розчин для ін'єкцій «Димедрол», 10 мг дифенгідраміну гідрохлориду (1 мл), ТОВ «ХФП Здоров'я народу», Україна, серія № 1501212;
- порошок для приготування розчину для ін'єкцій «Тіопентал», 1,0 г тіопенталу натрію (1,0054 г), ПАТ «Київмедпрепарат», Україна, серія № 49564.

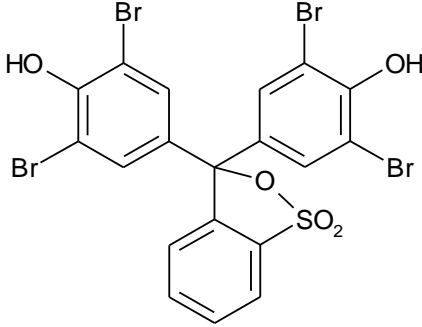
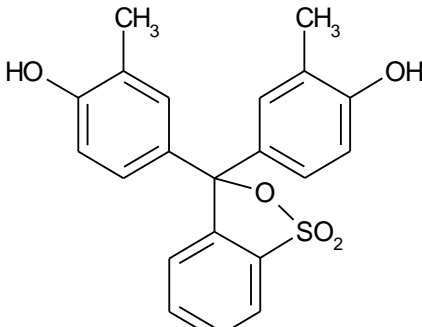
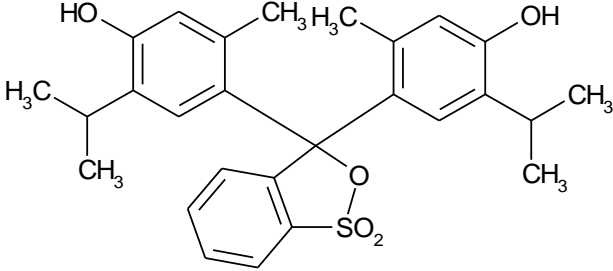
## 2.2 Реагенти та розчинники

В якості аналітичних органічних реагентів було використано сульфогфталейнові барвники, отримані від НВФ «Синбіас» (табл. 2.2), які мали сертифікати якості виробника.

В дослідах були використані розчинники та реагенти, що відповідали кваліфікації «х.ч.», «ч.д.а.» та «фарм.»: вода очищена, етанол, метанол, диметилформахід, хлороформ, етилацетат, бензол, ацетон, ацетонітрил, триетиламін, діетиламін, ортофосфорна кислота, мурашина кислота, калію гідроксид, амонію ацетат.

## Перелік використаних сульфогфталейнових барвників

Барвник та його хімічна назва	Брутто- та структурна формула	Інтервал переходу забарвлення, рН
1	2	3
Бромтимоловий синій (БТС), 3,3'-дибромтимол-сульфогфталейн	$C_{27}H_{28}Br_2O_5S$ 	Вода 6,0-7,6 Ацетон 11,4-12,8
Бромкрезоловий пурпуровий (БКП), 5,5'-дибром-о-крезолсульфогфталейн	$C_{21}H_{16}Br_2O_5S$ 	Вода 5,2-6,8 Ацетон 9,6-11,1
Бромкрезоловий зелений (БКЗ), 3,3',5,5'-тетрабром-м-крезолсульфогфталейн	$C_{21}H_{14}Br_4O_5S$ 	Вода 3,8-5,4 Ацетон 8,3-9,8
Бромфеноловий червоний (БФЧ)	$C_{19}H_{12}Br_2O_5S$ 	Вода 5,2-6,8 Ацетон 9,6-11,1

1	2	3
Бромфеноловий синій (БФС)	$C_{19}H_{10}Br_4O_5S$ 	Вода 3,0-4,6 Ацетон 6,5-8,3
Крезоловий червоний (КЧ)	$C_{21}H_{18}O_5S$ 	Вода 0,2-1,8 7,0-8,8
Тимоловий синій (ТС)	$C_{27}H_{30}O_5S$ 	Вода 1,2-2,8 Ацетон 2,4-4,0

### 2.3 Загальні методи аналізу

Для реєстрації спектрів поглинання аналітичних реагентів та забарвлених продуктів реакцій з досліджуваними речовинами у видимій області спектра, використовували спектрофотометр SPECORD 200. Величину оптичної густини вимірювали за допомогою прямокутних кварцових кювет з товщиною шару 1 см на фоні компенсаційного розчину, що містив у своєму складі всі компоненти крім досліджуваної речовини. Одержані спектри обробляли, застосовуючи для цього програмний пакет WinASPECT 2.2.1.0.

Кількісні співвідношення реагентів та досліджуваних речовин у реакції встановлювали, використовуючи такі спектрофотометричні методи: метод насичення (метод молярних співвідношень), метод неперервних змін (метод ізомолярних серій) та метод відносного виходу. Вказані методи застосовували в оптимальних умовах реакцій за загальновідомими методиками [191] з 0,001 та 0,01 М розчинами лікарських речовин та реагентів.

Хроматографування досліджених розчинів проводили за допомогою хроматографічної системи Thermo Spectra System, що складається з помпи P2000 та УФ-спектрометричного детектору UV2000. Розділення компонентів розчинів проводили із застосуванням обернено-фазової колонки Hypersil Gold C18, 4×150 мм, розмір часток сорбента – 5 мкм. Отримані хроматографічні данні аналізували за допомогою програмного забезпечення МультиХром.

Вимірювання показників рН розчинів проводилось за допомогою іономіру універсального ЭВ-74.

З метою встановлення будови продуктів взаємодії досліджених лікарських речовин з сульфоталеїновими барвниками проводились дослідження наступними методами:

– *ІЧ-спектри* знімались на спектрофотометрі Bruker Alpha в області 7500-400  $\text{cm}^{-1}$  з використанням приставки АTR (пряме ведення речовини);

–  $^1\text{H}$ , *ЯМР-спектри* – на спектрофотометрі ядерного магнітного резонансу «Mercury 400», розчинник DMSO- $\text{D}_6$ , внутрішній стандарт – тетраметилсилан;

– *Хромато-мас-спектри* знімались на вискоефективному рідинному хроматографі Agilent 1100 Series, оснащеному діодно-матричним та мас-селективним детектором Agilent LC/MSD SL. Параметри аналізу: колонка Zorbax SB-C18, 1,8 мкм, 4,6 мм Ч 15 мм. Сольвенти: А – ацетонітрил-вода (95:5), 0,05% мурашиної кислоти, В – вода (0,05% мурашиної кислоти); потік елюенту – 3 мл/хв. Градієнт: 0 хв – 0% А, 0,01 хв – 0% А, 0,5 хв – 100% А,



0,95 хв – 100% А, 0,96 хв – 0% А. Об'єм проби, що водиться – 1 мкл. Спосіб іонізації – хімічна іонізація при атмосферному тиску (APCI). Режим іонізації – одночасне сканування позитивних та негативних йонів в діапазоні мас 50–650  $m/z$ .

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

Для вивчення чутливості реакцій досліджуваних лікарських речовин з реагентами було розраховано величини:

питомого показника поглинання продуктів реакції ( $A_{1cm}^{1\%}$ ),

$$A_{1cm}^{1\%} = \frac{A}{C \cdot l} \quad (2.1)$$

молярного показника поглинання ( $\varepsilon$ ),

$$\varepsilon = \frac{A}{C_{\text{моль/л}} \cdot l} \quad (2.2)$$

питомого поглинання ( $a$ ),

$$a = \frac{\varepsilon}{M.M. \cdot 1000} \quad (2.3)$$

коефіцієнта Сендела ( $W_s$ ),

$$W_s = \frac{M.M.}{\varepsilon} \quad (2.4)$$

межі виявлення ( $C_{\min}$ , мкг/мл)

$$C_{\min} = \frac{0,05 \cdot M.M.}{\varepsilon \cdot 1000} \quad (2.5)$$

Для вивчення придатності застосованої хроматографічної системи для розділення досліджуваних речовин, було розраховано величини:

об'єму утримання ( $V$ ),

$$V = \frac{t_R}{\nu} \quad (2.6)$$

коефіцієнту симетрії ( $A_s$ ),

$$A_s = \frac{b_{0,05}}{2A} \quad (2.7)$$

числа теоретичних тарілок ( $N$ ),

$$N = 5,54 \left( \frac{t_R}{b_{0,5}} \right)^2 \quad (2.8)$$

відношення сигнал/шум ( $S/N$ ),

$$S / N = \frac{2H}{h_n} \quad (2.9)$$

відносного стандартного відхилення ( $RSD$ ),

$$RSD = \frac{s}{\bar{X}} \cdot 100\% \quad (2.10)$$

З метою валідації розроблених методик використовували метрологічні характеристики середнього результату, а саме, середнє значення вибірки ( $\bar{X}$ ), стандартне відхилення ( $S$ ), відносне стандартне відхилення ( $RSD$ ), відносний довірчий інтервал одиничного визначення ( $\Delta_x$ ), відносний довірчий інтервал середнього результату ( $\Delta_{\bar{x}}$ ), а також статистичні характеристики лінійної залежності: точка перетину з віссю ординат ( $a$ ), кутовий коефіцієнт ( $b$ ), коефіцієнт кореляції ( $r$ ), залишкова сума квадратів відхилень ( $s_y$ ), які розраховували згідно [184].

## РОЗДІЛ 3

### ВИВЧЕННЯ ОПТИМАЛЬНИХ УМОВ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНОГО ТА ХРОМАТОГРАФІЧНОГО АНАЛІЗУ ДОСЛІДЖУВАНИХ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН

#### 3.1 Вивчення оптимальних умов реакцій взаємодії сульфоталеїнових барвників з досліджуваними лікарськими речовинами

За основу розробки методик кількісного визначення лікарських речовин груп антигістаміних, снодійних засобів та інших, що знаходять застосування поза медичною практикою, а саме, дифенгідраміну, зопіклону, тригексифенидилу, тиопенталу натрію, кетотифену, лоратадину, дезлоратадину, були взяті їх реакції з деякими сульфоталеїновими барвниками. Для цього були вивчені основні фактори, що можуть впливати на швидкість та повноту протікання реакцій, а також на склад утворюваних продуктів. В ході роботи було вивчено вплив на перебіг реакцій таких факторів, як природа та склад розчинника, природа та кількість реагентів, швидкість перебігу реакцій та стійкість продуктів реакції у часі.

Вплив природи та складу розчинника на перебіг даних реакцій було вивчено з урахуванням літературних даних про розчинність досліджуваних лікарських речовин та сульфоталеїнових барвників, а також про реакційну здатність цих реагентів [37–44]. Таким чином, для дослідження були обрані такі розчинники, як хлороформ, ацетон, ацетонітрил, диметилформамід, метанол, етанол та етилацетат.

Для прикладу наводимо результати взаємодії БКП з кетотифеном, БТС з тиопенталом натрію, та БКЗ з лоратадином. Обрані для цього дослідження БКП, БТС та БКЗ є характерними представниками групи сульфоталеїнових барвників і широко використовуються у фармацевтичному аналізі.

Для проведення дослідження реакційної здатності кетотифену використовували 0,15% ацетоновий розчин БКП та 0,0073% розчин

кетотифену фумарату у таких розчинниках: ацетон, ацетонітрил, хлороформ, етилацетат, метанол та диметилформамід. В ході дослідження по 1,00 мл розчинів кетотифену вміщували в мірні колби з притертим корком ємністю 10,00 мл, туди ж додавали по 1,00 мл розчинів реагенту, доводили відповідним розчинником до позначки та перемішували. На цьому етапі дослідження реакція відбувалась за кімнатної температури. Готували компенсаційні розчини розведенням розчинів реагенту відповідним розчинником у мірних колбах з притертим корком ємністю 10,00 мл. Абсорбцію досліджуваних розчинів вимірювали на фоні компенсаційного розчину. В результаті отримали спектри поглинання (рис. 3.1) з яких видно, що у випадку використання в якості розчинника метанолу не було зафіксовано жодного максимуму поглинання, тобто реакція не відбулася.

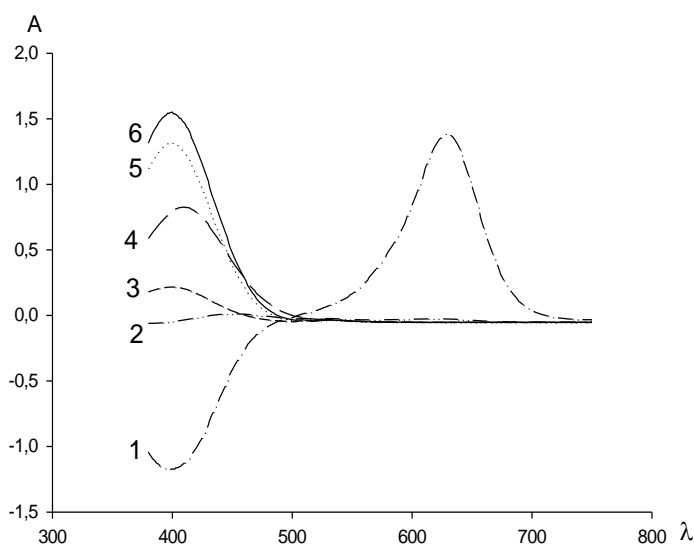


Рис. 3.1. Спектри поглинання продуктів реакції кетотифену та БКП у диметилформаміді (1), метанолі (2), етанолі (3), хлороформі (4), ацетоні (5) та ацетонітрилі (6)

У етанолі фіксувався максимум поглинання за довжини хвилі 397 нм, але дана реакція характеризувалась низькою чутливістю. У випадку використання диметилформаміду спостерігався максимум поглинання за довжини хвилі 635 нм і оптична густина розчину була досить висока. Проте, у подальшому, при проведенні дослідження залежності між оптичною

густиною та концентрацією досліджуваної лікарської речовини, не вдалося встановити діапазону, у якому ця залежність є лінійною.

Найвища оптична густина розчину спостерігалась у випадку використання в якості реакційного середовища ацетонітрилу, проте при подальших дослідженнях стійкості продуктів реакції у часі спостерігалась нестабільність оптичної густини за кімнатної температури. Це було встановлено вимірюванням абсорбції аналізованого розчину з інтервалом у 5 хв (рис. 3.2). З наведеного графіку видно, що у перщі 10 хв після першого виміру оптична густина розчину значно знижувалась і у подальшому зберігала таку динаміку протягом 30 хв дослідження. Зогляду на це, для розробки методики кількісного визначення кетотифену було обрано ацетон, який дозволяв отримати досить високу і стабільну у часі оптичну густина розчину (рис. 3.3).

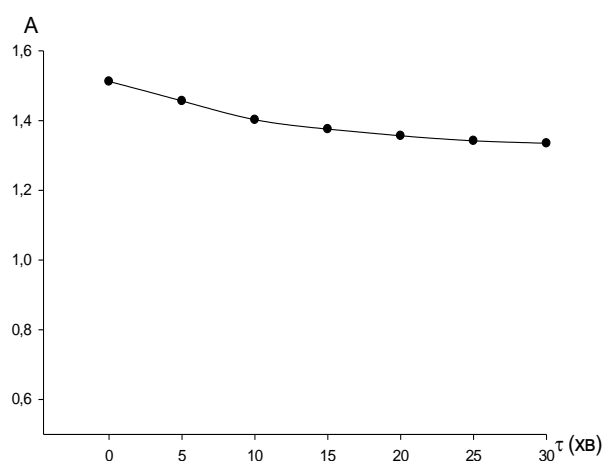


Рис. 3.2. Графік залежності оптичної густини розчину після реакції кетотифену з БКП в ацетонітрилі від часу,  $\lambda_{\text{макс}} = 399 \text{ нм}$

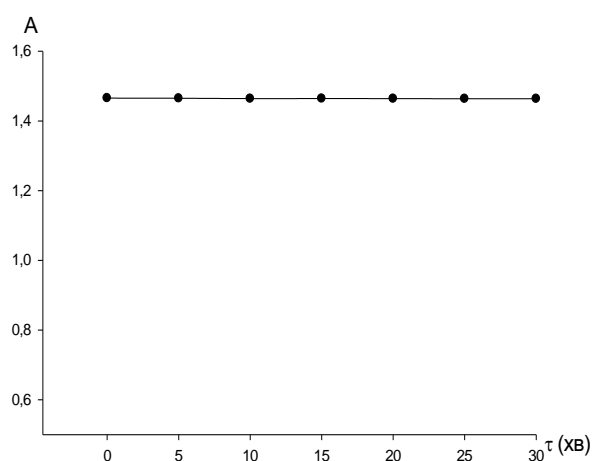


Рис. 3.3. Графік залежності оптичної густини розчину після реакції кетотифену з БКП в ацетоні від часу,  $\lambda_{\text{макс}} = 399 \text{ нм}$

Аналогічні результати отримали після дослідження впливу розчинника на реакції з сульфотфалеїновими барвниками зопіклону та тригексифенідилу.

Дослідження реакційної здатності тіопенталу натрію, з урахуванням даних про його розчинність, проводили в ацетоні, ацетонітрилі, хлороформі,

етанолі та етилацетаті, використовуючи для цього 0,008% розчин лікарської речовини та 0,14% розчин БТС у ацетоні. При цьому, оскільки у більшості застосовуваних розчинників тіопентал натрію виявився нерозчинним, то з метою проведення реакції у середовищі хлороформу та етилацетату, досліджувану лікарську речовину попередньо розчиняли у декількох краплях етанолу. Надалі по 1,00 мл розчинів тіопенталу натрію вміщували в мірні колби з притертим корком ємністю 10,00 мл, туди ж додавали по 1,00 мл розчинів реагенту, доводили відповідним розчинником до позначки та перемішували. Дана реакція відбувалась за кімнатної температури. Абсорбцію досліджуваних розчинів вимірювали на фоні компенсаційних розчинів, приготованих як описано вище для кетотифену. З отриманих спектрів поглинання (рис. 3.4) видно, що максимуми спостерігаються за довжини хвилі 399 нм у випадку використання етанолу, етилацетату, ацетонітрилу та ацетону, та за довжини хвилі 408 нм у випадку використання хлороформу.

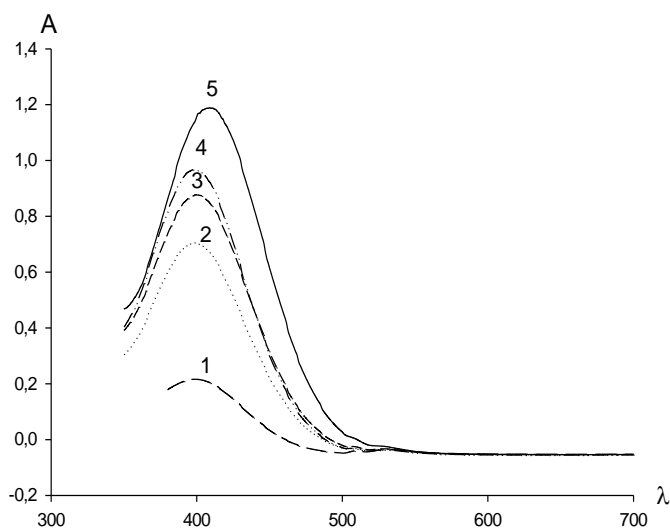


Рис. 3.4. Спектри поглинання продуктів реакції тіопенталу натрію з БТС в етанолі (1), етилацетаті (2), ацетонітрилі (3), ацетоні (4) та хлороформі (5)

Найбільша чутливість реакції спостерігається у середовищі хлороформу. Але подальші дослідження стабільності оптичної густини у часі показали, що швидкість реакції не достатньо висока, і після змішування

розчинів відбувається поступове збільшення оптичної густини (рис. 3.5). Тому хлороформ у подальшому було відкинута як непридатний для кількісного аналізу досліджуваної лікарської речовини. Таким чином, наступний за чутливістю реакції був ацетон. Проведені експерименти з стабільності продукту реакції дали задовільні результати (рис. 3.6).

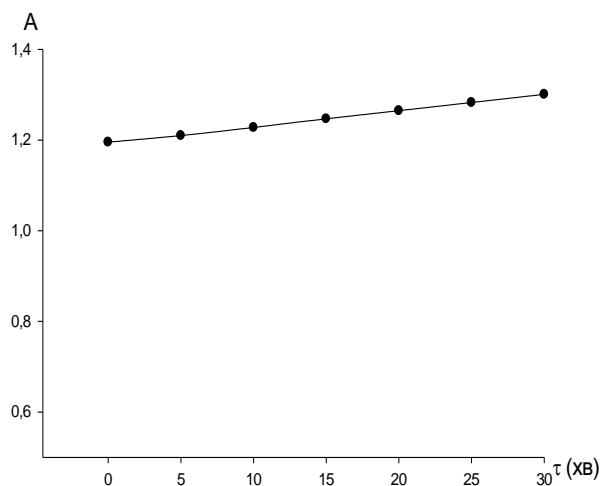


Рис. 3.5. Графік залежності оптичної густини продукту реакції тіопенталу натрію з БТС в ацетонітрилі від часу,  $\lambda_{\text{макс}} = 408$  нм

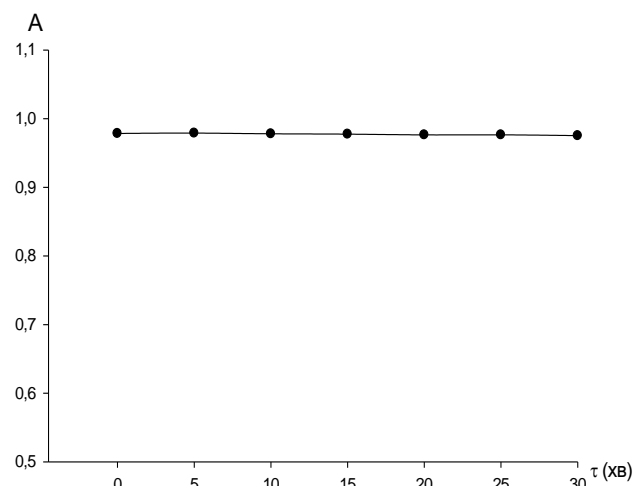


Рис. 3.6. Графік залежності оптичної густини продукту реакції тіопенталу натрію з БТС в ацетоні від часу,  $\lambda_{\text{макс}} = 408$  нм

Також на користь ацетону, як середовища реакції тіопенталу натрію з сульфоталеїновими барвниками свідчила добра розчинність, що у подальшому спрощувало техніку аналізу. Тому в подальшому ацетон було обрано для розробки методик кількісного визначення цієї лікарської речовини. Аналогічні результати було отримано також для дифенгідраміну.

Для вивчення впливу природи реакційного середовища на перебіг реакції лоратадину з сульфоталеїновими барвниками використовували 0,15% ацетоновий розчин БКЗ та 0,015% розчин лоратадину у таких розчинниках: ацетон, ацетонітрил, хлороформ, етилацетат та метанол. В ході дослідження по 1,00 мл розчинів лоратадину вміщували в мірні колби з притертим корком, ємністю 10,00 мл, туди ж додавали по 1,00 мл розчинів

реагенту, доводили відповідним розчинником до позначки та перемішували. Дана реакція, як і попередні, відбувалась за кімнатної температури. Абсорбцію досліджуваних речовин вимірювали на фоні компенсаційних розчинів, приготованих як описано вище для кетотифену. В результаті отримали спектри поглинання, наведені на рис. 3.7. На ньому видно, що у випадку застосування в якості розчинників ацетону, ацетонітрилу та етилацетату, на спектрах поглинання з'являються максимуми при 411 нм, метанолу – при 447 нм та хлороформу – 426 нм. Також з наведених спектрів випливає, що найчутливішою виявилась реакція, проведена у ацетоні. Оптична густина ацетонового розчину була стабільна протягом щонайменше 30 хв (рис. 3.8).

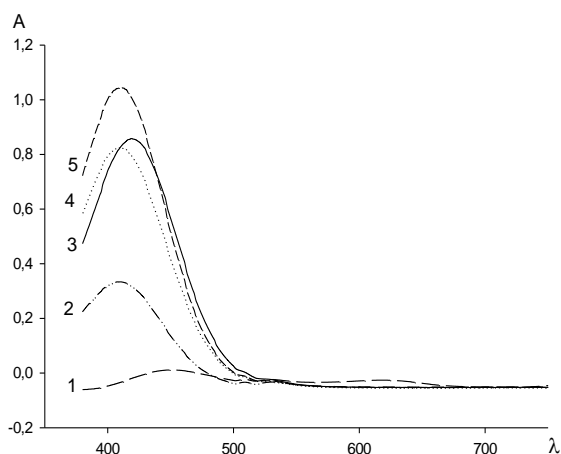


Рис. 3.7. Спектри поглинання продуктів реакції лоратадину з БКЗ у метанолі (1), етилацетаті (2), хлороформі (3), ацетонітрилі (4) та ацетоні (5)

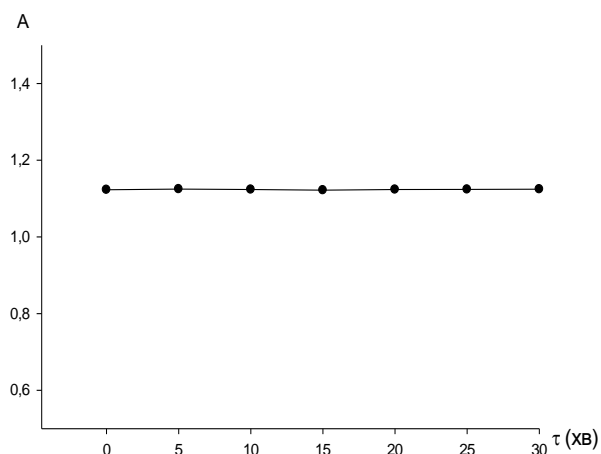


Рис. 3.8. Графік залежності оптичної густини розчину після реакції лоратадину з БКЗ в ацетоні від часу,  $\lambda_{\text{макс}} = 411 \text{ нм}$

Для дезлоратадину були отримані аналогічні результати залежності перебігу реакції від природи реакційного середовища.

В результаті проведених досліджень в якості найбільш придатного реакційного середовища для взаємодії досліджуваних речовин з сульфоталеїновими барвниками було обрано ацетон. У подальшому він



використовувався у експериментах з підбору реагенту для розробки методик кількісного визначення досліджуваних лікарських речовин.

З метою підбору оптимального реагенту для розробки методик кількісного визначення досліджуваних лікарських речовин порівнювали спектри продуктів реакції цих речовин з двократним надлишком найпоширеніших сульфоталеїнових барвників. При цьому критерієм оцінки переваги реагенту була максимальна величина оптичної густини продуктів реакції. Таким чином, готували 0,001 М розчини дифенгідраміну, зопіклону, тригексифенідилу, тіопенталу натрію, кетотифену фумарату, лоратадину та дезлоратадину. Розчини КЧ, ТС, БКП, БТС, БФЧ, БКЗ і БФС готували у концентрації 0,002 М. По 1,00 мл розчинів досліджуваних лікарських речовин вміщували в мірні колби з притертим корком, ємністю 10,00 мл, до них додавали по 1,00 мл розчину кожного з реагентів, доводили до позначки ацетоном та перемішували. Готували компенсаційні розчини розведенням розчинів відповідних реагентів ацетоном у мірних колбах з притертим корком, ємністю 10,00 мл. Абсорбцію досліджуваних речовин вимірювали на фоні компенсаційного розчину. В результаті отримані абсорбційні спектри що наведені на рис. 3.9– 3.15.

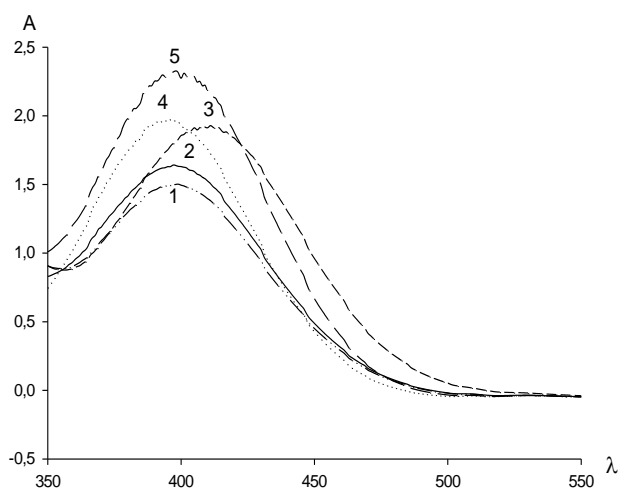


Рис. 3.9. Спектри поглинання продуктів реакції дифенгідраміну з ТС (1), КЧ (2), БКЗ (3), БТС (4), БКП (5)

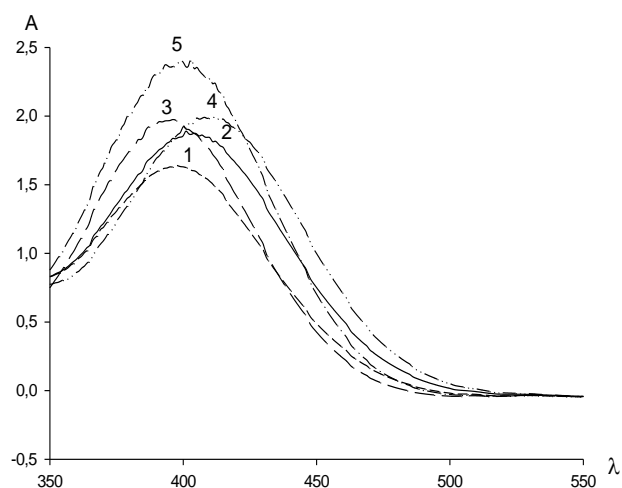


Рис. 3.10. Спектри поглинання продуктів реакції кетотифену з ТС (1), БТС (2), КЧ (3), БКЗ (4), БКП (5)

Для дифенгідраміну та кетотифену найчутливішою виявилась реакція з БКП (рис. 3.9 і 3.10), але при подальших дослідженнях не виявилось можливим встановити достатній інтервал концентрацій, у якому спостерігається пропорційна залежність оптичної густини розчину від концентрації дифенгідраміну для реакції з БКП. Тому для подальшої розробки методики кількісного визначення дифенгідраміну зупинились на наступному за чутливістю БТС, який задовольняв вимозі пропорційності вказаних величин.

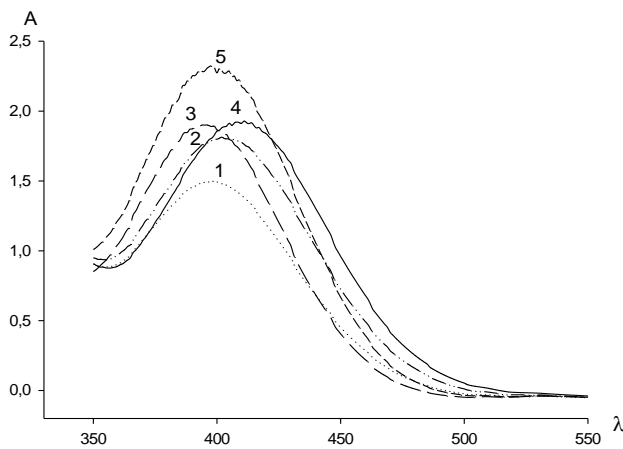


Рис. 3.11. Спектри поглинання продуктів реакції зопіклону з ТС (1), БКП (2), КЧ (3), БКЗ (4), БТС (5)

Для зопіклону максимальна чутливість спостерігалась у реакції з БТС (рис. 3.11). Для тіопенталу натрію, тригексифенідилу, лоратадину та дезлоратадину найвище значення оптичної густини зафіксували для продуктів реакції з БКЗ (рис. 3.12–3.15).

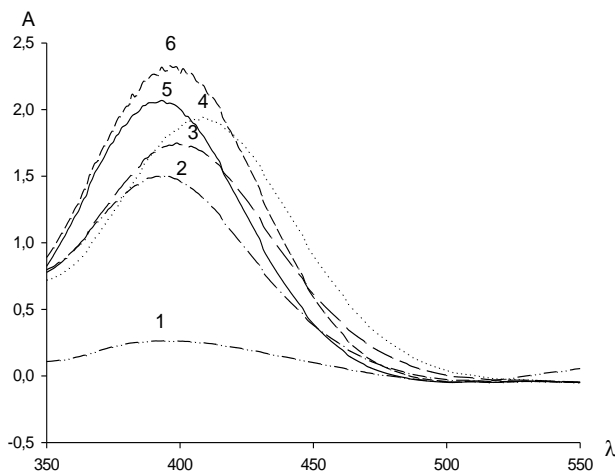


Рис. 3.12. Спектри поглинання продуктів реакції тіопенталу нарію з БФЧ (1), ТС (2), БТС (3), БКП (4), КЧ (5), БКЗ (6).

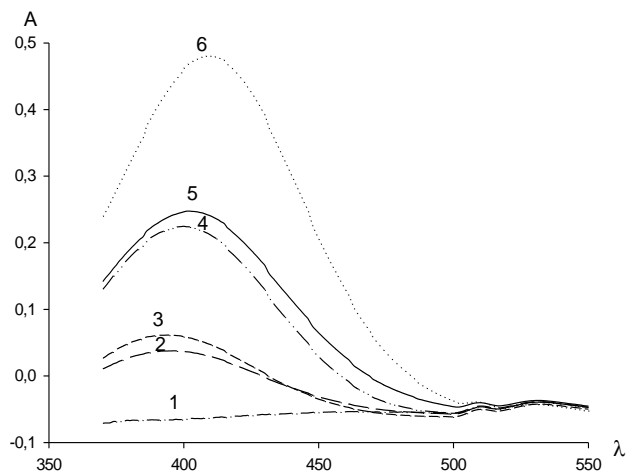


Рис. 3.13. Спектри поглинання продуктів реакції тригексифенідилу з БФЧ (1), ТС (2), БТС (3), БКП (4), БТС (5), БКЗ (6).

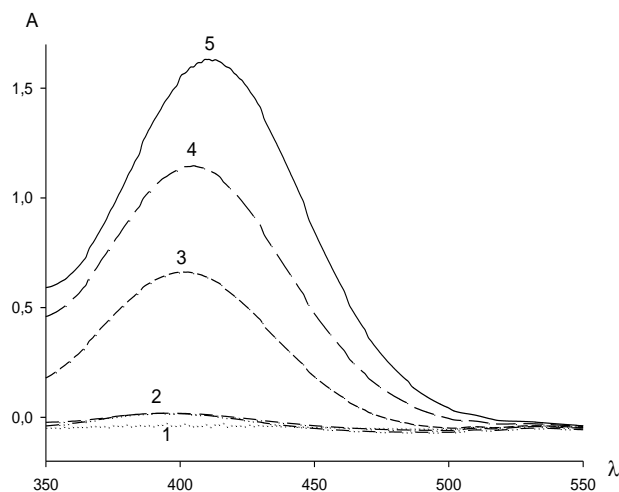


Рис. 3.14. Спектри поглинання продуктів реакції лоратадину з ТС (1), КЧ (2), БКП (3), БТС (4), БКЗ (5)

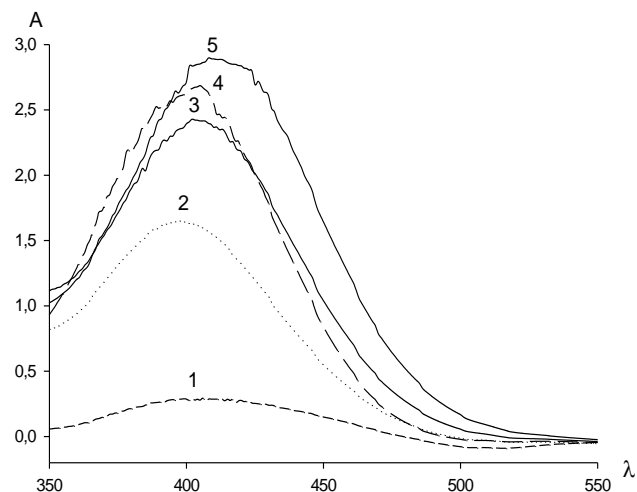


Рис. 3.15. Спектри поглинання продуктів реакції дезлоратадину з БФС (1), ТС (2), БТС (3), БКП (4), БКЗ (5)

Також в ході досліджень активності реагентів була виявлена залежність забарвлення розчину і положення максимуму на спектрі поглинання від концентрації досліджуваної речовини. Наприклад, якщо концентрація кетотифену знаходилась в межах від 0,52 до 2,15 мг/100 мл, максимум поглинання продуктів реакції з БФС знаходився при 407 нм і розчини мали жовте забарвлення (рис. 3.16).

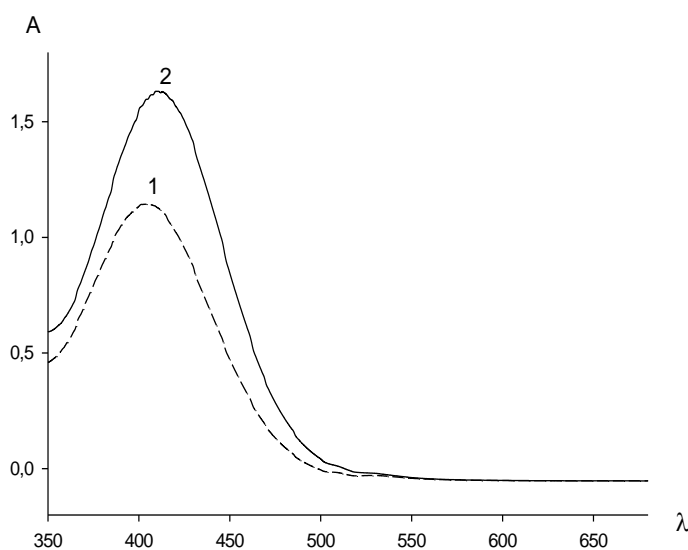


Рис. 3.16. Спектри поглинання продукту реакції кетотифену з БФС при концентраціях кетотифену 0,52 (1) та 1,64 мг/100 мл (2)

Якщо концентрація кетотифену складала від 2,16 до 2,93 мг/100 мл, на спектрі поглинання з'являвся ще один максимум поглинання за довжини хвилі 605 нм, а розчини забарвлювались у жовто-зелений колір. Крім цього, при збільшенні концентрації кетотифену у цьому діапазоні абсорбція розчину за довжини хвилі 407 нм зменшувалася, а за 603 нм – збільшувалася (рис. 3.17). У випадках, коли концентрація кетотифену сягала від 2,94 до 4,12 мг/100 мл, розчини забарвлювались у синій колір а оптична густина за 407 нм набувала від'ємних значень (рис. 3.18).

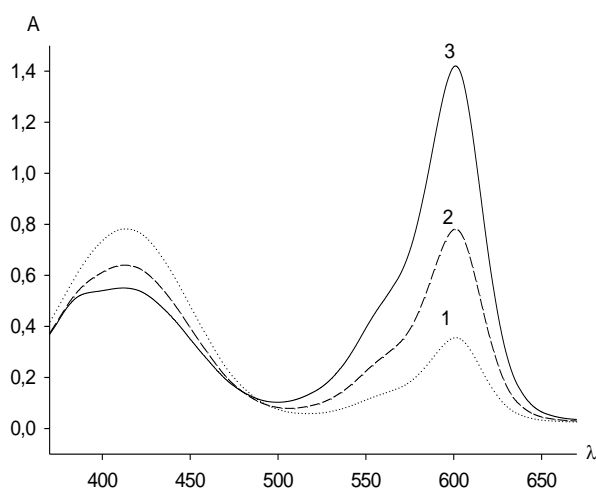


Рис. 3.17. Спектри поглинання продукту реакції кетотифену з БФС при концентраціях кетотифену 2,32 (1), 2,56 (2) та 2,85 мг/100 мл (3)

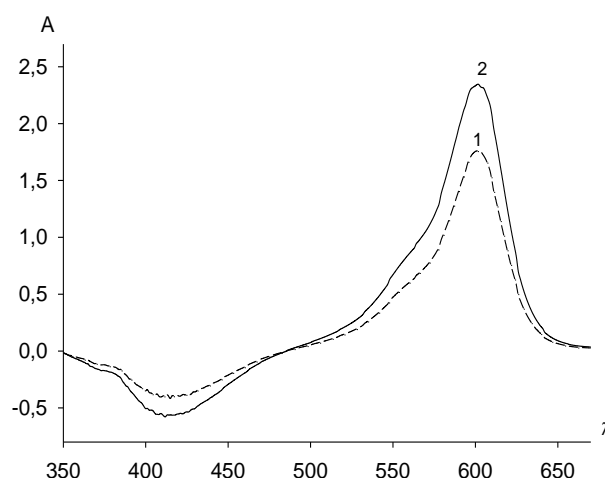


Рис. 3.18. Спектри поглинання продукту реакції кетотифену з БФС при концентраціях кетотифену 3,68 (1) та 4,12 мг/ 100 мл (2)

З літературних джерел відомо, що сульфоталеїновим барвникам властива прототропна таутомерія у розчинах [1, 192]. Спираючись на ці дані та результати описаних вище спостережень, було припущено, що результатом реакцій сульфоталеїнових барвників з досліджуваними речовинами є зміна забарвлених таутомерних форми реагентів. Оскільки всі досліджувані лікарські речовини мають у своїй структурі третинний, ароматичний або гетероциклічний атом азоту, то вони проявляють слабкоосновні властивості і зміщують іонну рівновагу в досліджуваних розчинах. Сульфоталеїнові барвники при цьому змінюють свої таутомерні

форми пропорційно зміні рН розчину. Відомо [1], що сульфофталеїнові барвники у ацетоні дисоціюють за першим ступенем з утворенням хіноїдної форми жовтого кольору (рис. 3.19, сполука С), що обумовлює слабо-жовте забарвлення таких розчинів. При додаванні до цього розчину речовин з слабо-основними властивостями, вони призводять до подальшої диссоціації сульфофталеїну за першим ступенем і збільшення інтенсивності жовтого забарвлення розчину ( $\lambda_{\max}=407$  нм). При підвищенні концентрації слабкої основи, починається диссоціація сульфофталеїну за другим ступенем внаслідок зміщення іонної рівноваги розчину, що призводить до утворення іншої таутомерної форми сульфофталеїнового барвника, забарвленої у синій колір (рис. 3.19, сполука D), що на спектрах поглинання фіксується появою другого максимуму за  $\lambda_{\max}=603$  нм (рис. 3.17).

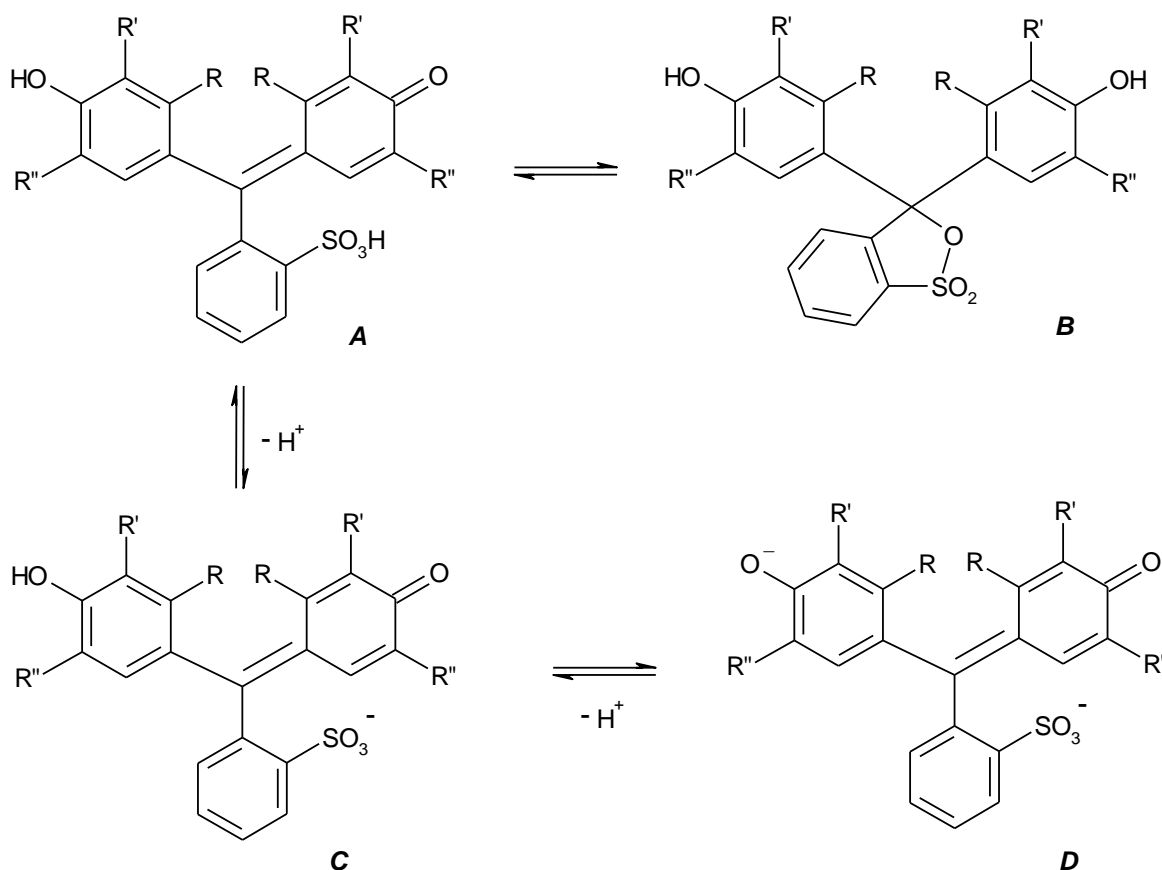


Рис. 3.19. Таутомерні форми сульфофталеїнових барвників (БФС: R=H, R'=Br, R''=Br; КЧ: R=H, R'=CH<sub>3</sub>, R''=H; ТС: R=CH<sub>3</sub>, R'=H, R''=CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)

Присутність у розчині двох форм реагенту, жовтого та синього кольору, призводить до появи зеленого відтінку розчину внаслідок змішування кольорів. Якщо концентрація кетотифену перевищує 2,95 мг/100 мл, БФС дисоціює за другим ступенем повністю, в результаті розчин забарвлюється у синій колір, що відбивається на спектрі поглинання наявністю лише одного максимуму на  $\lambda_{\max}=603$  нм (рис. 3.18).

Для інших досліджуваних речовин були отримані схожі результати при взаємодії з сульфогфталейновими барвниками.

Таким чином, спираючись на результати проведених дослідів, для подальшої розробки спектрофотометричних методик кількісного визначення, були обрані наступні сульфогфталейнові барвники та відповідні довжини хвиль поглинання: БТС для аналізу дифенгідраміну ( $\lambda_{\max}=400$  нм) та зопіклону ( $\lambda_{\max}=400$  нм); БКЗ для аналізу тригексифенідилу ( $\lambda_{\max}=410$  нм), тіопенталу натрію ( $\lambda_{\max}=408$  нм), лоратадину ( $\lambda_{\max}=411$  нм) та дезлоратадину ( $\lambda_{\max}=407$  нм); БКП для аналізу кетотифену ( $\lambda_{\max}=399$  нм).

Наступним етапом досліджень було встановлення кількості реагента, необхідної для повноти перебігу реакції. Її визначали експериментально виходячи з максимального виходу продуктів реакції і оцінювали за величиною абсорбції при обраній раніше довжині хвилі. Для цього у мірні колби з притертим корком на 10,00 вмщували розчини досліджуваних лікарських речовин та обраних раніше сульфогфталейнових барвників у таких кількостях: 1,00 мл 0,020% розчину дифенгідраміну з 1,0% розчину БТС; 1,00 мл 0,025% розчину зопіклону з 0,125% розчином БТС; 1,00 мл 0,028% розчину тригексифенідилу з 1,0% розчином БКЗ; 1,50 мл 0,008% розчину тіопенталу натрію з 0,15% розчином БКЗ; 2,00 мл 0,005% розчину кетотифену фумарату з 0,15% розчином БКП; 2,00 мл 0,011% розчину лоратадину з 0,30% розчином БКЗ; 2,00 мл 0,004 % розчину дезлоратадину з 0,20% розчином БКЗ та доводили до позначки ацетоном. Реагенти додавали по 0,50, 1,00, 1,50, 2,00, 2,50 мл. Готували компенсаційні розчини розведенням у мірних колбах з притертим корком на 10,00 мл відповідної

кількості розчину реагента. Абсорбцію вимірювали на фоні компенсаційного розчину при обраних вище довжинах хвиль. За отриманими даними будували графіки залежності величини абсорбції від кількості доданого реагенту (рис. 3.20–3.26).

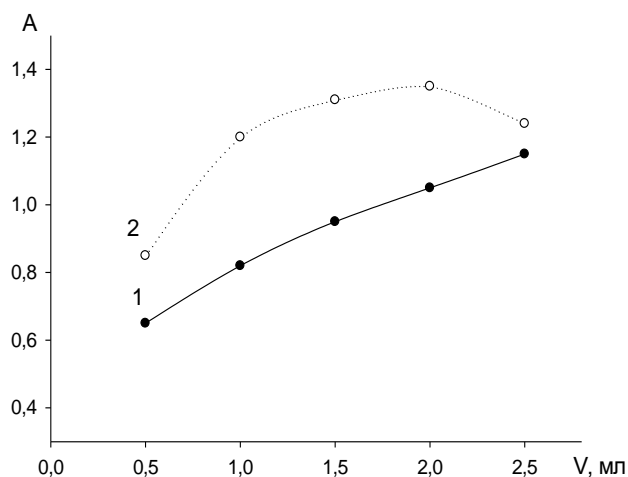


Рис. 3.20. Графік залежності абсорбції продуктів реакції дифенгідраміну від кількості доданого 1,00% (1) і 2,50% (2) розчину БТС,  $\lambda_{\text{макс}} = 400$  нм

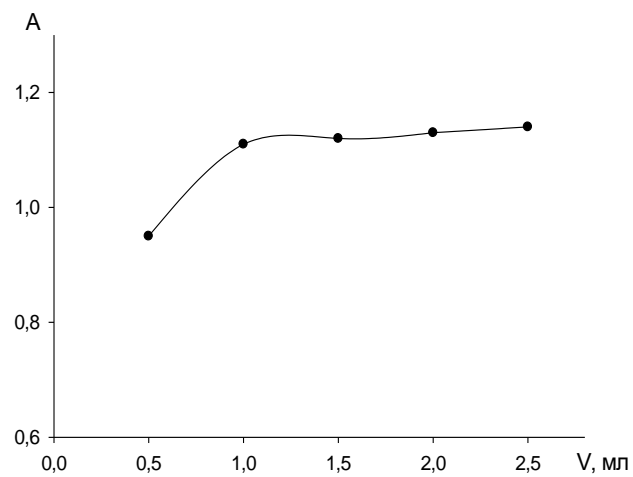


Рис. 3.21. Графік залежності абсорбції продуктів реакції зопіклону від кількості доданого БТС,  $\lambda_{\text{макс}} = 400$  нм

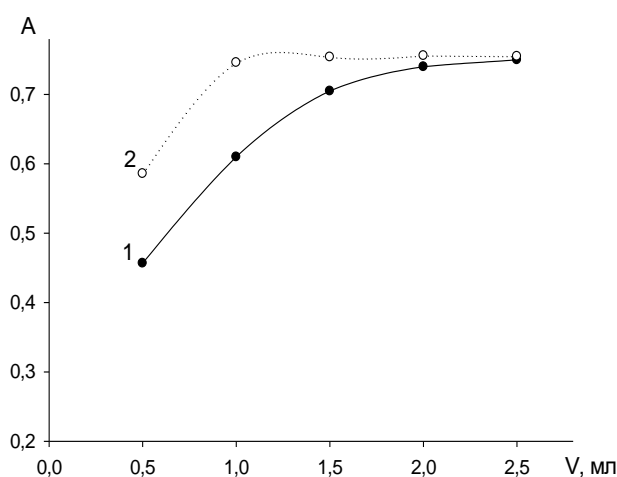


Рис. 3.22. Графік залежності абсорбції продуктів реакції тригексифенідилу від кількості доданого 1,0% (1) і 1,60% (2) розчину БКЗ,  $\lambda_{\text{макс}} = 410$  нм

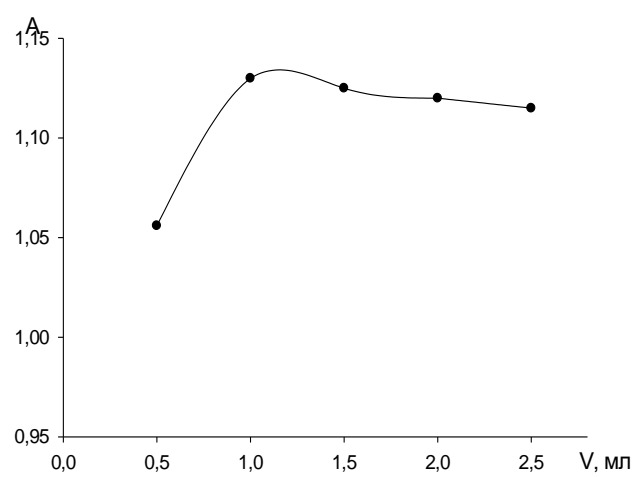


Рис. 3.23. Графіки залежності абсорбції продуктів реакції тіопенталу натрію від кількості доданого БКЗ,  $\lambda_{\text{макс}} = 408$  нм

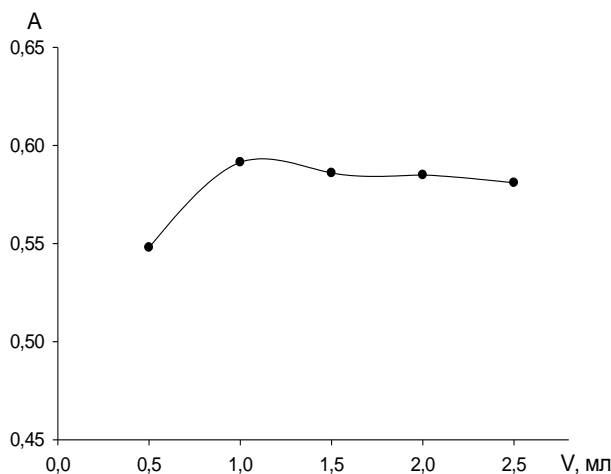


Рис. 3.24. Графік залежності абсорбції продуктів реакції кетотифену від кількості доданого БКП,  $\lambda_{\text{макс}} = 399$  нм

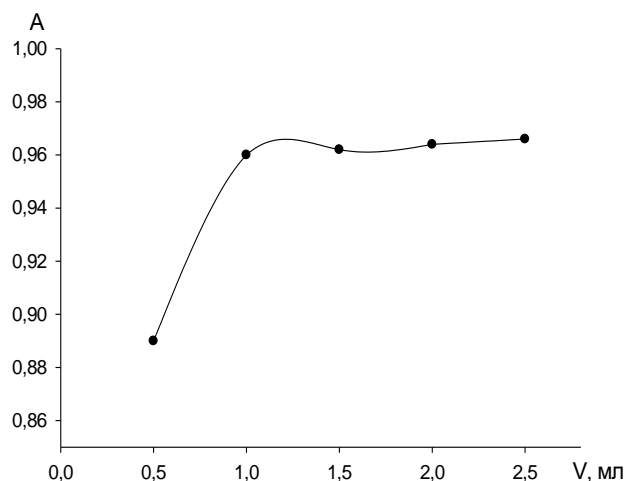


Рис. 3.25. Графіки залежності абсорбції продуктів реакції лоратадину від кількості доданого БКЗ,  $\lambda_{\text{макс}} = 411$  нм

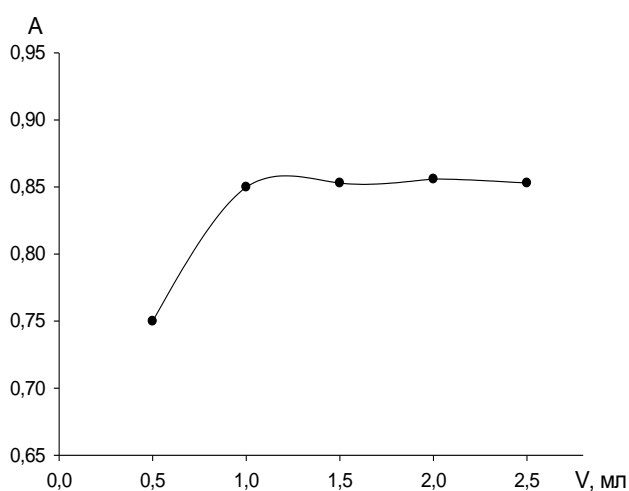


Рис. 3.26. Графік залежності абсорбції продуктів реакції дезлоратадину від кількості доданого БКЗ,  $\lambda_{\text{макс}} = 407$  нм

З наведених графіків видно, що для зопіклону, тіопенталу натрію, кетотифену, лоратадину та дезлоратадину при збільшенні об'єму доданого розчину реагенту від 1,00 до 2,50 мл не відбувається істотного збільшення оптичної густини отриманого розчину. Тому до цих речовин у подальших дослідженнях з розробки спектрофотометричних методик кількісного аналізу додавали по 1,00 мл розчину реагенту відповідної

концентрації. Що ж до дифенгідраміну та тригексифенідилу, то при додаванні до їх розчинів 1,00% розчину БТС та БКЗ відповідно від 1,00 до 2,50 мл, величина абсорбції продуктів реакції зростала (рис. 3.20 (1), 3.22 (1)). У випадку дифенгідраміну зростання абсорбції відбувалось стрімкіше за



абсорбцію продуктів реакції тригексифенідилу. Тому експеримент для цих речовин був повторений з 2,50% розчином БТС для дифенгідраміну і з 1,60 % розчином БКЗ для тригексифенідилу. В результаті для дифенгідраміну максимум було досягнуто при додаванні 2,00 мл 2,50% розчину реагенту (рис. 3.20 (2)), а для тригексифенідилу – 1,00 мл 1,60% (рис. 3.22 (2)).

Стабільність продуктів взаємодії досліджуваних лікарських речовин з обраними сульфоталеїновими барвниками у ацетоновому розчині досліджували шляхом вимірювання оптичної густини отриманих розчинів протягом години з інтервалом 10 хв. Для прикладу наводимо графіки залежності абсорбції отриманих розчинів після реакції дифенгідраміну з БТС рис. 3.27 та кетотифену з БКП рис. 3.28.

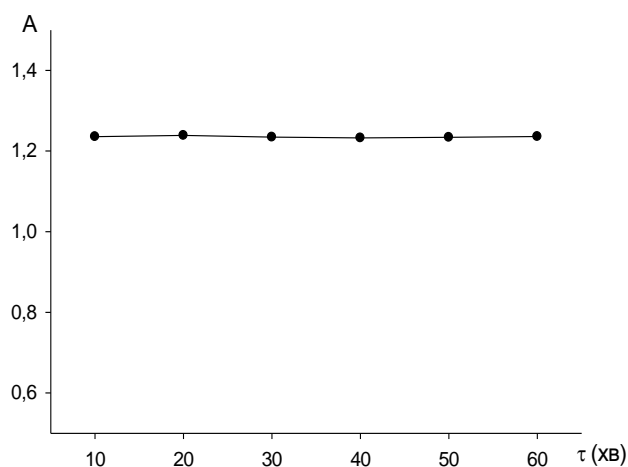


Рис. 3.27. Графік залежності абсорбції продуктів реакції дифенгідраміну з БТС від часу,  $\lambda_{\text{макс}} = 400 \text{ нм}$

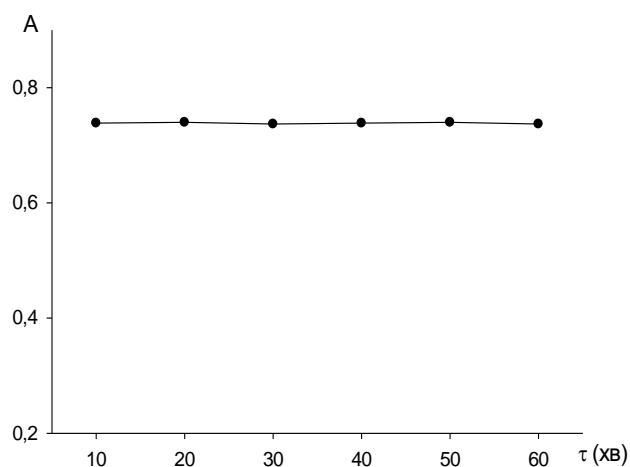


Рис. 3.28. Графіки залежності абсорбції продуктів реакції кетотифену з БКП від часу,  $\lambda_{\text{макс}} = 399 \text{ нм}$

З наведених графіків випливає, що склад продуктів реакції дифенгідраміну з БТС та кетотифену з БКП не змінюється щонайменше протягом однієї години.

Аналогічні результати були отримані при вивченні стабільності продуктів реакцій інших досліджуваних речовин з обраними сульфоталеїновими барвниками.

Таким чином встановлено, що на величину абсорбції продуктів реакції досліджуваних лікарських речовинами з сульфоталеїновими барвниками впливає природа розчинника, природа та кількість реагента, час. Спираючись на отримані в ході експериментів дані, розроблено загальні методики визначення дифенгідраміну, зопіклону, тригексифенідилу, тіопенталу натрію, кетотифену, лоратадину і дезлоратадину, що наведені нижче.

**Дифенгідрамін.** Приготування досліджуваного розчину: точну наважку дифенгідраміну (0,0200 г) вносять до мірної колби з притертим корком ємністю 100,0 мл, розчиняють у 1,00 мл води, доводять ацетоном до позначки та перемішують. 1,00 мл одержаного розчину переносять у мірну колбу з притертим корком ємністю 10,00 мл, додають 2,00 мл 2,50% розчину БТС у ацетоні, доводять до позначки ацетоном та перемішують. Приготування компенсаційного розчину: 1,00 мл 1,00% розчину води в ацетоні переносять у мірну колбу з притертим корком ємністю 10,00 мл, додають 2,00 мл 2,50% розчину БТС у ацетоні, доводять до позначки ацетоном та перемішують. Абсорбцію досліджуваного розчину вимірюють на фоні компенсаційного розчину за аналітичної довжини хвилі 400 нм на спектрофотометрі в кюветі з товщиною шару 1 см.

**Зопіклон.** Приготування досліджуваного розчину: точну наважку зопіклону (0,0250 г) вносять до мірної колби з притертим корком ємністю 100,0 мл, розчиняють у ацетоні, доводять ацетоном до позначки та перемішують. 1,00 мл одержаного розчину переносять у мірну колбу з притертим корком ємністю 10,00 мл, додають 1,00 мл 0,124% розчину БКЗ у ацетоні, доводять до позначки ацетоном та перемішують. Приготування компенсаційного розчину: 1,00 мл 0,124% розчину БКЗ у ацетоні переносять у мірну колбу ємністю з притертим корком 10,00 мл, доводять до позначки ацетоном та перемішують. Абсорбцію досліджуваного розчину вимірюють на фоні компенсаційного розчину за аналітичної довжини хвилі 400 нм на спектрофотометрі в кюветі з товщиною шару 1 см.

Тригексифенідил. Приготування досліджуваного розчину: точну наважку тригексифенідилу (0,0280 г) вносять до мірної колби з притертим корком ємністю 100,0 мл, розчиняють у 1,00 мл етанолу, доводять ацетоном до позначки та перемішують. 1,00 мл одержаного розчину переносять у мірну колбу з притертим корком ємністю 10,00 мл, додають 1,00 мл 1,60% розчину БКЗ у ацетоні, доводять до позначки ацетоні та перемішують. Готують компенсаційний розчин: 1,00 мл 1,00% розчину етанолу в ацетоні переносять у мірну колбу ємністю з притертим корком 10,00 мл, додають 1,00 мл 1,60% розчину БКЗ у ацетоні, доводять до позначки ацетоном та перемішують. Абсорбцію досліджуваного розчину вимірюють на фоні компенсаційного розчину за аналітичної довжини хвилі 410 нм на спектрофотометрі в кюветі з товщиною шару 1 см.

Тіопентал натрію. Приготування досліджуваного розчину: точну наважку тіопенталу натрію (0,0200 г) вносять до мірної колби з притертим корком ємністю 250,0 мл, розчиняють у ацетоні, доводять ацетоном до позначки та перемішують. 1,50 мл одержаного розчину переносять у мірну колбу з притертим корком ємністю 10,00 мл, додають 1,00 мл 0,15% розчину БКЗ у ацетоні, доводять до позначки ацетоном та перемішують. Приготування компенсаційного розчину: 1,00 мл 0,15% розчину БКЗ у ацетоні переносять у мірну колбу з притертим корком ємністю 10,00 мл, доводять до позначки ацетоном та перемішують. Абсорбцію досліджуваного розчину вимірюють на фоні компенсаційного розчину за аналітичної довжини хвилі 408 нм на спектрофотометрі в кюветі з товщиною шару 1 см.

Кетотифен. Приготування досліджуваного розчину: точну наважку кетотифену фумарату (0,0125 г) вносять до мірної колби з притертим корком ємністю 250,0 мл, розчиняють у ацетоні, доводять ацетоном до позначки та перемішують. 2,00 мл одержаного розчину переносять у мірну колбу з притертим корком ємністю 10,00 мл, додають 1,00 мл 0,15% розчину БКП у ацетоні, доводять до позначки ацетоном та перемішують. Приготування компенсаційного розчину: 1,00 мл 0,15% розчину БКП у ацетоні переносять у

мірну колбу з притертим корком ємністю 10,00 мл, доводять до позначки ацетоном та перемішують. Абсорбцію досліджуваного розчину вимірюють на фоні компенсаційного розчину за аналітичної довжини хвилі 399 нм на спектрофотометрі в кюветі з товщиною шару 1 см.

Лоратадин. Приготування досліджуваного розчину: точну наважку лоратадину (0,0110 г) вносять до мірної колби з притертим корком ємністю 100,0 мл, розчиняють у ацетоні, доводять ацетоном до позначки та перемішують. 2,00 мл одержаного розчину переносять у мірну колбу з притертим корком ємністю 10,00 мл, додають 1,00 мл 0,30% розчину БКЗ у ацетоні, доводять до позначки ацетоном та перемішують. Приготування компенсаційного розчину: 1,00 мл 0,30% розчину БКЗ у ацетоні переносять у мірну колбу з притертим корком ємністю 10,00 мл, доводять до позначки ацетоном та перемішують. Абсорбцію досліджуваного розчину вимірюють на фоні компенсаційного розчину за аналітичної довжини хвилі 411 нм на спектрофотометрі в кюветі з товщиною шару 1 см.

Дезлоратадин. Приготування досліджуваного розчину: точну наважку дезлоратадину (0,0100 г) вносять до мірної колби з притертим корком ємністю 250,0 мл, розчиняють у ацетоні, доводять ацетоном до позначки та перемішують. 2,00 мл одержаного розчину переносять у мірну колбу з притертим корком ємністю 10,00 мл, додають 1,00 мл 0,20% розчину БКЗ у ацетоні, доводять до позначки ацетоном та перемішують. Приготування компенсаційного розчину: 1,00 мл 0,15% розчину БКЗ у ацетоні переносять у мірну колбу з притертим корком ємністю 10,00 мл, доводять до позначки ацетоном та перемішують. Абсорбцію досліджуваного розчину вимірюють на фоні компенсаційного розчину за аналітичної довжини хвилі 407 нм на спектрофотометрі в кюветі з товщиною шару 1 см.

Основні величини оптимальних умов перебігу реакцій досліджуваних лікарських речовин з сульфогфталейновими барвниками наведені у табл. 3.1.

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

Лікарська речовина	Об'єм* (мл) і концентрація вихідного розчину (розчинник)	Об'єм* (мл) і концентрація вихідного розчину реагента (розчинник)	$\lambda_{\max}$ , нм
1	2	3	4
<b>Реагент БТС</b>			
Дифенгідрамін	1,00 мл, 0,020% (ацетон + 1,0% води)	2,00 мл, 2,50% (ацетон)	400
Зопіклон	1,00 мл, 0,025% (ацетон)	1,00 мл, 0,125% (ацетон)	400
<b>Реагент БКЗ</b>			
Тригексифенідил	1,00 мл, 0,028% (ацетон + 1,0% етанолу)	1,00 мл, 1,60% (ацетон)	410
Тіопентал натрію	1,50 мл, 0,008% (ацетон)	1,00 мл, 0,15% (ацетон)	408
Лоратадин	2,00 мл, 0,011% (ацетон)	1,00 мл, 0,30% (ацетон)	411
Дезлоратадин	2,00 мл, 0,004% (ацетон)	1,00 мл, 0,20% (ацетон)	407
<b>Реагент БКП</b>			
Кетотифен	2,00 мл, 0,005% (ацетон)	1,00 мл, 0,15% (ацетон)	399

Примітка.\* – Для мірних колб ємністю 10,00 мл

### 3.2. Вивчення оптимальних умов реакцій взаємодії сульфоталейнових барвників з мебгідроліном

Мібгідролін нерозчинний у більшості органічних розчинників, тому, з метою розробки спектрофотометричної методики його кількісного

визначення за реакцією з сульффталеїновими барвниками, для його переведення у розчин, була застосована стандартна процедура переекстракції з лужного водного розчину до органічних розчинників, що не змішуються з водою [189].

За літературними даними [192], сульффталеїнові барвники в органічних розчинниках можуть існувати в двох таутомерних формах – хіноїдній (рис. 3.29, сполука А) та сультоновій (рис. 3.29, сполука В), між якими встановлюється обумовлена природою розчинника динамічна рівновага.

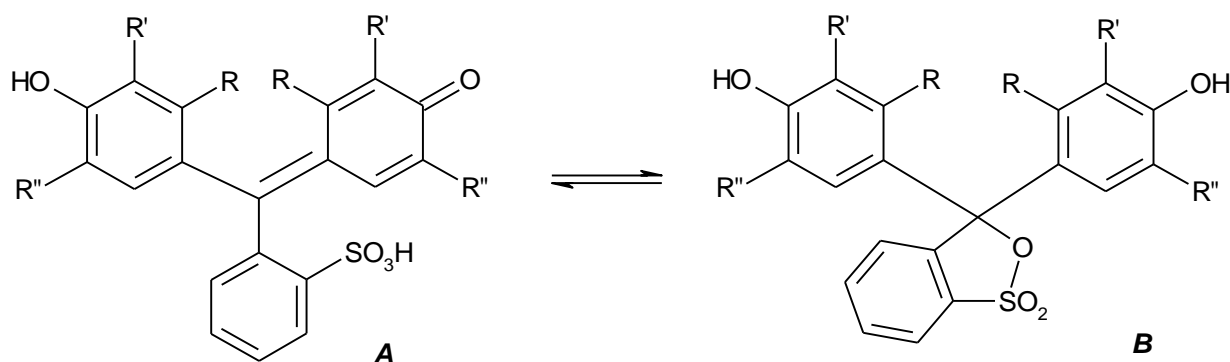


Рис. 3.29. Таутомерні форми сульффталеїнових барвників в органічних розчинниках (БТС: R=CH<sub>3</sub>, R'=Br, R''=CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>; БКП: R= H, R'= CH<sub>3</sub>, R''=Br; БКЗ: R=CH<sub>3</sub>, R'=Br, R''=Br)

Присутність в молекулах сульффталеїнових барвників рухомого протону обумовлює їх здатність вступати у реакції з молекулами лікарських речовин, що, мають надлишок електронної густини на атомі азоту, з утворенням іонних асоціатів [37–44].

Порівнюючи виміряні в ході досліджень спектри поглинання розчинів сульффталеїнових барвників та продуктів їх взаємодії з мебгідроліном у середовищі хлороформу, спостерігався зсув максимуму поглинання продукту реакції відносно максимуму поглинання реагента (рис. 3.30, 3.31). Це може свідчити про утворення між реагуючими речовинами нової іон-асоціатної

сполуки, яка має жовте або жовто-оранжеве забарвлення і максимально поглинає за довжини хвилі, відмінної від такої для самих реагентів.

В ході подальших експериментів було вивчено вплив на перебіг реакції таких факторів як природа та склад розчинника, природа та кількість реагентів, швидкість перебігу реакцій та стійкість продуктів реакції у часі.

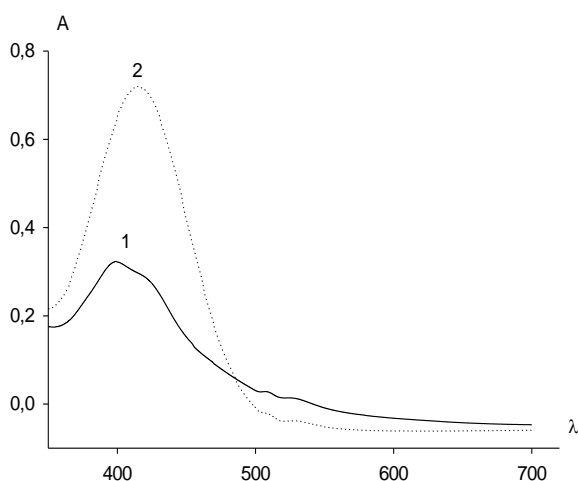


Рис. 3.30. Спектри поглинання БКЗ (1) –  $\lambda_{\max}$  399 нм, і продукту реакції БКЗ з мебгідроліном (2) –  $\lambda_{\max}$  415 нм

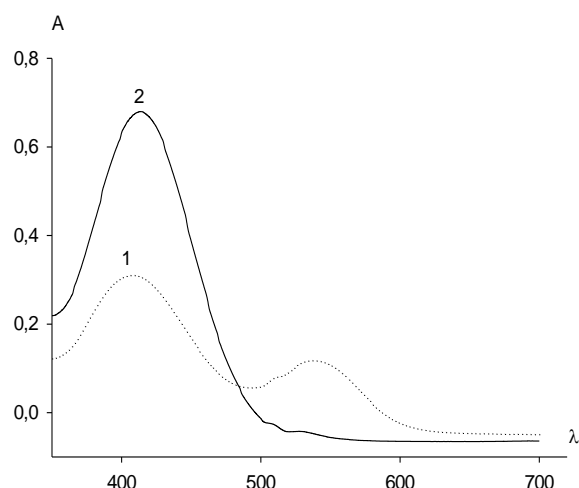


Рис. 3.31. Спектри поглинання БТС (1) –  $\lambda_{\max}$  408 нм, і продукту реакції БТС з мебгідроліном (2) –  $\lambda_{\max}$  412 нм

Для вивчення впливу природи реакційного середовища на перебіг реакції мебгідроліну з сульфоталеїнівими барвниками на прикладі БТС, проводили реакцію між мебгідроліном та трикратним мольним надлишком реагенту у таких розчинниках: хлороформ, етилацетат, бензол та диетиловий ефір. В ході дослідження по 1,00 мл 0,0007 М (0,02 %) розчину мебгідроліну та 0,002 М розчину БТС у кожному розчиннику вміщували в мірні колби з притертим корком ємністю 10,00 мл, доводили відповідним розчинником до позначки та перемішували. Абсорбцію досліджуваних речовин вимірювали на фоні компенсаційних розчинів, що не містили мебгідроліну. В результаті отримали спектри поглинання наведені на рис. 3.32. На ньому видно, що у випадку застосування в якості розчинників хлороформу та диетилового ефіру, на спектрах поглинання з'являються максимуми при 412 нм, бензолу

– при 407 нм, та етилацетату – 401 нм. Також з наведених спектрів випливає, що найчутливішою виявилась реакція, проведена у хлороформі. Оптична густина продукту реакції була стабільна протягом щонаменше 30 хв (рис. 3.33).

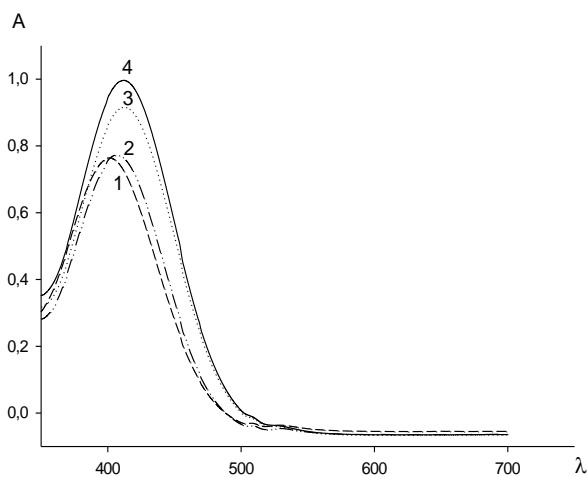


Рис. 3.32 Спектри поглинання продуктів реакції меггідроліну з БТС у етилацетаті (1), бензолі (2), диетиловому ефірі (3), хлороформі (4) та ацетоні (5)

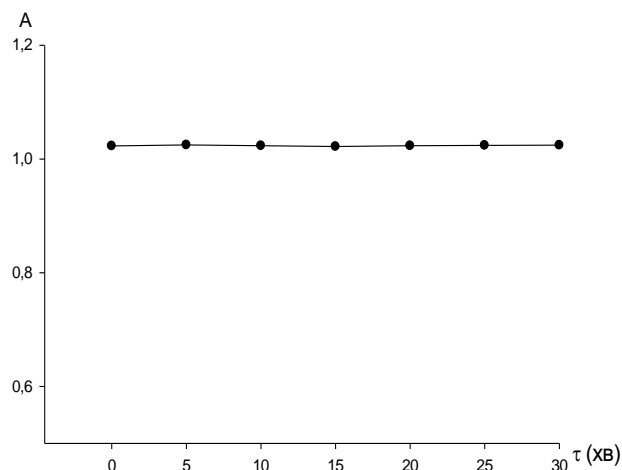


Рис. 3.33 Графік залежності оптичної густини розчину після реакції меггідроліну з БТС в хлороформі від часу,  $\lambda_{\text{макс}} = 412$  нм

В результаті проведених досліджень в якості найбільш придатного реакційного середовища для взаємодії меггідроліну з сульфоталеїновими барвниками було обрано хлороформ. У подальшому він використовувався у експериментах з підбору реагенту для розробки методики кількісного визначення.

З метою підбору оптимального реагента для взаємодії з меггідроліном, порівнювали спектри продуктів його з трикратним надлишком найпоширеніших сульфоталеїнових барвників. Таким чином, готували 0,0007 М (0,02 %) розчини меггідроліну та 0,002 М розчини БКП, БТС та БКЗ у хлороформі. По 1,00 мл розчину досліджуваної речовини вміщували в мірні колби з притертим корком ємністю 10,00 мл, до них додавали по 1,00 мл розчину кожного з реагентів, доводили до позначки хлороформом та



перемішували. Абсорбцію досліджуваних рочинів вимірювали на фоні компенсаційних розчинів, що не містили мебгідроліну. В результаті отримані спектри що наведені на рис. 3.34.

Найчутливішою виявилась реакція з БКП, але при подальших дослідженнях не виявилось можливим встановити достатній інтервал концентрацій, у якому спостерігається підпорядкування оптичної густини розчину закону Бера. Наступною за чутливістю виявилась реакція з БКЗ, але через повільну та низьку розчинність у обраному розчиннику – хлороформі, його було відкинуто. Тому для подальшої розробки методики кількісного визначення мебгідроліну зупинились на БТС, що за чутливістю майже не поступався БКЗ.

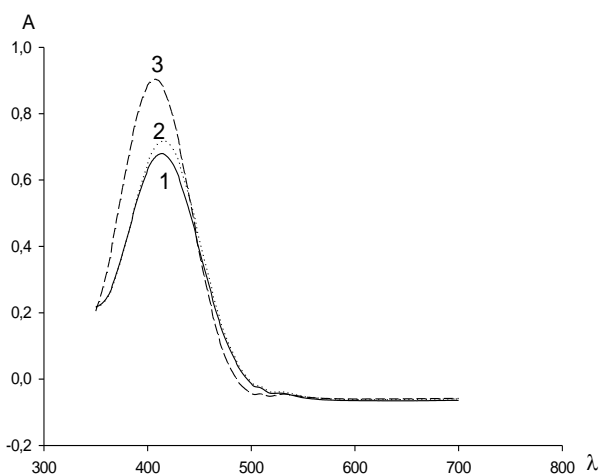


Рис. 3.34. Спектри поглинання продуктів реакції мебгідроліну з БТС (1), БКЗ (2), БКП (3)

На наступному етапі досліджень було встановлено кількість реагенту, необхідну для повноти перебігу реакції. Її визначали експериментально, виходячи з максимального виходу продуктів реакції і оцінювали за величиною абсорбції. Для цього 1,00 мл 0,0007 М (0,02%) розчину мебгідроліну у хлороформі у мірних колбах з притертим корком на 10,00 змішували з різними об'ємами 0,002

М розчину БТС, доводили до позначки хлороформом та перемішували. Абсорбцію вимірювали на фоні компенсаційних розчинів, які не містили мебгідроліну. Отримані дані у вигляді графіка залежності величини абсорбції від кількості доданого реагенту наведені на рис. 3.35. З нього видно, що величина абсорбції продуктів реакції зростала. Тому експеримент був повторений з 0,01 М (0,6%) розчином БТС. В результаті максимум було досягнуто при додаванні 1,00 мл розчину реагенту (рис. 3.36).

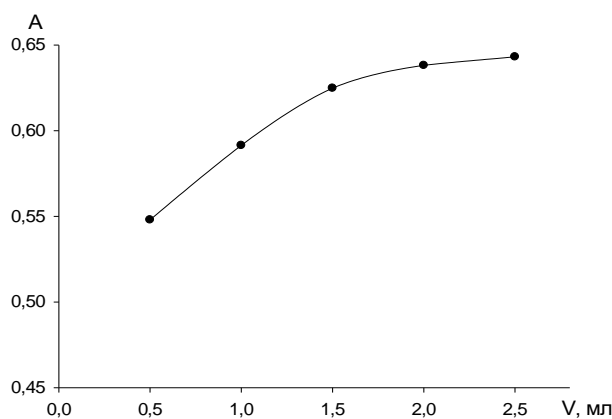


Рис. 3.35. Графік залежності абсорбції продуктів реакції мебгідроліну від кількості доданого 0,002 М розчину БТС,  $\lambda_{\text{макс}} = 412$  нм

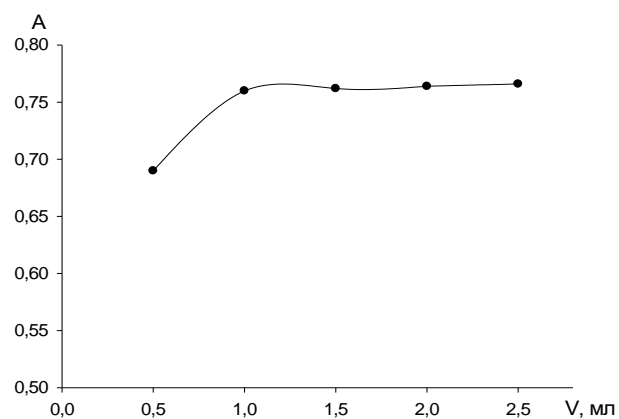


Рис. 3.36. Графік залежності абсорбції продуктів реакції мебгідроліну від кількості доданого 0,01 М розчину БТС,  $\lambda_{\text{макс}} = 412$  нм

Спираючись на отримані в ході експериментів дані, розроблено наступну загальну методику визначення мебгідроліну.

Приготування досліджуваного розчину: точну наважку мебгідроліну (0,0100 г) вносять до ділильної лійки з притертим корком ємністю 50 мл, розчиняють у 1 мл 0,5 М гідроксиду натрію, додають 10,00 хлороформу, струшують протягом 1 хв, витримують 10 хв, відділяють хлороформний шар та фільтрують його крізь паперовий фільтр «синя стрічка», відкидаючи перші порції фільтрату. 5,00 мл одержаного розчину переносять у мірну колбу з притертим корком ємністю 25,00 мл, доводять хлороформом до позначки та перемішують. 1,00 мл одержаного розчину переносять у мірну колбу з притертим корком ємністю 10,00 мл, додають 1,00 мл 0,60 % розчину БТС у хлороформі, доводять хлороформом до позначки та перемішують.

Приготування компенсаційного розчину: 1 мл 0,5 М гідроксиду натрію вносять до ділильної воронки ємністю 50 мл, додають 10,00 хлороформу, струшують протягом 1 хв, витримують 10 хв, відділяють хлороформний шар та фільтрують його крізь паперовий фільтр «синя стрічка», відкидаючи перші порції фільтрату. 5,00 мл одержаного розчину переносять у мірну колбу з притертим корком ємністю 25,00 мл, доводять хлороформом до позначки та перемішують. 1,00 мл одержаного розчину переносять у мірну колбу з

притертим корком ємністю 10,00 мл, додають 1,00 мл 0,60 % розчину БТС у хлороформі, доводять хлороформом до позначки та перемішують. Абсорбцію досліджуваного розчину вимірюють на фоні компенсаційного розчину за аналітичної довжини хвилі 412 нм на спектрофотометрі в кюветі з товщиною шару 1 см.

### 3.3 Встановлення чутливості реакцій досліджуваних лікарських речовин з сульфоталеїновими барвниками

З метою визначення чутливості обраних реакцій було виміряно спектри поглинання продуктів взаємодії досліджуваних лікарських речовин з сульфоталеїновими барвниками за оптимальних умов, встановлених раніше та описаних в розд. 3.1, 3.2. З отриманих величин абсорбції було розраховано показники чутливості даних реакцій за формулами (2.2–2.5). Результати проведених розрахунків наведено у табл. 3.2.

Таблиця 3.2

#### Аналітичні показники чутливості реакцій досліджуваних лікарських речовин з сульфоталеїновими барвниками

Лікарська речовина	$\lambda_{\max}$ , нм	$\epsilon$	a	$W_s$	$C_{\min}$ , мкг/мл
За реакцією з БТС					
Дифенгідрамін	400	$6,47 \cdot 10^3$	0,0555	0,0451	0,71
Зопіклон	400	$1,40 \cdot 10^4$	0,0454	0,0278	1,4
Мебгідролін	412	$1,27 \cdot 10^4$	0,0457	0,0218	1,1
За реакцією з БКЗ					
Тригексифенідил	410	$9,08 \cdot 10^3$	0,0302	0,0331	1,7
Тиопентал натрію	408	$1,92 \cdot 10^4$	0,0849	0,0118	0,59
Лоратадин	411	$1,97 \cdot 10^4$	0,0514	0,0194	0,97
Дезлоратадин	407	$3,28 \cdot 10^4$	0,1055	0,0095	0,47
За реакцією з БКП					
Кетотифен	399	$2,42 \cdot 10^4$	0,0685	0,0129	0,74

З табл.3.2 видно, що молярні коефіцієнти поглинання мають високі значення, а відкривані мінімуми мають низькі значення. Цей факт свідчить про високу чутливість реакцій досліджуваних лікарських речовин з сульфоталеїновими барвниками.

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

Вивчення стехіометричних співвідношень реагуючих речовин в обраних реакціях проводилось на прикладі дифенгідраміну, зопіклону, мебгідроліну та тригексифенідилу найбільш поширеними методами: методом ізомолярних серій (неперервних змін), методом молярних співвідношень (насичення) та методом відносного виходу (Старіка-Барбанеля) [191]. Ці методи ґрунтуються на поєднанні закону діючих мас та основного закону світлопоглинання. В ході експерименту визначали абсорбцію серій розчинів, отриманих змішуванням розчинів досліджуваних лікарських речовин з розчинами відповідних сульфоталеїнових барвників у різних молярних співвідношеннях та встановлювали залежність оптичної густини продуктів реакції від молярних співвідношень реагуючих речовин.

Метод ізомолярних серій полягає у визначенні співвідношення ізомолярних концентрацій реагуючих речовин, що призводить до максимального виходу продукту реакції  $M_mR_n$ . Для проведення дослідження готували розчини досліджуваних лікарських речовин та відповідних сульфоталеїнових барвників з однаковими молярними концентраціями, а потім змішували їх в антибатних співвідношеннях (від 1:9 до 9:1). При цьому сумарна кількість молей реагуючих речовин у постійному об'ємі залишалася незмінною. Проводили досліджувані реакції в оптимальних умовах, обраних раніше. Оптичну густину отриманих розчинів вимірювали за аналітичної довжини хвилі, обраної раніше. За отриманими даними будували графіки залежності величини абсорбції продуктів реакції від молярного

співвідношення реагуючих речовин ізомолярної серії. Отримані графіки мають вигляд кривої з максимумом абсорбції, який відповідає співвідношенню компонентів, що призводить до максимального виходу забарвленого продукту реакції при даній сумарній кількості молей реагуючих компонентів. Нижче наводимо графіки залежності абсорбції продуктів реакції від молярного співвідношення БТС:дифенгідрамін (рис. 3.37), БТС:зопіклон (рис. 3.38), БТС:мебгідроліну (рис. 3.39) та БКЗ:тригексифенідил (рис. 3.40).

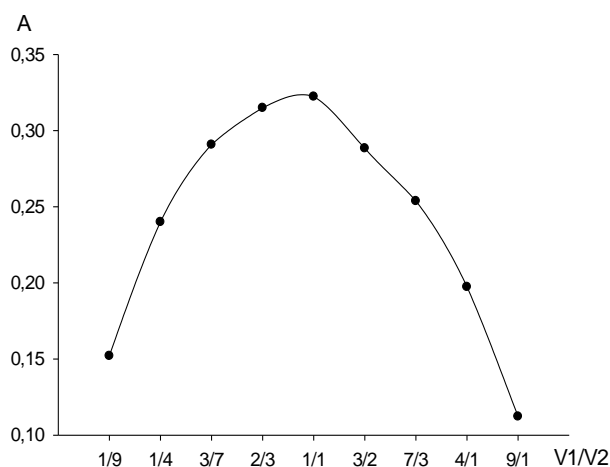


Рис. 3.37. Графік залежності абсорбції від співвідношення компонентів ізомолярного розчину ( $V_1$  – об’єм розчину БТС,  $V_2$  – об’єм розчину дифенгідраміну),  $\lambda_{\text{макс}} = 400$  нм

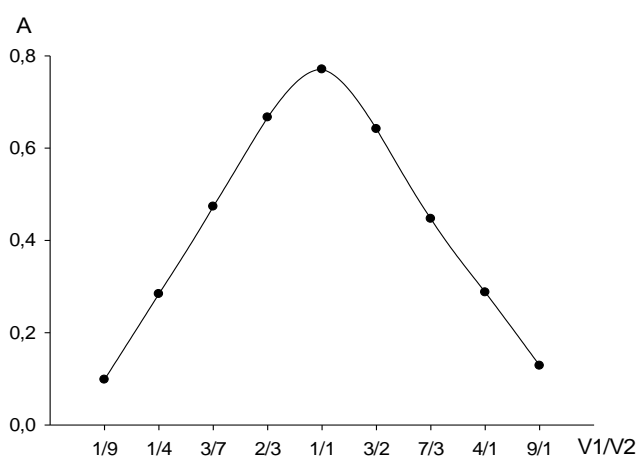


Рис. 3.38. Графік залежності абсорбції від співвідношення компонентів ізомолярного розчину ( $V_1$  – об’єм розчину БТС,  $V_2$  – об’єм розчину зопіклону),  $\lambda_{\text{макс}} = 400$  нм

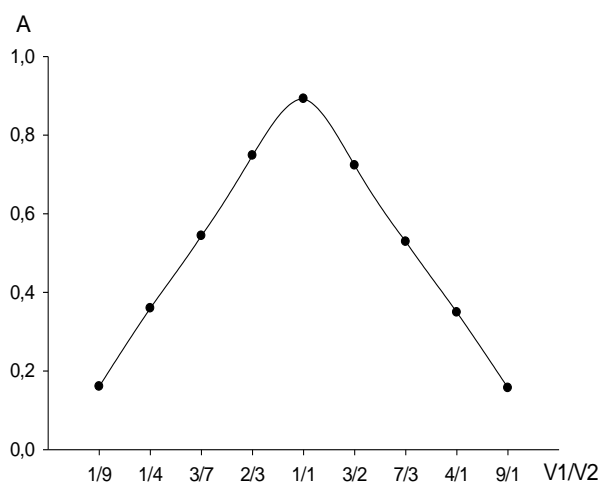


Рис. 3.39. Графік залежності абсорбції від співвідношення компонентів ізомолярного розчину ( $V_1$  – об’єм розчину БТС,  $V_2$  – об’єм розчину мебгідроліну),  $\lambda_{\text{макс}} = 412$  нм

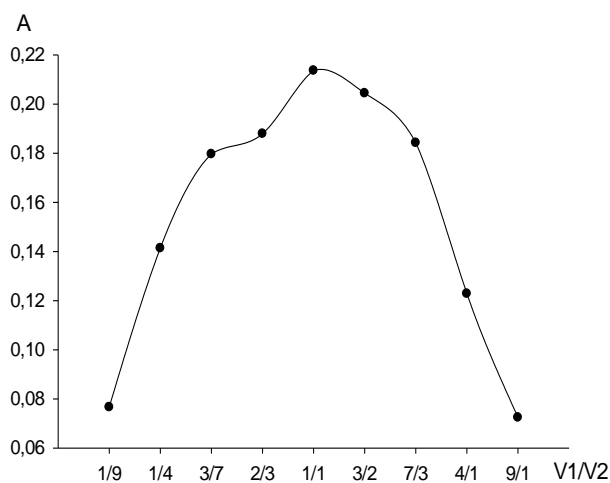


Рис. 3.40. Графік залежності абсорбції від співвідношення компонентів ізомолярного розчину ( $V_1$  – об’єм розчину БКЗ,  $V_2$  – об’єм розчину тригексифенідилу),  $\lambda_{\text{макс}} = 410$  нм

Як видно з наведених графіків, максимальний вихід продуктів реакції спостерігається при молярному співвідношенні реагуючих речовин 1:1.

Метод насичення полягає у встановленні залежності величини абсорбції від кількості молей однієї з реагуючих речовин при постійній кількості молей іншої реагуючої речовини і навпаки [191].

Таким чином, дослідження даним методом проводили в два етапи. Спочатку готували розчини досліджуваних лікарських речовин та

відповідних сульффталеїнових барвників з однаковими молярними концентраціями. На першому етапі у мірні колби ємністю 10,00 мл вміщували 0,20; 0,40; 0,60; 0,80; 1,00; 1,20; 1,40; 1,60; 1,80 та 2,00 мл розчину лікарської речовини і до кожної колби додавали по 1,00 мл розчину відповідного реагента, доводили до позначки відповідним розчинником та ретельно перемішували. Абсорбцію вимірювали за аналітичної довжини хвилі на фоні компенсаційного розчину розчину. За отриманими даними будували графік залежності абсорбції продуктів реакції від кількості доданого розчину лікарської речовини. На другому етапі у мірні колби з притертим корком ємністю 10,00 мл вміщували по 1,00 мл розчину лікарської речовини, додавали до нього 0,20; 0,40; 0,60; 0,80; 1,00; 1,20; 1,40; 1,60; 1,80 та 2,00 мл відповідного реагента, доводили до мітки відповідним розчинником та ретельно перемішували. Для кожного отриманого розчину готували компенсаційний розчин розведенням у мірній колбі з притертим корком ємністю 10,00 мл до мітки відповідної кількості реагента. За отриманими даними будували графік залежності абсорбції продуктів реакції від кількості доданого розчину реагента. Побудовані графіки мають вигляд кривої, на якій точка перегину відповідає такій змінюваній кількості однієї реагуючої речовини, яка стехіометрично взаємодіє з постійною кількістю іншої речовини. Якщо точка перегину не чітко виражена, її визначають екстраполяцією прямолінійних ділянок кривої до взаємного перетину [191]. Нижче наводимо побудовані графіки для дифенгідраміну (рис. 3.41 і 3.42), зопіклону (рис. 3.43 і 3.44), мебгідроліну (рис. 3.45 і 3.46) та тригексифенідилу (рис. 3.47 і 3.48).

Як видно з усіх наведених графіків, точки перегину кривих відповідають змішуванню еквімолярних розчинів реагуючих речовин у співвідношенні 1:1.

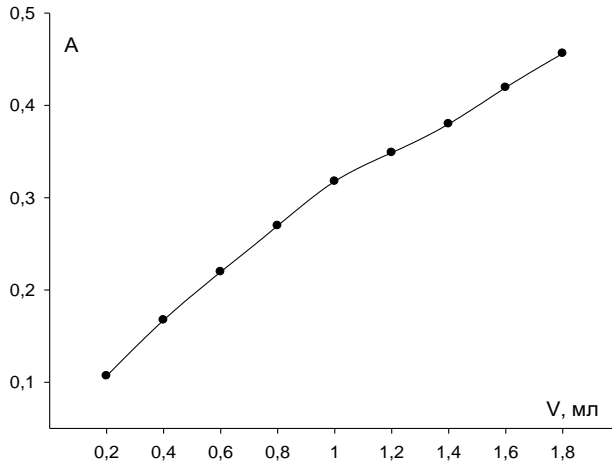


Рис. 3.41. Залежність абсорбції від об'єм розчину дифенгідраміну, доданого до 1,00 розчину BTS

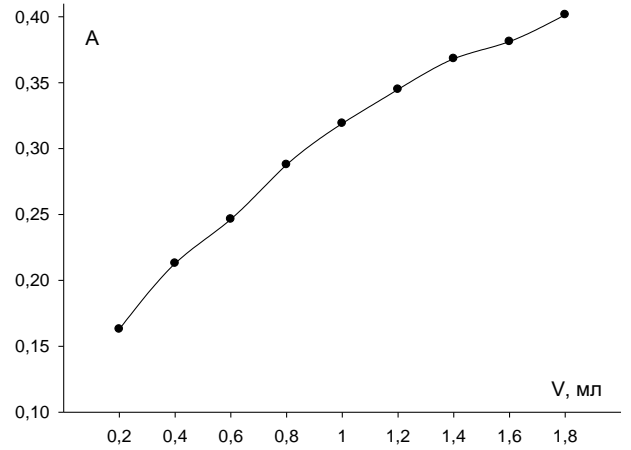


Рис. 3.42. Залежність абсорбції від об'єм розчину BTS, доданого до 1,00 розчину дифенгідраміну

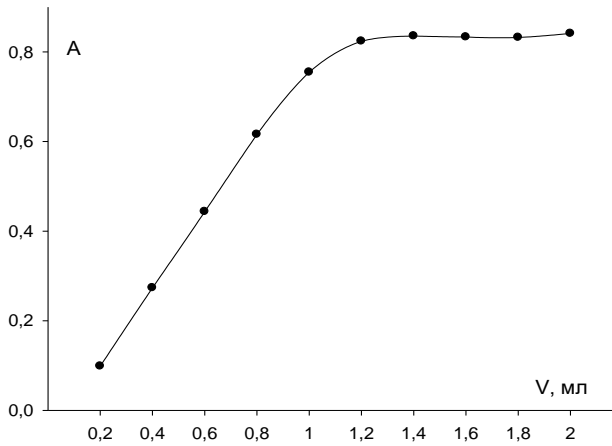


Рис. 3.43. Залежність абсорбції від об'єм розчину зопіклону, доданого до 1,00 розчину BTS

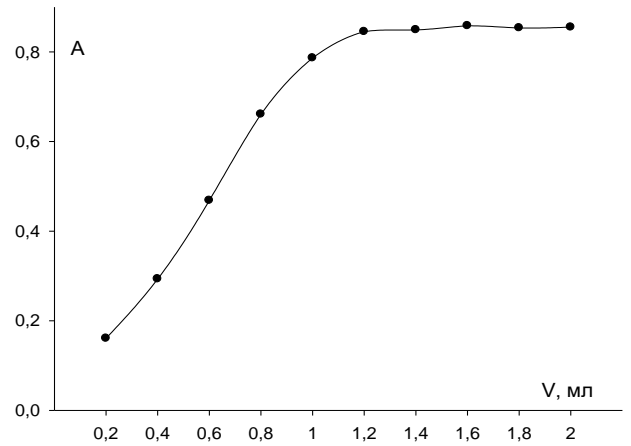


Рис. 3.44. Залежність абсорбції від об'єм розчину BTS, доданого до 1,00 розчину зопіклону

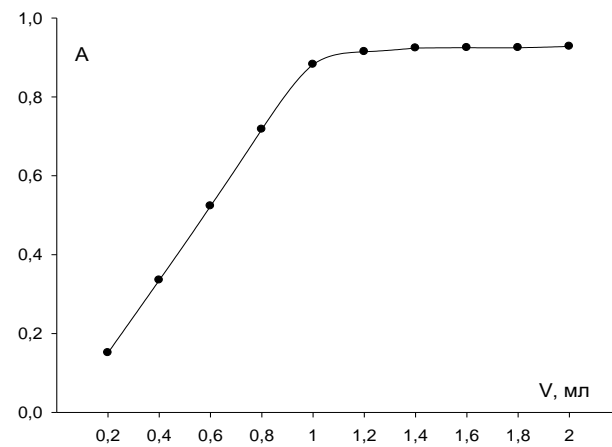


Рис. 3.45. Залежність абсорбції від об'єм розчину мебгідроліну, доданого до 1,00 розчину BTS

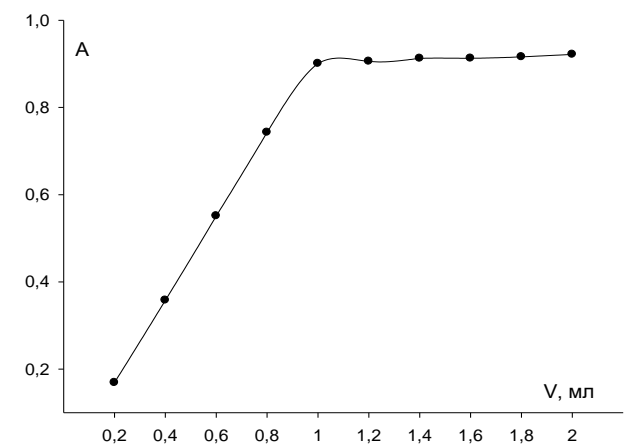


Рис. 3.46. Залежність абсорбції від об'єм розчину BTS, доданого до 1,00 розчину мебгідроліну



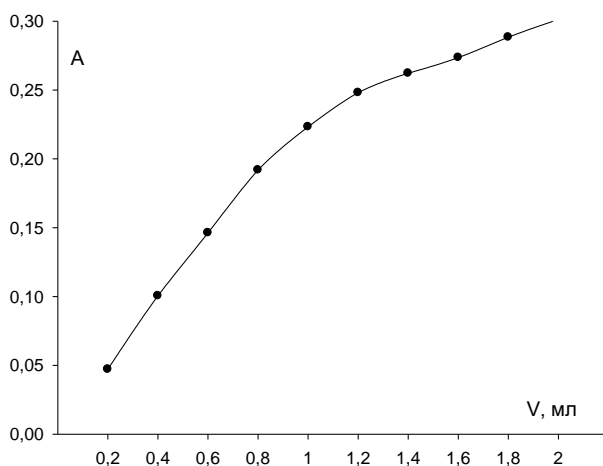


Рис. 3.47. Залежність абсорбції від об'єм розчину тригексифенідилу, доданого до 1,00 розчину БКЗ

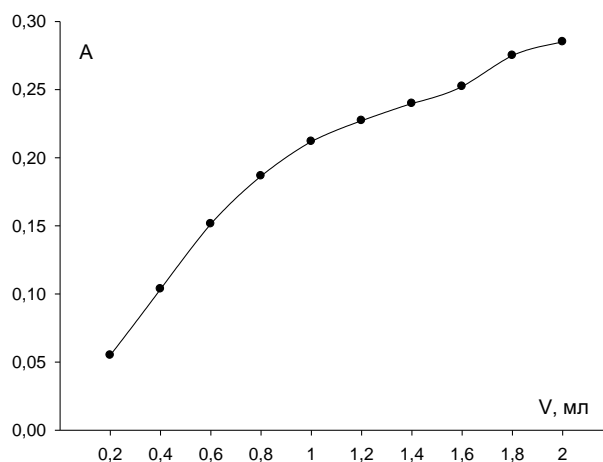


Рис. 3.48. Залежність абсорбції від об'єм розчину БКЗ, доданого до 1,00 розчину тригексифенідилу

Дані залежності абсорбції продуктів реакції від концентрації одного з реагентів при постійній концентрації іншого, отримані в ході останнього експеримента також були використані для встановлення стехіометричних коефіцієнтів методом відносного виходу.

Метод відносного виходу полягає у використанні рівняння алгебраїчної суми усіх стехіометричних коефіцієнтів учасників реакції, яке характеризує склад рівноважної суміші в точці максимального відносного виходу (відношення концентрації продукту реакції до змінної величини початкової концентрації одного з реагуючих компонентів) [191].

Для проведення дослідів за отриманими у останньому експерименті даними будували графіки залежності відносного виходу у координатах  $A/V_1 - A/A_{\max}$  при  $V_2 - \text{const}$  та у координатах  $A/V_2 - A/A_{\max}$  при  $V_1 - \text{const}$ . Якщо графік має вигляд кривої без максимуму, це свідчить, що стехіометричний коефіцієнт учасника реакції зі змінною концентрацією дорівнює одиниці. Аналогічно визначають стехіометричний коефіцієнт іншого компоненту за другим графіком. Якщо на побудованих кривих спостерігається максимум, визначають їх абсциси та розраховують стехіометричні коефіцієнти за формулами [191]. Нижче наводимо побудовані

графіки для дифенгідраміну (рис. 3.49), зопіклону (рис. 3.50), мебгідроліну (рис. 3.51) та тригексифенідилу (рис. 3.52).

Як видно з усіх наведених графіків, на побудованих кривих відсутні максимуми, тобто, стехіометричні коефіцієнти вивчених реакцій дорівнюють одиниці.

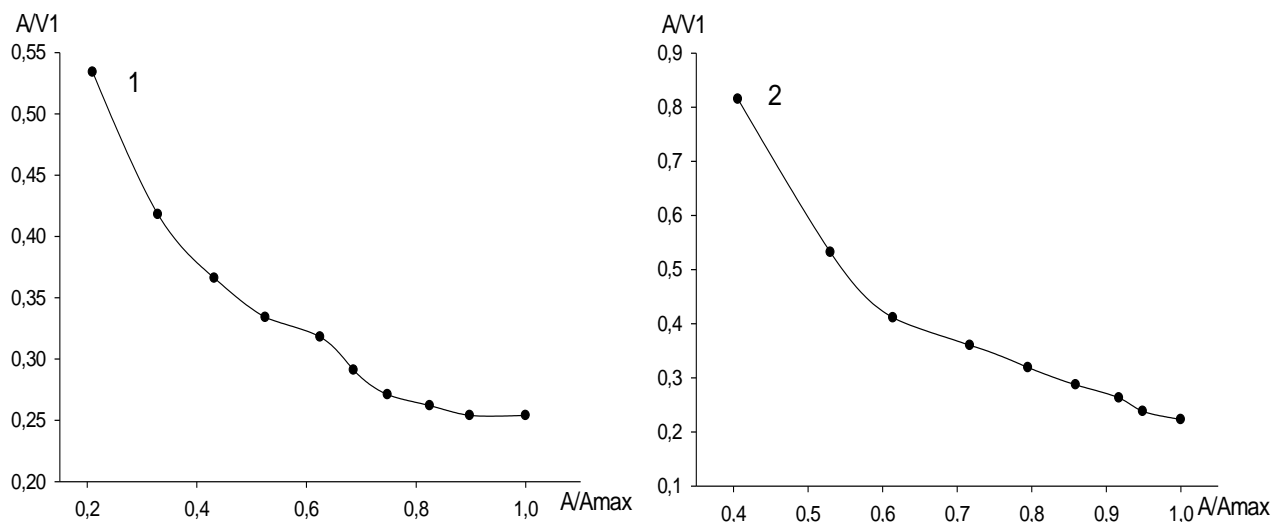


Рис. 3.49. Криві відносного виходу реакції дифенгідраміну з БТС при постійній концентрації БТС (1) та постійній концентрації дифенгідраміну (2)

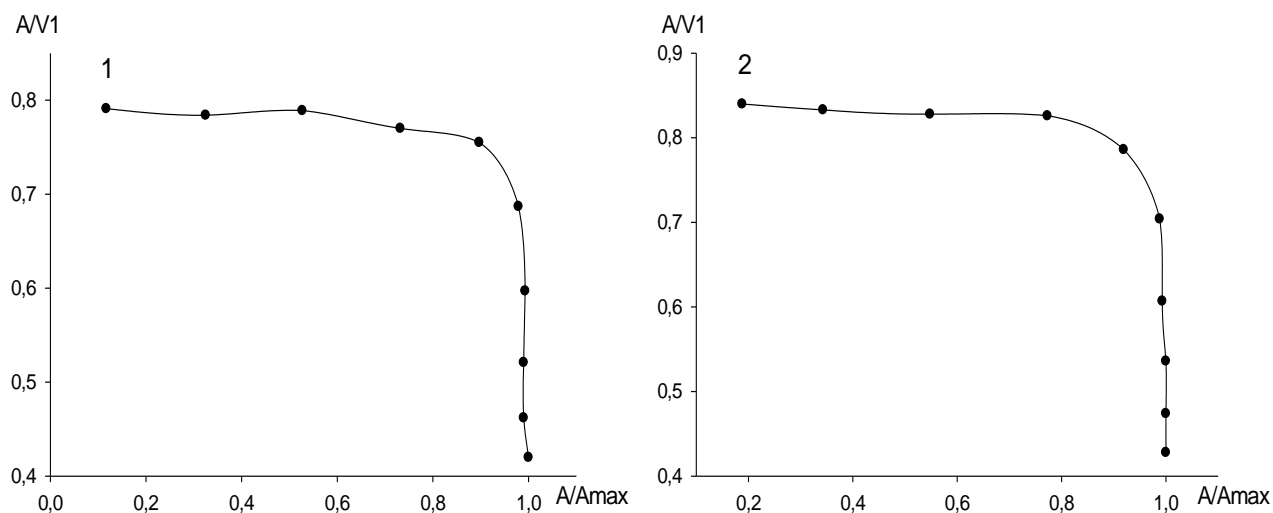


Рис. 3.50. Криві відносного виходу реакції зопіклону з БТС при постійній концентрації БТС (1) та постійній концентрації зопіклону (2)

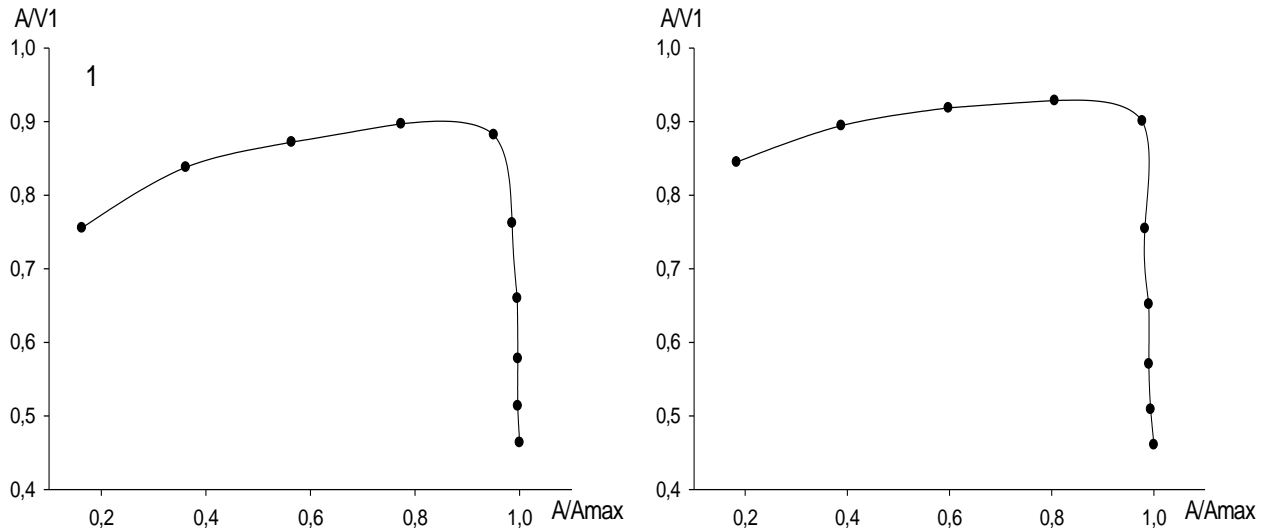


Рис. 3.51. Криві відносного виходу реакції мебгідроліну з БТС при постійній концентрації БТС (1) та постійній концентрації мебгідроліну (2)

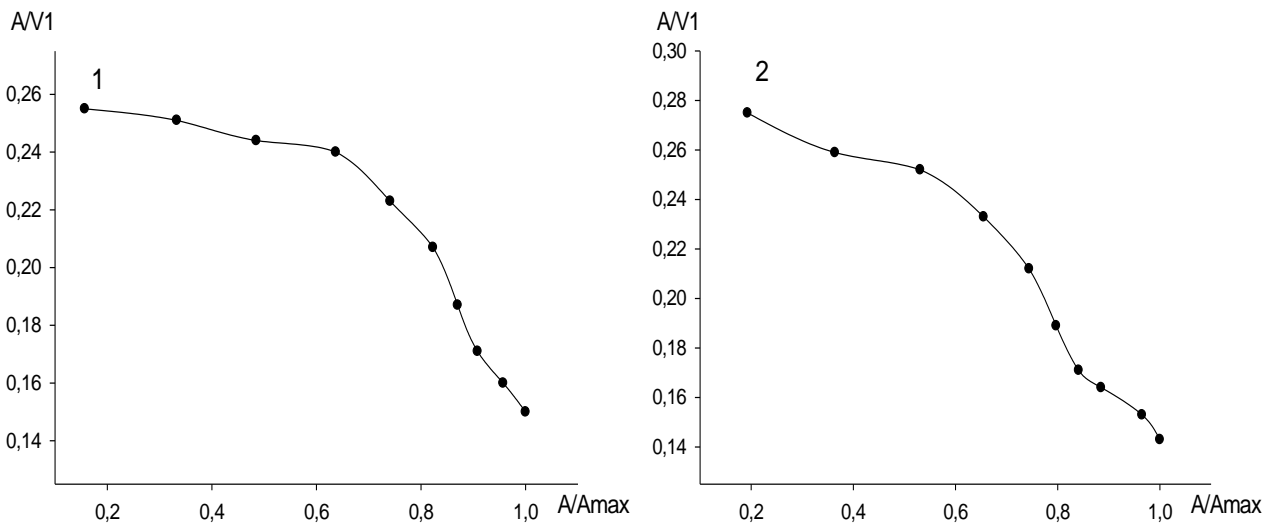


Рис. 3.52. Криві відносного виходу реакції тригексифенідилу з БКЗ при постійній концентрації БКЗ (1) та постійній концентрації тригексифенідилу (2)

Отже, були встановлені стехіометричні співвідношення реагуючих компонентів в реакціях досліджуваних лікарських речовин з сульфоталеїновими барвниками трьома різними методами. Отримані результати не суперечать один одному і наведені у табл. 3.3.

**Стехіометричні співвідношення компонентів реакції  
«лікарська речовина – сульфоталеїновий барвник»**

Лікарська речовина – сульфоталеїновий барвник	Метод визначення		
	Метод ізомольярних серій	Метод насичення	Метод відносного виходу
Дифенгідрамін	1:1	1:1	1:1
Зопіклон	1:1	1:1	1:1
Мебгідролін	1:1	1:1	1:1
Тригексифенідил	1:1	1:1	1:1

### 3.5. Синтез та ідентифікація продукту взаємодії мебгідроліну з БТС

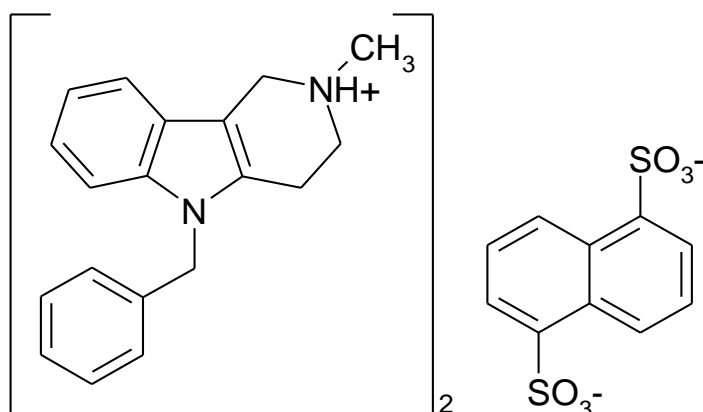
Відповідно до встановленого співвідношення компонентів реакції мебгідролін–БТС та оптимальних умов проведення реакції, був синтезований, виділений та ідентифікований забарвлений продукт реакції.

Продукт реакції мебгідроліну з БТС одержували за такою методикою: 165,84 мг мебгідроліну (0,0006 моль) вміщували у ділільну воронку, розчиняли у 5 мл 0,5 М розчину гідроксиду натрію, додавали 10,00 хлороформу, струшували протягом 1 хв, витримували 10 хв, відділяли хлороформний шар та фільтрували його крізь паперовий фільтр «синя стрічка». До 5,00 мл одержаного розчину додавали розчин 124,88 мг (0,0002 моль) БТС 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 одну добу. Осад відфільтровували крізь паперовий фільтр «синя стрічка», промивали *n*-гексаном та сушили при 60°C. Виділений продукт реакції представляє собою червоно-коричневі кристали, розчинні у хлороформі, метанолі, етанолі, ацетоні та ДМСО, дуже мало

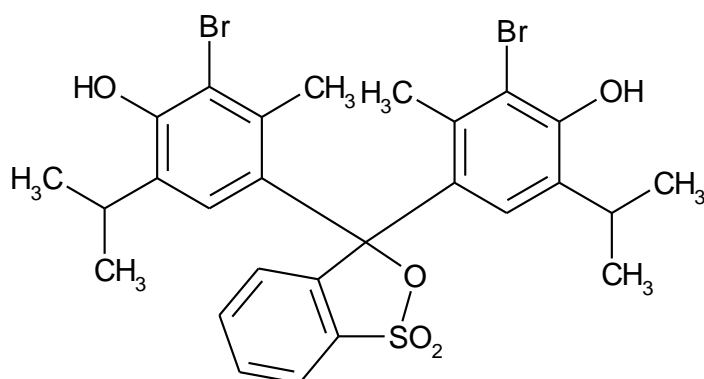
розчинні у воді, нерозчинні у *n*-гексані. Т.пл. 135,4–137,5 °С. Вихід одержаної сполуки складає 177,88 мг (85,60%).

Для встановлення структури виділеного продукту реакції було застосовано методи ІЧ-спектроскопії, хромато-мас-спектрометрії та спектроскопії протонного магнітного резонансу. Нижче наведені структурні формули сполук, що вивчалися:

#### Мєбгїдролїн



#### Бромтїмоловий синїй



З літератури відомо, що ІЧ-спектроскопія застосовується для визначення функціональних груп та дослідження структури органічних сполук [53, 195, 196]. Тому, в ході даного дослідження було виміряно і порівняно ІЧ-спектри мєбгїдролїну, БТС та продукту їх взаємодії (дод. А).

На ІЧ-спектрі мєбгїдролїну спостерігаються смуги поглинання слабкої та середньої інтенсивності в інтервалі 3116–2809  $\text{cm}^{-1}$ , що характерні для

валентних коливань С–Н зв'язків бензольного кільця та гетероциклічних фрагментів молекули. Піки за значень хвильових чисел 1618–1463  $\text{cm}^{-1}$  відповідають скелетним коливанням ароматичних структур. Деформаційні коливання монозамішеного бензольного кільця спостерігаються у вигляді піків за 1152 та 742  $\text{cm}^{-1}$ . В діапазоні хвильових чисел 1360–1310  $\text{cm}^{-1}$  спектр містить слабкі смуги поглинання третинних амінів.

На ІЧ-спектрі БТС близько 2950–2850  $\text{cm}^{-1}$  спостерігаються мультиплети валентних коливань бензольних кілець. Смуги валентних коливань зв'язків О–Н чітко проявляються в інтервалі 3550–3450  $\text{cm}^{-1}$ . В інтервалі 750–600  $\text{cm}^{-1}$  спостерігаються смуги поглинання, характерні для зв'язків С–Br і С–S. Скелетні та деформаційні коливання зв'язків С–О–Н, а також валентні коливання, пов'язані з сультоною групою реєструються в інтервалі 1130–1470  $\text{cm}^{-1}$ .

При порівнянні спектрів мекгідроліну та БТС зі спектром продукту їх взаємодії виявилось, що на спектрі продукту спостерігаються ті самі смуги поглинання, які притаманні реагуючим сполукам. Але його характерною відмінністю є відсутність смуги валентних коливань зв'язків О–Н, що проявляється в спектрі БТС в інтервалі 3550–3450, що свідчить про те, що в реакції утворення іонних асоціатів приймають участь саме протони ОН-груп сульфоталеїнових барвників.

Згідно результатів хромато-мас-спектрометричного дослідження на хроматограмі іонного асоціату реєструвалися два піки, що за часом утримання та мас-спектрами співпадали з піками на хроматограмах мекгідроліну та БТС. При цьому площі піків на хроматограмі продукту вивченої реакції співвідносні майже один до одного (42% на 57%), що свідчить про склад продукту 1:1, теоретична структурна формула якого представлена на рис. 3.53.

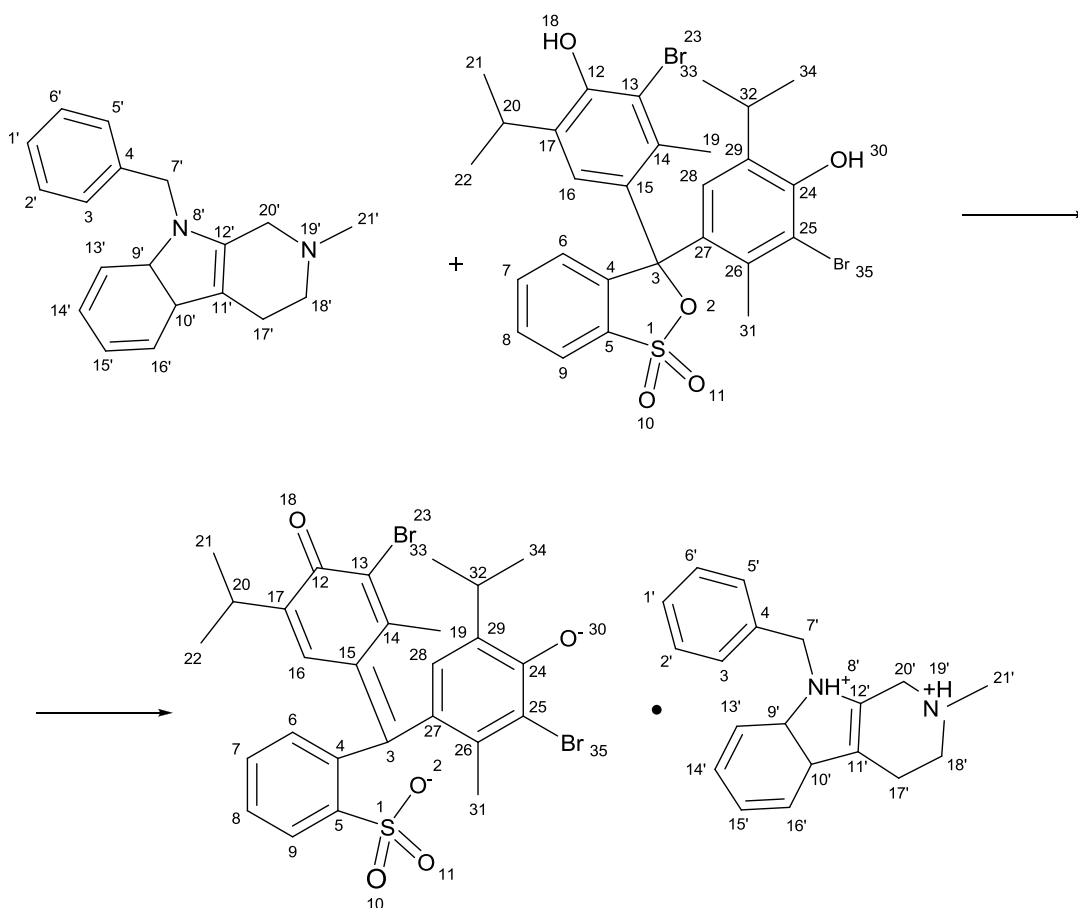


Рис. 3.53. Теоретична схема взаємодії мебгідроліну з бромтимоловим синім при розчиненні у хлороформі

Спектр протонного магнітного резонансу є найоднозначнішим підтвердженням утворення міжмолекулярних комплексів. Порівнюючи такі спектральні параметри  $^1\text{H}$  ЯМР-спектрів, як хімічний зсув, константи спінової взаємодії та інтегральні характеристики піків молекул вихідних речовин у вільному стані та у складі асоціату, можна виявити реакційні центри молекул та протони, що беруть участь в утворенні міжмолекулярного комплексу [53, 184, 197, 198].

Протонні ЯМР-спектри мебгідроліну, БТС та утвореного продукту було знято у дейтерованих розчинах ДМСО (дод. Б).

Доказом утворення іонної пари мебгідроліну з бромтимоловим синім саме за атомом нітрогену індольного залишку є перетворення сигналу протонів  $\text{NCH}_2\text{Ph}$  з синглету на квадруплет у  $^1\text{H}$  ЯМР спектрі та його

дезекранований хімічний зсув з 5,36 м.ч. до 5,39 м.ч. через утворення четвертинної амонієвої солі при протонуванні сульфокислотним залишком барвника. Для наглядного порівняння у табл. 3.4 надаються усі хімічні зсуви мебгідраміну, бромтимолового синього та продукту їх взаємодії.

Таблиця 3.4

**Хімічні зсуви у  $^1\text{H}$ -ЯМР спектрах досліджуваних сполук, м.ч.**

Мебгідролін	Бромтимоловий синій	Іона пара
9,90 (с, 1H), 19'	-	9,91 (с, 1H), 19'
8,84 (д, $J = 8,5$ Гц, 1H), 3'	-	8,23 (с, 1H), 8'
7,90 (д, $J = 6,6$ Гц, 1H), 5'	7,94 (д, $J = 6,8$ Гц, 1H), 9	7,90 (д, $J = 6,8$ Гц, 2H), 5', 9
7,44 (т, $J = 6,9$ Гц, 2H), 2', 6'	7,42 (т, $J = 6,9$ Гц, 1H), 7	7,44 (т, $J = 6,9$ Гц, 3H), 2', 6', 7
7,28 (м, 4H), 13'-16'	7,36 (т, $J = 6,9$ Гц, 1H), 8	7,27 (м, 5H), 13'-16', 8
7,13 (т, $J = 7,3$ Гц, 1H), 1'		7,13 (т, $J = 7,2$ Гц, 1H), 1'
7,05 (д, $J = 6,8$ Гц, 2H), 9', 10'	7,06 (м, 1H), 6	7,06 (д, $J = 4,9$ Гц, 3H), 9', 10', 6
-	6,88 (м, 2H), 16, 28	6,83 (с, 1H), 28
-	-	6,73 (с, 1H), 16
-	5,88 (уш, с, 2H), 18, 30	-
5,36 (с, 2H), 7'	-	5,39 (кв, $J = 16,9$ Гц, 2H), 7'
4,64, 4,32 (м, 2H), 17'	-	4,67, 4,34 (м, 2H), 17'
3,73, 3,47 (м, 2H), 18'	-	3,75, 3,51 (м, 2H), 18'
3,05 (м, 2H), 20'	3,07 (м, 1H), 32	3,09 (м, 3H), 20', 32
3,00 (м, 3H), 21'	2,98 (м, 1H), 20	3,01 (м, 4H), 21', 20
-	2,06 (с, 3H), 31	2,07 (с, 3H), 31
-	1,90 (с, 3H), 19	1,83 (с, 3H), 19
-	0,97 (дд, $J = 18,2, 4,3$ Гц, 12H), 21, 22, 33, 34	0,96 (д, $J = 5,7$ Гц, 12H), 21, 22, 33, 34



Наявність сигналу при 9,90 м.ч. у спектрі мебгідроліну свідчить про протонування нітрогену піридинового кільця за рахунок обмінного протону при використанні нападизілатної солі для аналізу. Важливим показником зазначеної структури продукту реакції є зникнення сигналів ОН протонів при 5,88 м.ч. у порівнянні зі спектром бромтимолового синього та поява піку при 8,23 м.ч., що свідчить про появу у молекулі іонної пари нового NH<sup>+</sup> зв'язку за даних умов.

Крім того, незначна зміна констант спін-спінової взаємодії метильних груп в аніоні продукту реакції вказує на перерозподіл  $\pi$ -електронної густини. Формування хінонового фрагменту у аніоні бромфенолового синього також підтверджує зсув сигналу протону у 16 положенні до 6,73 м.ч., який спочатку був еквівалентним з Н-28. А у мебгідролінієвому катіоні відбувається зсув електронної густини до NH<sup>+</sup> групи індольного фрагменту згідно зменшення константи спін-спінової взаємодії протону Н-9 (6,8 Гц до 4,9 Гц).

### 3.6 Вивчення оптимальних умов високоефективного рідинного хроматографування досліджуваних лікарських речовин

За основу розробки ВЕРХ-методик кількісного визначення лікарських речовин груп антигістаміних, снодійних засобів, що знаходять застосування поза медичною практикою, а саме, дифенгідраміну гідрохлориду та зопіклону, були взяті декілька складів рухомих фаз, які були успішно застосовані іншими авторами для хроматографування досліджених речовин [61, 62, 64, 65, 76], а також склад елюенту, що широко застосовується у криміналістичному аналізі [193].

Метою роботи було обрання оптимального складу рухомої фази, що дозволив би проводити кількісний аналіз швидко, точно та з найменшими витратами. Для цього були вивчені основні фактори, що можуть впливати на площу піку ( $S$ ), його форму та час ( $t_R$ ) виходу досліджуваних речовин:

природа та склад рухомої фази, довжина хвилі детектора, швидкість потоку та температура процесу.

Вплив природи та складу рухомої фази було вивчено з урахуванням літературних даних і обрано для дослідження такі суміші:

1. ацетонітрил:(дистильована вода, що містить 3,0 г гідроксиду калію, 12,0 г 82% фосфорної кислоти та 3,0 г діетиламіну, рН 3,0) (20:80);
2. ацетонітрил:(0,01 фосфорна кислота з триетиламіном, рН 2,8) (20:80);
3. метанол:(розчин амонію ацетату 6,0 г/л, 10,0 мл триетиламіну та фосфорної кислоти до рН 5,2) (95:5);
4. ацетонітрил:(0,5 М розчин форміату натрію та мурашиної кислоти, рН 3) (5:95);
5. метанол:вода:мурашина кислота (65:35:0,5);
6. 0,05 % мурашина кислота:ацетонітрил (25:75).

Компоненти рухомих фаз фільтрувались через мембранний фільтр з розміром пор 10 мкм та дегазувались безпосередньо перед використанням.

Для проведення дослідження умов хроматографування, готували розчини 0,2 мг/мл субстанцій дифенгідраміну хідрохлориду та зопіклону у відповідних рухомих фазах та хроматографували у наступних умовах:

- колонка обернено фазова Hypersil Gold C18, Thermo Scientific TM, 4×150 мм, розмір часток сорбенту – 5 мкм;
- швидкість потоку – 1 мл/хв.;
- інжектор напівавтоматичний, об'єм проби – 20 мкл;
- детектор – УФ-спектрофотометричний, довжина хвилі 250 нм.

В результаті були отримані величини часу виходу та площі піку досліджуваних речовин, наведені у табл. 3.5.

З отриманих даних видно, що мінімальний час аналізу для обох досліджених речовин та майже найвищі показники площ хроматографічних піків спостерігаються у разі використання системи (1). Найвищі показники

площ піків зафіксовано у випадку використання системи (5), але через великі витрати метанолу високого ступеню чистоти, її було відкинута.

Таблиця 3.5

**Хроматографічні показники дифенгідраміну хідрохлориду та зопіклону в залежності від складу рухомої фази**

Рухома фаза	Дифенгідрамін		Зопіклон	
	S, мВ·с	t <sub>R</sub> , хв	S, мВ·с	t <sub>R</sub> , хв
1	2347	5,82	1563	7,54
2	2159	6,15	1453	7,68
3	2234	7,54	1458	9,76
4	2465	6,36	1547	10,38
5	2115	5,44	1335	8,62
6	2187	8,12	1373	10,05

Наступним етапом досліджень було встановлено залежність площі хроматографічного піку від довжини хвилі ( $\lambda$ ) УФ-детектора, тобто, визначення максимуму поглинання досліджуваної речовини у даних умовах. Для цього хроматографували приготовані розчини 0,2 мг/мл субстанцій дифенгідраміну хідрохлориду та зопіклону у рухомій фазі (1), у наведених вище умовах, але детектуючи за різних довжин хвиль. Спочатку для кожної речовини були виміряні площі піків за довжин хвиль в інтервалі 200–400 нм через кожні 10 нм, а потім – в інтервалі (максимальне значення  $\pm$  10 нм) через кожний 1 нм. Результати цих вимірювань наведені у табл. 3.6.

Таким чином, аналізуючі наведені дані можна сказати, що максимальна площа піка спостерігається у разі використання для детекції дифенгідраміну гідрохлориду довжини хвилі 254 нм, а для зопіклону – 340 нм. Тому, саме ці довжини хвиль використовувались у подальшому при розробці методик кількісного визначення досліджуваних речовин у лікарських препаратах.

**Величини хроматографічних піків дифенгідраміну хідрохлориду та зопіклону в залежності від довжини хвилі УФ-детектора**

Дифенгідрамін				Зопіклон			
$\lambda$ , нм	$S$ , мВ·с	$\lambda$ , нм	$S$ , мВ·с	$\lambda$ , нм	$S$ , мВ·с	$\lambda$ , нм	$S$ , мВ·с
200	712	241	2281	200	573	291	1886
210	946	242	2293	210	5084	292	1895
220	1253	243	2287	220	632	293	1889
230	1769	244	2305	230	649	294	1903
240	2123	245	2299	240	726	295	1916
250	2315	246	2311	250	773	296	1914
260	2309	247	2316	260	866	297	1938
270	2142	248	2325	270	1057	298	1933
280	1853	249	2321	280	1431	299	1948
290	1542	250	2329	290	1872	300	1955
300	1253	251	2325	300	1953	301	1953
310	1097	252	2331	310	1948	302	1969
320	818	253	2337	320	1889	303	1964
330	755	254	2339	330	1865	304	1973
340	619	255	2336	340	1503	305	1958
350	584	256	2332	350	923	306	1953
360	558	257	2325	360	653	307	1943
370	536	258	2317	370	455	308	1949
380	524	259	2321	380	382	309	1938

Наступним етапом експериментів було встановлення впливу на площу хроматографічного піку незначних змін швидкості потоку рухомої фази через колонку у межах 5 %. Для цього приготовані розчини досліджених лікарських речовин хроматографувались у наведених вище умовах з

використанням встановлених раніше оптимальних довжин хвиль детектора, але при швидкості потоку, що змінювалась у кожному разі від 0,95 мл/хв до 1,05 мл/хв. За отриманими в результаті даними будували графіки залежності площі хроматографічного піку ( $S$ ) від швидкості потоку рухомої фази ( $F$ ) (рис. 3.54 та 3.55).

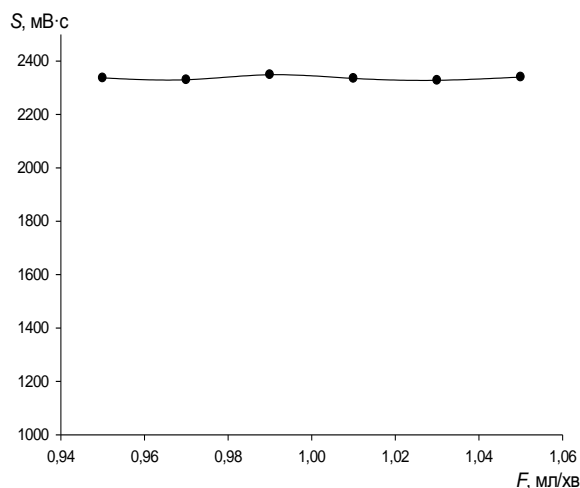


Рис. 3.54. Графік залежності площі піку дифенгідраміну від швидкості потоку рухомої фази

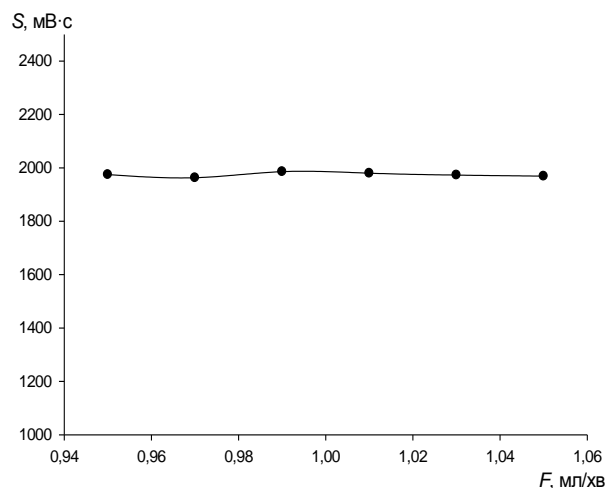


Рис. 3.55. Графік залежності площі піку зопіклону від швидкості потоку рухомої фази

Таким чином, з наведених графіків видно, що зміни швидкості потоку рухомої фази не впливають істотно на площу хроматографічного піку досліджуваних лікарських речовин, і для наступних експериментів використовувалась швидкість 1,00 мл/хв.

Далі був вивчений вплив на результати вимірювань ще одного фактору, від якого може залежати хроматографічна поведінка речовин – рН рухомої фази. З цією метою розчини стандартних зразків досліджених речовин хроматографувались за обраною методикою, але показник рН приготованого буферного розчину змінювався у межах від 2,85 до 3,15 одиниць додаванням 82 %-го розчину фосфорної кислоти або гідроксиду калію. За результатами хроматографування будували графіки залежності площі хроматографічного піку ( $S$ ) від рН компонента рухомої фази – буферного розчину (рис. 3.56 та 3.57).

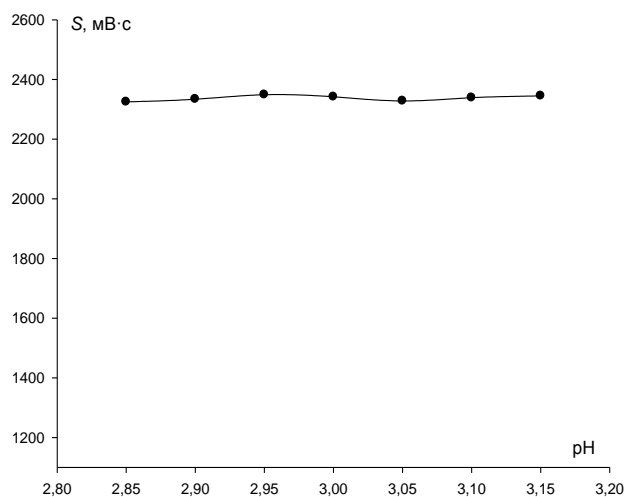


Рис. 3.56. Графік залежності площі піку дифенгідраміну від рН буферного розчину

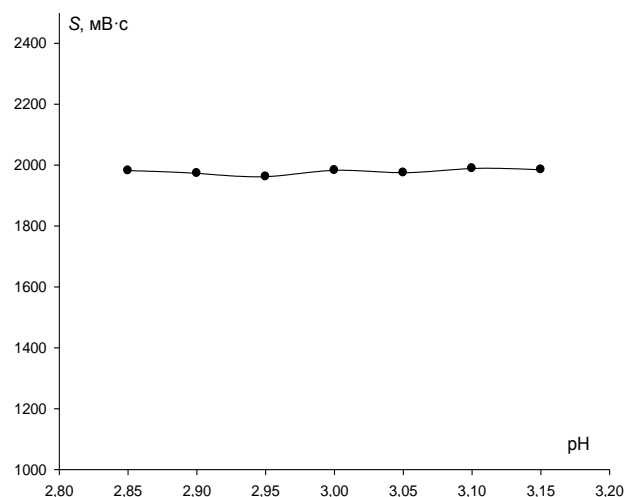


Рис. 3.57. Графік залежності площі піку зопіклону від рН буферного розчину

Проведені експерименти дають можливість стверджувати, що незначні коливання рН рухомої фази не чинять істотного впливу на результати вимірювання площ піків лікарських засобів. Тому, для виконання подальших досліджень зупинились на рН компоненту рухомої фази – фосфатного буферного розчину, що дорівнює 3,00.

Оскільки використаний в дослідженнях хроматографічний комплекс Thermo Spectra System 2000 не має опції термостатування колонки, подальшими дослідженнями було вивчено вплив температури навколишнього середовища на площі піків речовин та їх час утримування у колонці, тому що остання величина важлива для ідентифікації піків та автоматичного кількісного визначення вмісту речовини у зразку. Для цього аналізовані розчини досліджуваних лікарських речовин хроматографувались за обраних вище умов, але при цьому змінювалась температура повітря у лабораторії за допомогою побутових приладів. За отриманими даними будували графіки залежності площі піків від температури (t), що наведені на рис. 3.58 та 3.59.

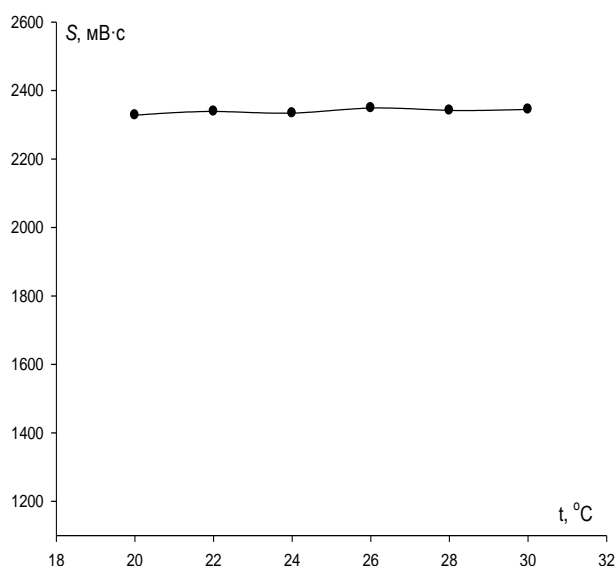


Рис. 3.58. Графік залежності площі піку дифенгідраміну від температури повітря у лабораторії

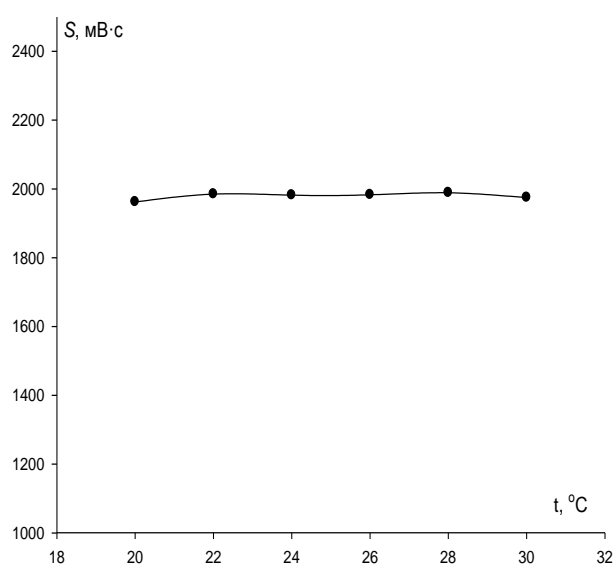


Рис. 3.59. Графік залежності площі піку зопіклону від температури повітря у лабораторії

Величини часу утримування піків для досліджених речовин наведені у табл. 3.7.

Таблиця 3.7

**Величини часу утримання піків дифенгідраміну хідрохлориду та зопіклону в залежності від температури повітря у лабораторії**

Температура повітря, °C	Час утримування піку	
	дифенгідраміну	зопіклону
20	5,86	7,58
22	5,84	7,56
24	5,83	7,54
26	5,82	7,53
28	5,82	7,54
30	5,81	7,52

В результаті було встановлено, що зміни температури повітря у лабораторії в межах від 20 °С до 30 °С призводять до незначного зменшення часу утримування речовин у колонці, що, вірогідно, пов'язано з підвищенням швидкості хімічних процесів у колонці, а також зменшенням в'язкості розчинників. Тим не менше, помічені зміни не впливають на результати кількісного визначення досліджуваних компонентів.

Таким чином, вивчено вплив на хроматографічну поведінку досліджуваних речовин природи та складу рухомої фази, швидкості її потоку через колонку, рН рухомої фази та температури процесу хроматографування. Спираючись на отримані експериментальні дані, розроблено нижченаведені загальні методики кількісного визначення дифенгідраміну гідрохлориду та зопіклону.

*Приготування фосфатного буферу:* у 1 л дистильованої води розчиняють 3,0 г гідроксиду калію, 12,0 г 82 % фосфорної кислоти та 3,0 г діетиламіну. Розчин вказаного складу має рН рівне 3,00. У випадку відхилення від вказаної величини рН, проводять корегування додаючи фосфорну кислоту або гідроксид калію.

*Приготування рухомої фази:* фосфатний буфер та ацетонітрил фільтрують через мембранний фільтр з розміром пор не більше 10 мкм, змішують з у співвідношенні 80:20.

*Приготування досліджуваного розчину:* точну наважку лікарської речовини (0,0200 г) вносять до мірної колби ємністю 100,0 мл, розчиняють у рухомій фазі, доводять нею до позначки, перемішують та фільтрують крізь паперовий фільтр «синя стрічка», вікидаючи перші порції фільтрату. 1,00 мл одержаного розчину переносять у мірну колбу ємністю 10,00 мл, доводять до позначки рухомою фазою і перемішують. Отриманий розчин хроматографують за умов, наведених у табл. 3.8.



**Оптимальні умови хроматографічного визначення досліджуваних лікарських речовин**

Колонка	Hypersil Gold C18, Thermo Scientific TM, 4×150 мм, обернено-фазова розмір часток сорбенту – 5 мкм
Рухома фаза	Ацетонітрил:(дистильована вода, що містить 3,0 г гідроксиду калію, 12,0 г 82 % фосфорної кислоти та 3,0 г діетиламіну, рН 3,0) (20:80)
Швидкість потоку	1,00 мл/хв
Інжектор	Напівавтоматичний
Об'єм проби	20 мкл
Детектор	УФ-спектрофотометричний
Довжина хвилі	Дифенгідрамін – 254 нм
	Зопіклон – 304 нм
Час аналізу	10 хв

### ВИСНОВКИ

1. Вивчено оптимальні умови перебігу фотометричних реакцій лікарських речовин груп антигістамінних засобів, снодійних засобів та інших, що знаходять застосування поза медичною практикою, з сульфофталеїновими барвниками:

- ✓ встановлено оптимальний розчинник для реакцій досліджуваних лікарських речовин з сульфофталеїновими барвниками;
- ✓ обрано оптимальний реагент для кожного препарату;
- ✓ доведено, що максимальний вихід продуктів реакції досліджуваних лікарських речовин відбувається при взаємодії з 0,124–2,50% розчинами БТС, БКЗ і БКП в середовищі ацетону, а для мебгідроліну – з 0,60 % розчином БТС у хлороформі;

- ✓ доведено, що реакції перебігають швидко, з утворенням стабільних продуктів і не потребують додаткових умов.

2. Розраховано аналітичні показники чутливості реакцій 8 лікарських речовин, що знаходять застосування поза медичною практикою, з БТС, БКЗ і БКП. Низькі значення відкриваних мінімумів, які становлять 0,47–1,7 мкг/мл, а також високі значення молярних коефіцієнтів поглинання ( $6,47 \cdot 10^3$ – $3,28 \cdot 10^4$  л·моль<sup>-1</sup>·см<sup>-1</sup>) свідчать про високу чутливість даних реакцій.

3. Визначено стехіометричні співвідношення «лікарська речовина – реагент», які становлять 1:1 для реакцій сульфоталеїнових барвників з дифенгідраміном, зопіклоном, мебгідроліном та тригексифенідилом.

4. Синтезовано і виділено забарвлений продукт реакції мебгідроліну з БТС. За допомогою ІЧ- та <sup>1</sup>H ЯМР-спектроскопії та хромато-мас-спектрометрії, підтверджено, що продукт реакції є іонним асоціатом, тому що:

- ✓ на ІЧ-спектрі продукту реакції відсутні смуги валентних коливань ОН-груп БТС. Це свідчить, що протони даних груп беруть участь у формуванні іонних асоціатів;
- ✓ на хроматограмі продукту вивченої реакції площі піків, що відповідають мебгідроліну та БТС, співвідносні майже один до одного (42% на 57%), що свідчить про склад продукту 1:1;
- ✓ при порівнянні <sup>1</sup>H ЯМР-спектральних параметрів реагуючих речовин у вільному стані та у складі продукту реакцій доведено хімічну будову іонного асоціату, а також те, що в його утворенні задіяні ОН-група молекули БТС та атом нітрогену індольного залишку у молекулі мебгідроліну, про що свідчить перетворення сигналу протонів NCH<sub>2</sub>Ph з синглету на квадруплет у <sup>1</sup>H ЯМР спектрі та його дезекранований хімічний зсув з 5,36 м.ч. до 5,39 м.ч. через утворення четвертинної амонієвої солі.

## РОЗДІЛ 4

РОЗРОБКА МЕТОДИК КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ  
ДОСЛІДЖУВАНИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ4.1 Метод визначення вмісту досліджуваних речовин у лікарських  
препаратах

Найбільш точним та надійним методом визначення вмісту досліджуваних речовин вважається метод стандарту [188]. Він дозволяє виключити систематичну похибку результатів аналізу, спричинену умовами, в яких проводиться дослід. Як стандартні застосовували розчини лікарських речовин (розчини порівняння), приготовані з ФСЗ або РСЗ – субстанцій досліджуваних лікарських речовин, які відповідали вимогам АНД (див. табл. 2.1). Концентрації вихідних розчинів, та приготованих із них спектрофотометрованих розчинів порівняння, наведені в табл. 4.1. Концентрації вихідних розчинів, та приготованих із них хроматографованих розчинів порівняння, наведені в табл. 4.2.

Таблиця 4.1

**Значення концентрацій стандартних розчинів для  
спектрофотометричних методик**

Лікарська речовина	Концентрація вихідного розчину, %	Концентрація спектрофотометрованого розчину, г/100 мл
1	2	3
За реакцією з БТС		
Дифенгідрамін	0,0200	0,00200
Зопіклон	0,0250	0,00250
Мебгідролін	0,0200	0,00200

1	2	3
За реакцією з БКЗ		
Тригексифенідил	0,0280	0,00280
Тиопентал натрію	0,0080	0,00120
Лоратадин	0,01125	0,00225
Дезлоратадин	0,00425	0,00085
За реакцією з БКП		
Кетотифен	0,0050	0,00100

Таблиця 4.2

**Значення концентрацій стандартних розчинів для  
хроматографічних методик**

Лікарська речовина	Концентрація вихідного розчину, %	Концентрація хроматографованого розчину, г/100 мл
Дифенгідрамін	0,0200	0,0020
Зопіклон	0,0200	0,0020

Вміст досліджуваних речовин у лікарських препаратах за спектрофотометричними методиками у грамах розраховували за формулою:

$$x = \frac{A \cdot p_{заг}}{A_0 \cdot p \cdot l \cdot 100} \cdot k, \quad (4.1)$$

де  $A$  – оптична густина досліджуваного розчину;

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

$A_0$  – оптична густина розчину порівняння;

$p$  – наважка лікарської форми;

$l$  – товщина шару розчину, см;

$k$  – коефіцієнт, який враховує розведення та концентрації розчину порівняння.

Вміст досліджуваних речовин у лікарських препаратах за спектрофотометричними методиками у відсотках розраховували за формулою:

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

Вміст досліджуваних речовин у лікарських препаратах за хроматографічними методиками у грамах розраховували за формулою:

$$x = \frac{S \cdot p_{заг}}{S_0 \cdot p \cdot 100} \cdot k, \quad (4.3)$$

де  $S$  – площа піка речовини у досліджуваному розчині;

$S_0$  – площа піка речовини у розчині порівняння.

Вміст досліджуваних речовин у лікарських препаратах за хроматографічними методиками у відсотках розраховували за формулою:

$$x = \frac{S}{S_0 \cdot p} \cdot k, \quad (4.4)$$

4.2 Розробка спектрофотометричних методик кількісного визначення досліджуваних лікарських засобів

4.2.1 Методика визначення питомого показника поглинання лікарських речовин за їх реакцією з сульффталеїновими барвниками. За основу розробки спектрофотометричних методик кількісного визначення досліджуваних речовин у лікарських препаратах було взято оптимальні умови реакцій сульффталеїнових барвників (БТС, БКП, БКЗ) з цими речовинами, що були експериментально встановлені раніше та

описані в розд. 3.1, 3.2. Для встановлення меж концентрацій лікарських речовин, в яких світлопоглинання розчину прямо пропорційне концентрації, тобто підпорядковується закону Бера, готували серії розчинів різної концентрації, в оптимальних умовах проводили визначення абсорбції та для кожної концентрації розраховували величини питомих показників поглинання ( $A_{1\text{см}}^{1\%}$ ) за формулою 2.1. З отриманих значень ( $A_{1\text{см}}^{1\%}$ ) вибирали інтервал, у якому вони були постійними або близькими (табл. 4.3) і надалі використовували його для кількісного визначення.

Таблиця 4.3

**Межі концентрацій лікарських речовин, в яких спостерігається підпорядкованість закону Бера та їх питомі показники поглинання**

Лікарська речовина	$\lambda_{\text{max}}$ , нм	Інтервал концентрацій, мг/100 мл	$A_{1\text{см}}^{1\%}(\bar{x} \pm \Delta\bar{x})$
За реакцією з БТС			
Дифенгідрамін	400	2,00 – 3,00	547±3
Зопіклон	400	1,80 – 3,00	444±3
Мебгідролін	412	1,60 – 3,20	460±3
За реакцією з БКЗ			
Тригексифенідил	410	1,60 – 2,80	328±4
Тиопентал натрію	408	0,40 – 1,60	788±7
Лоратадин	411	1,50 – 3,00	466±4
Дезлоратадин	407	0,50 – 1,20	1094±5
За реакцією з БКП			
Кетотифен	399	0,50 – 1,50	676±6

4.2.2 Спектрофотометричні методики кількісного визначення дифенгідраміну гідрохлориду у лікарських формах.

*Приготування розчину порівняння:* точну наважку ФСЗ дифенгідраміну гідрохлориду, згідно концентрації вихідного розчину, вказаної в табл. 4.1, вміщують у мірну колбу з притертим корком ємністю 25,00 мл, розчиняють у 0,50 мл води, доводять ацетоном до позначки та перемішують. 1,00 мл одержаного вихідного розчину переносять у мірну колбу з притертим корком ємністю 10,00 мл, додають 2,00 мл розчину БТС (див. табл. 3.1), доводять ацетоном до позначки та перемішують.

*Приготування компенсаційного розчину:* 0,50 мл води вміщують у мірну колбу з притертим корком ємністю 25,00 мл, доводять ацетоном до позначки та перемішують. 1,00 мл одержаного вихідного розчину переносять у мірну колбу з притертим корком ємністю 10,00 мл, додають 2,00 мл розчину БТС (див. табл. 3.1), доводять ацетоном до позначки та перемішують.

Методика кількісного визначення дифенгідраміну гідрохлориду у таблетках. Точну наважку подрібненої таблеткової маси (табл. 4.4) вміщують у мірну колбу з притертим корком ємністю 25,00 мл, розчиняють у 0,50 мл води, доводять ацетоном до позначки, перемішують і фільтрують крізь паперовий фільтр «синя стрічка». 1,00 мл отриманого розчину переносять у мірну колбу з притертим корком ємністю 10,00 мл, додають 2,00 мл розчину БТС (див. табл. 3.1), доводять ацетоном до позначки та перемішують.

Вимірюють абсорбцію розчину лікарської форми та розчину порівняння на фоні компенсаційного розчину за аналітичної довжини хвилі (див. табл. 3.1). Розрахунок вмісту дифенгідраміну гідрохлориду проводять за формулою 4.1.

Методика кількісного визначення дифенгідраміну гідрохлориду у розчинах для ін'єкцій. Точну наважку розчину (табл. 4.4) вміщують у мірну колбу з притертим корком ємністю 25,00 мл, доводять ацетоном до позначки та перемішують. 1,00 мл даного розчину переносять у мірну колбу з

притертим корком ємністю 10,00 мл, додають 2,00 мл розчину БТС (див. табл. 3.1), доводять ацетоном до позначки та перемішують.

Вимірюють абсорбцію розчину лікарської форми та розчину порівняння на фоні компенсаційного розчину за аналітичної довжини хвилі (див. табл. 3.1). Розрахунок вмісту дифенгідраміну гідрохлориду проводять за формулою 4.1.

Таблиця 4.4

**Умови приготування вихідних розчинів для спектрофотометричного визначення лікарських речовин в препаратах**

Лікарський препарат	Наважка
1	2
Таблетки «Димедрол», 0,05 г (ПАТ «Луганський хімфармзавод»)	0,0146–0,0263 г
Таблетки «Димедрол», 0,05 г (ОВХФП «Біостимулятор»)	0,0144–0,0255 г
Таблетки «Димедрол–Дарниця» 0,05 г	0,0151–0,0222 г
Таблетки «Димедрол», 0,1 г	0,0102–0,0149 г
Розчин для ін'єкцій «Димедрол–Дарниця» 10 мг/мл	0,50 мл
Розчин для ін'єкцій «Димедрол», 10 мг/мл	0,50 мл
Таблетки «Зопіклон», 7,5 мг	0,0875–0,1555
Таблетки «Соннат», 7,5 мг	0,1030–0,1830
Таблетки «Сонован», 7,5 мг	0,0975–0,1735
Таблетки «Зопіклон–ЗН», 7,5 мг	0,1000–0,1780
Таблетки «Циклодол», 2 мг	0,2060–0,4870
Порошок «Тіопентал», 1,0 г	0,0060–0,0100



1	2
Таблетки «Кетотифен–ЛХ», 1 мг	0,1570–0,5510
Таблетки «Кетотифен Софарма», 1 мг	0,0908–0,2645
Таблетки «Кетотифен», 1 мг	0,1370–0,5480
Капсули «Кетотифен–В», 1 мг	0,0850–0,2570
Таблетки «Лоратадин–Дарниця», 10 мг	0,02270–0,04550
Таблетки «Алерік», 10 мг	0,01890–0,03780
Таблетки «Кларитин», 10 мг	0,01890–0,03780
Таблетки «Лорано», 10 мг	0,02610–0,05200
Таблетки «Лоратадин», 10 мг	0,03700–0,07420
Таблетки «Лоризан», 10 мг	0,01840–0,03680
Таблетки «Едем», 5 мг	0,01300–0,03140
Таблетки «Трексил-нео», 5 мг	0,01300–0,03140
Таблетки «Алергомакс», 5 мг	0,01300–0,03140
Таблетки «Дезлоратадин», 5 мг	0,01500–0,03550
Таблетки «Алергостоп», 5 мг	0,01300–0,03140
Таблетки «Алерсіс», 5 мг	0,01290–0,03000
Таблетки «Діазолін-Дарниця», 0,1 г	0,02210–0,04250
Драже «Діазолін», 0,1 г	0,02700–0,05040
Драже «Діазолін», 0,05 г	0,03910–0,07760
Порошок «Діазолін для дітей», 0,6 г	0,12300–0,24600

4.2.3 Спектрофотометричні методики кількісного визначення зопіклону у лікарських формах.

*Приготування розчину порівняння:* точну наважку ФСЗ зопіклону, згідно концентрації вихідного розчину, вказаної в табл. 4.1, вміщують у мірну колбу з притертим корком ємністю 25,00 мл, розчиняють у ацетоні, доводять ацетоном до позначки та перемішують. 1,00 мл одержаного

вихідного розчину переносять у мірну колбу з притертим корком ємністю 10,00 мл, додають 1,00 мл розчину БТС (див. табл. 3.1), доводять ацетоном до позначки та перемішують.

*Приготування компенсаційного розчину:* 1,00 мл розчину БТС (див. табл. 3.1) вміщують у мірну колбу з притертим корком ємністю 10,00 мл, доводять ацетоном до позначки та перемішують.

Методика кількісного визначення зопіклону у таблетках. Точну наважку подрібненої таблеткової маси (табл. 4.4) вміщують у мірну колбу з притертим корком ємністю 25,00 мл, розчиняють у ацетоні, доводять ацетоном до позначки, перемішують і фільтрують крізь паперовий фільтр «синя стрічка». 1,00 мл даного розчину переносять у мірну колбу з притертим корком ємністю 10,00 мл, додають 1,00 мл розчину БТС (див. табл. 3.1), доводять ацетоном до позначки та перемішують.

Вимірюють абсорбцію розчину лікарської форми та розчину порівняння на фоні компенсаційного розчину за аналітичної довжини хвилі (див. табл. 3.1). Розрахунок вмісту зопіклону проводять за формулою 4.1.

4.2.4 Спектрофотометрична методика кількісного визначення мебгідроліну нападизилату у лікарських формах.

*Приготування розчину порівняння:* точну наважку ФСЗ мебгідроліну нападизилату, згідно концентрації вихідного розчину, вказаної в табл. 4.1, вміщують у ділильну лійку, розчиняють у 1 мл 0,5 М гідроксиду натрію, додають 10,00 хлороформу, струшують протягом 1 хв, витримують 10 хвилин, відділяють хлороформний шар та фільтрують його крізь паперовий фільтр «синя стрічка». 5,00 мл одержаного розчину переносять у мірну колбу з притертим корком ємністю 25,00 мл, доводять хлороформом до позначки та перемішують. 1,00 мл одержаного розчину переносять у мірну колбу з притертим корком ємністю 10,00 мл, додають 1,00 мл розчину БТС у хлороформі (див. табл. 3.1), доводять хлороформом до позначки та перемішують.

*Приготування компенсаційного розчину:* 1 мл 0,5 М гідроксиду натрію вміщують у ділильну лійку, додають 10,00 хлороформу, струшують протягом 1 хв, витримують 10 хвилин, відділяють хлороформний шар та фільтрують його крізь паперовий фільтр «синя стрічка». 5,00 мл одержаного розчину переносять у мірну колбу з притертим корком ємністю 25,00 мл, доводять хлороформом до позначки та перемішують. 1,00 мл одержаного розчину переносять у мірну колбу з притертим корком ємністю 10,00 мл, додають 1,00 мл розчину БТС у хлороформі (див. табл. 3.1), доводять хлороформом до позначки та перемішують.

Методика кількісного визначення мебгідроліну нападизилату у таблетках, драже та порошку для приготування суспензії. Точну наважку подрібненої лікарської форми (табл. 4.4) вміщують у ділильну лійку, розчиняють у 1 мл 0,5 М гідроксиду натрію, додають 10,00 хлороформу, струшують протягом 1 хв, витримують 10 хвилин, відділяють хлороформний шар та фільтрують його крізь паперовий фільтр «синя стрічка». 5,00 мл одержаного розчину переносять у мірну колбу з притертим корком ємністю 25,00 мл, доводять хлороформом до позначки та перемішують. 1,00 мл одержаного розчину переносять у мірну колбу з притертим корком ємністю 10,00 мл, додають 1,00 мл розчину БТС у хлороформі (див. табл. 3.1), доводять хлороформом до позначки та перемішують.

Вимірюють абсорбцію розчину лікарської форми та розчину порівняння на фоні компенсаційного розчину за аналітичної довжини хвилі (див. табл. 3.1). Розрахунок вмісту мебгідроліну нападизилату проводять за формулою 4.1.

4.2.5 Спектрофотометрична методика кількісного визначення тригексифенідилу у лікарських формах.

*Приготування розчину порівняння:* точну наважку РСЗ тригексифенідилу, згідно концентрації вихідного розчину, вказаної в табл. 4.1, вміщують у мірну колбу з притертим корком ємністю 25,00 мл, розчиняють у 0,25 мл спирту етилового, доводять ацетоном до позначки та

перемішують. 1,00 мл одержаного вихідного розчину переносять у мірну колбу з притертим корком ємністю 10,00 мл, додають 1,00 мл розчину БКЗ (див. табл. 3.1), доводять ацетоном до позначки та перемішують.

*Приготування компенсаційного розчину:* 0,25 мл спирту етилового вміщують у мірну колбу з притертим корком ємністю 25,00 мл, доводять ацетоном до позначки та перемішують. 1,00 мл одержаного вихідного розчину переносять у мірну колбу з притертим корком ємністю 10,00 мл, додають 1,00 мл розчину БКЗ (див. табл. 3.1), доводять ацетоном до позначки та перемішують.

Методика кількісного визначення тригексифенідилу у таблетках. Точну наважку подрібненої таблеткової маси (табл. 4.4) вміщують у мірну колбу з притертим корком ємністю 25,00 мл, розчиняють у 0,25 мл спирту етилового, доводять ацетоном до позначки, перемішують і фільтрують крізь паперовий фільтр «синя стрічка». 1,00 мл даного розчину переносять у мірну колбу з притертим корком ємністю 10,00 мл, додають 1,00 мл розчину БКЗ (див. табл. 3.1), доводять ацетоном до позначки та перемішують.

Вимірюють абсорбцію розчину лікарської форми та розчину порівняння на фоні компенсаційного розчину за аналітичної довжини хвилі (див. табл. 3.1). Розрахунок вмісту тригексифенідилу проводять за формулою 4.1.

4.2.6 Спектрофотометрична методика кількісного визначення тіопенталу натрію у лікарських формах.

*Приготування розчину порівняння:* точну наважку РСЗ тіопенталу натрію, згідно концентрації вихідного розчину, вказаної в табл. 4.1, вміщують у мірну колбу з притертим корком ємністю 100,00 мл, розчиняють у ацетоні, доводять ацетоном до позначки та перемішують. 1,50 мл одержаного вихідного розчину переносять у мірну колбу з притертим корком ємністю 10,00 мл, додають 1,00 мл розчину БКЗ (див. табл. 3.1), доводять ацетоном до позначки та перемішують.

*Приготування компенсаційного розчину:* 1,00 мл розчину БКЗ (див. табл. 3.1) вміщують у мірну колбу з притертим корком ємністю 10,00 мл, доводять ацетоном до позначки та перемішують.

Методика кількісного визначення тіопенталу натрію у порошку для приготування ін'єкційних розчинів. Точну наважку подрібненого порошку (табл. 4.4) вміщують у мірну колбу з притертим корком ємністю 100,00 мл, розчиняють у ацетоні, доводять ацетоном до позначки та перемішують. 1,00 мл даного розчину переносять у мірну колбу з притертим корком ємністю 10,00 мл, додають 1,00 мл розчину БТС (див. табл. 3.1), доводять ацетоном до позначки та перемішують.

Вимірюють абсорбцію розчину лікарської форми та розчину порівняння на фоні компенсаційного розчину за аналітичної довжини хвилі (див. табл. 3.1). Розрахунок вмісту тіопенталу натрію проводять за формулою 4.1.

4.2.7 Спектрофотометрична методика кількісного визначення лоратадину у лікарських формах

*Приготування розчину порівняння:* точну наважку ФСЗ лоратадину, згідно концентрації вихідного розчину, вказаної в табл. 4.1, вміщують у мірну колбу з притертим корком ємністю 100,00 мл, розчиняють у ацетоні, доводять ацетоном до позначки та перемішують. 2,00 мл одержаного вихідного розчину переносять у мірну колбу з притертим корком ємністю 10,00 мл, додають 1,00 мл розчину БКЗ (див. табл. 3.1), доводять ацетоном до позначки та перемішують.

*Приготування компенсаційного розчину:* 1,00 мл розчину БКЗ (див. табл. 3.1) вміщують у мірну колбу з притертим корком ємністю 10,00 мл, доводять ацетоном до позначки та перемішують.

Методика кількісного визначення лоратадину у таблетках. Точну наважку подрібненої лікарської форми (табл. 4.4) вміщують у мірну колбу з притертим корком ємністю 25,00 мл, розчиняють у ацетоні, доводять ацетоном до позначки, перемішують і фільтрують крізь паперовий фільтр

«синя стрічка». 2,00 мл даного розчину переносять у мірну колбу з притертим корком ємністю 10,00 мл, додають 1,00 мл розчину БКЗ (див. табл. 3.1), доводять ацетоном до позначки та перемішують.

Вимірюють абсорбцію розчину лікарської форми та розчину порівняння на фоні компенсаційного розчину за аналітичної довжини хвилі (див. табл. 3.1). Розрахунок вмісту лоратадину проводять за формулою 4.1.

#### 4.2.8 Спектрофотометрична методика кількісного визначення дезлоратадину у лікарських формах

*Приготування розчину порівняння:* точну наважку ФСЗ дезлоратадину, згідно концентрації вихідного розчину, вказаної в табл. 4.1, вміщують у мірну колбу з притертим корком ємністю 100,00 мл, розчиняють у ацетоні, доводять ацетоном до позначки та перемішують. 2,00 мл одержаного вихідного розчину переносять у мірну колбу з притертим корком ємністю 10,00 мл, додають 1,00 мл розчину БКЗ (див. табл. 3.1), доводять ацетоном до позначки та перемішують.

*Приготування компенсаційного розчину:* 1,00 мл розчину БКЗ (див. табл. 3.1) вміщують у мірну колбу з притертим корком ємністю 10,00 мл, доводять ацетоном до позначки та перемішують.

Методика кількісного визначення дезлоратадину у таблетках. Точну наважку подрібненої лікарської форми (табл. 4.4) вміщують у мірну колбу з притертим корком ємністю 25,00 мл, розчиняють у ацетоні, доводять ацетоном до позначки, перемішують і фільтрують крізь паперовий фільтр «синя стрічка». 2,00 мл даного розчину переносять у мірну колбу з притертим корком ємністю 10,00 мл, додають 1,00 мл розчину БКЗ (див. табл. 3.1), доводять ацетоном до позначки та перемішують.

Вимірюють абсорбцію розчину лікарської форми та розчину порівняння на фоні компенсаційного розчину за аналітичної довжини хвилі (див. табл. 3.1). Розрахунок вмісту дезлоратадину проводять за формулою 4.1.

#### 4.2.9 Спектрофотометрична методика кількісного визначення кетотифену у лікарських формах

*Приготування розчину порівняння:* точну наважку ФСЗ кетотифену фумарату, у перерахунку на кетотифен основу згідно концентрації вихідного розчину, вказаної в табл. 4.1, вміщують у мірну колбу з притертим корком ємністю 100,00 мл, розчиняють у ацетоні, доводять ацетоном до позначки та перемішують. 2,00 мл одержаного вихідного розчину переносять у мірну колбу з притертим корком ємністю 10,00 мл, додають 1,00 мл розчину БКП (див. табл. 3.1), доводять ацетоном до позначки та перемішують.

*Приготування компенсаційного розчину:* 1,00 мл розчину БКП (див. табл. 3.1) вміщують у мірну колбу з притертим корком ємністю 10,00 мл, доводять ацетоном до позначки та перемішують.

Методика кількісного визначення кетотифену у таблетках та капсулах. Вміст капсул звільняють від оболонки. Точну наважку подрібненої лікарської форми (табл. 4.4) вміщують у мірну колбу з притертим корком ємністю 25,00 мл, розчиняють у ацетоні, доводять ацетоном до позначки, перемішують і фільтрують крізь паперовий фільтр «синя стрічка». 2,00 мл даного розчину переносять у мірну колбу з притертим корком ємністю 10,00 мл, додають 1,00 мл розчину БКП (див. табл. 3.1), доводять ацетоном до позначки та перемішують.

Вимірюють абсорбцію розчину лікарської форми та розчину порівняння на фоні компенсаційного розчину за аналітичної довжини хвилі (див. табл. 3.1). Розрахунок вмісту кетотифену проводять за формулою 4.1.

За розробленими методиками було проведено кількісне визначення досліджуваних речовин у лікарських препаратах. Для цього від кожного препарату відбиралось по шість наважок. Отриманні дані оброблялись статистично. Результати кількісного визначення наведені у табл. 4.5.

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

Лікарський препарат	Наважка, г (мл)	Знайдено, г	Метрологічні характеристики
1	2	3	4
За реакцією з БТС			
1. Таблетки «Димедрол», 0,05 г (ПАТ «Луганський хімфармзавод»)	0,01463 0,01615 0,01884 0,02048 0,02316 0,02634	0,04991 0,04982 0,04990 0,04979 0,05009 0,04962	$\bar{X} = 0,04986$ $S = 1,56 \cdot 10^{-4}$ $S_x = 6,37 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x = 4,01 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x} = 1,64 \cdot 10^{-4}$ $\bar{\varepsilon} = 0,329$
2. Таблетки «Димедрол», 0,05 г (ОВХФП «Біостимулятор»)	0,01458 0,01816 0,02013 0,02185 0,02504 0,02554	0,05002 0,05008 0,05001 0,04978 0,05019 0,04998	$\bar{X} = 0,05001$ $S = 1,35 \cdot 10^{-4}$ $S_x = 5,51 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x = 3,47 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x} = 1,42 \cdot 10^{-4}$ $\bar{\varepsilon} = 0,284$
3. Таблетки «Димедрол– Дарниця», 0,05 г	0,01492 0,01515 0,01723 0,01887 0,02116 0,02220	0,04973 0,05028 0,04981 0,05047 0,05026 0,04966	$\bar{X} = 0,05004$ $S = 3,42 \cdot 10^{-4}$ $S_x = 1,40 \cdot 10^{-4}$ $\Delta x = 8,79 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x} = 3,59 \cdot 10^{-4}$ $\bar{\varepsilon} = 0,717$
4. Таблетки «Димедрол», 0,1 г	0,01024 0,01155 0,01215 0,01246 0,01378 0,01490	0,10023 0,10051 0,10077 0,10216 0,10004 0,10013	$\bar{X} = 0,10064$ $S = 7,92 \cdot 10^{-4}$ $S_x = 3,23 \cdot 10^{-4}$ $\Delta x = 2,04 \cdot 10^{-3}$ $\Delta \bar{x} = 8,31 \cdot 10^{-4}$ $\bar{\varepsilon} = 0,825$
5. Розчин для ін'єкцій «Димедрол–Дарниця», 10 мг/мл	1,00 1,10 1,20 1,30 1,40 1,50	0,00998 0,00998 0,01009 0,00999 0,01001 0,01023	$\bar{X} = 0,01005$ $S = 9,89 \cdot 10^{-5}$ $S_x = 4,04 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x = 2,54 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x} = 1,04 \cdot 10^{-4}$ $\bar{\varepsilon} = 1,03$



1	2	3	4
6. Розчин для ін'єкцій «Димедрол», 10 мг/мл	1,00 1,10 1,20 1,30 1,40 1,50	0,01011 0,00998 0,00995 0,01026 0,00999 0,00999	$\bar{X} = 0,01005$ $S = 1,18 \cdot 10^{-4}$ $S_x = 4,82 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x = 3,03 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x} = 1,24 \cdot 10^{-4}$ $\bar{\varepsilon} = 1,23$
7. Таблетки «Зопіклон», 7,5 мг	0,08770 0,09305 0,09834 0,12158 0,13410 0,15550	0,00739 0,00749 0,00751 0,00749 0,00751 0,00755	$\bar{X} = 0,00749$ $S = 5,37 \cdot 10^{-5}$ $S_x = 2,19 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x = 1,38 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x} = 5,63 \cdot 10^{-5}$ $\bar{\varepsilon} = 0,752$
8. Таблетки «Соннат», 7,5 мг	0,10396 0,12534 0,14370 0,15452 0,17158 0,18293	0,00753 0,00748 0,00751 0,00752 0,00749 0,00753	$\bar{X} = 0,00751$ $S = 2,10 \cdot 10^{-5}$ $S_x = 8,57 \cdot 10^{-6}$ $\Delta x = 5,34 \cdot 10^{-5}$ $\Delta \bar{x} = 2,20 \cdot 10^{-5}$ $\bar{\varepsilon} = 0,293$
9. Таблетки «Сонован», 7,5 мг	0,10140 0,10033 0,13350 0,14783 0,15703 0,17063	0,00749 0,00748 0,00750 0,00753 0,00751 0,00751	$\bar{X} = 0,00750$ $S = 1,75 \cdot 10^{-5}$ $S_x = 7,14 \cdot 10^{-6}$ $\Delta x = 4,50 \cdot 10^{-5}$ $\Delta \bar{x} = 1,84 \cdot 10^{-5}$ $\bar{\varepsilon} = 0,245$
10. Таблетки «Зопіклон– ЗН», 7,5 мг	0,10615 0,11951 0,14037 0,15341 0,16648 0,17570	0,00745 0,00748 0,00752 0,00753 0,00752 0,00745	$\bar{X} = 0,00749$ $S = 3,66 \cdot 10^{-5}$ $S_x = 1,49 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x = 9,41 \cdot 10^{-5}$ $\Delta \bar{x} = 3,83 \cdot 10^{-5}$ $\bar{\varepsilon} = 0,511$
11. Таблетки «Діазолін– Дарниця», 0,1 г	0,02208 0,25653 0,28703 0,03203 0,36650 0,04250	0,10052 0,09988 0,10061 0,09995 0,09977 0,10015	$\bar{X} = 0,10015$ $S = 3,48 \cdot 10^{-4}$ $S_x = 1,42 \cdot 10^{-4}$ $\Delta x = 8,94 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x} = 3,65 \cdot 10^{-4}$ $\bar{\varepsilon} = 0,367$

1	2	3	4
12. Драже «Діазолін», 0,1 г	0,02639 0,02904 0,03368 0,03855 0,04525 0,05039	0,09941 0,09987 0,10273 0,10289 0,10010 0,10022	$\bar{X} = 0,10087$ $S = 1,28 \cdot 10^{-3}$ $S_x = 0,52 \cdot 10^{-3}$ $\Delta x = 3,29 \cdot 10^{-3}$ $\Delta \bar{x} = 1,34 \cdot 10^{-3}$ $\bar{\varepsilon} = 1,33$
13. Драже «Діазолін», 0,05 г	0,04115 0,04656 0,05237 0,05945 0,06512 0,07761	0,04983 0,04996 0,04977 0,04987 0,05020 0,05035	$\bar{X} = 0,05000$ $S = 2,29 \cdot 10^{-4}$ $S_x = 0,93 \cdot 10^{-4}$ $\Delta x = 5,89 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x} = 2,40 \cdot 10^{-4}$ $\bar{\varepsilon} = 0,480$
14. Порошок «Діазолін для дітей», 0,6 г	0,12300 0,14582 0,17452 0,20635 0,22150 0,24716	0,61015 0,59744 0,59940 0,60688 0,60724 0,60332	$\bar{X} = 0,604072$ $S = 4,92 \cdot 10^{-3}$ $S_x = 2,01 \cdot 10^{-3}$ $\Delta x = 1,27 \cdot 10^{-2}$ $\Delta \bar{x} = 5,16 \cdot 10^{-3}$ $\bar{\varepsilon} = 0,854$
За реакцією з БКЗ			
15. Таблетки «Циклодол», 2 мг	0,20598 0,22651 0,28563 0,33700 0,42838 0,48725	0,00200 0,00202 0,00201 0,00205 0,00199 0,00197	$\bar{X} = 0,00201$ $S = 2,73 \cdot 10^{-5}$ $S_x = 1,11 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x = 7,02 \cdot 10^{-5}$ $\Delta \bar{x} = 2,86 \cdot 10^{-5}$ $\bar{\varepsilon} = 1,42$
16. Порошок «Тіопентал», 1,0 г	0,00301 0,00351 0,00401 0,00450 0,00473 0,00501	0,99463 1,0041 0,99120 1,0038 1,0015 1,01077	$\bar{X} = 1,001$ $S = 7 \cdot 10^{-3}$ $S_x = 2,86 \cdot 10^{-3}$ $\Delta x = 1,82 \cdot 10^{-2}$ $\Delta \bar{x} = 7,34 \cdot 10^{-3}$ $\bar{\varepsilon} = 0,733$
17. Таблетки «Лоратадин- Дарниця», 10 мг	0,02278 0,02367 0,03184 0,03360 0,04115 0,04548	0,01029 0,01002 0,01008 0,01017 0,01021 0,01005	$\bar{X} = 0,01014$ $S = 1,04 \cdot 10^{-4}$ $S_x = 2,67 \cdot 10^{-4}$ $\Delta x = 3,78 \cdot 10^{-3}$ $\Delta \bar{x} = 1,09 \cdot 10^{-4}$ $\bar{\varepsilon} = 1,07$

1	2	3	4
18. Таблетки «Алерік», 10 мг	0,01875 0,01953 0,02517 0,02809 0,03420 0,03762	0,00999 0,00991 0,00985 0,00978 0,01002 0,00991	$\bar{X} = 0,00991$ $S = 8,83 \cdot 10^{-5}$ $S_x = 3,60 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x = 2,27 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x} = 9,26 \cdot 10^{-5}$ $\bar{\varepsilon} = 0,935$
19. Таблетки «Кларитин», 10 мг	0,01890 0,02116 0,02847 0,03144 0,03581 0,03774	0,01007 0,01020 0,01016 0,01025 0,01009 0,01029	$\bar{X} = 0,01018$ $S = 8,71 \cdot 10^{-5}$ $S_x = 3,55 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x = 2,24 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x} = 9,14 \cdot 10^{-5}$ $\bar{\varepsilon} = 0,897$
20. Таблетки «Лорано», 10 мг	0,02613 0,02962 0,03481 0,03942 0,04524 0,05219	0,00980 0,00998 0,01003 0,01000 0,00992 0,01005	$\bar{X} = 0,00996$ $S = 9,18 \cdot 10^{-5}$ $S_x = 3,75 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x = 2,36 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x} = 9,63 \cdot 10^{-5}$ $\bar{\varepsilon} = 0,967$
21. Таблетки «Лоратадин», 10 мг	0,03709 0,04228 0,05601 0,05953 0,06543 0,07419	0,00989 0,01000 0,01001 0,00993 0,01008 0,01011	$\bar{X} = 0,01000$ $S = 8,43 \cdot 10^{-5}$ $S_x = 3,44 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x = 2,17 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x} = 8,84 \cdot 10^{-5}$ $\bar{\varepsilon} = 0,884$
22. Таблетки «Лоризан», 10 мг	0,01843 0,02215 0,02587 0,02753 0,03126 0,03690	0,00994 0,01002 0,01016 0,00994 0,01000 0,01021	$\bar{X} = 0,01005$ $S = 11,4 \cdot 10^{-5}$ $S_x = 4,65 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x = 2,93 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x} = 11,9 \cdot 10^{-5}$ $\bar{\varepsilon} = 1,18$
23. Таблетки «Едем», 5 мг	0,01307 0,01586 0,01840 0,02213 0,02741 0,03137	0,00500 0,00497 0,00499 0,00501 0,00500 0,00497	$\bar{X} = 0,00499$ $S = 1,67 \cdot 10^{-5}$ $S_x = 6,825 \cdot 10^{-6}$ $\Delta x = 4,29 \cdot 10^{-5}$ $\Delta \bar{x} = 1,75 \cdot 10^{-5}$ $\bar{\varepsilon} = 0,351$

1	2	3	4
24. Таблетки «Трексил-нео», 5 мг	0,01300 0,01753 0,02208 0,02448 0,02890 0,03120	0,00496 0,00499 0,00503 0,00500 0,00506 0,00503	$\bar{X} = 0,00501$ $S = 3,54 \cdot 10^{-5}$ $S_x = 1,44 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x = 9,10 \cdot 10^{-5}$ $\Delta \bar{x} = 3,71 \cdot 10^{-5}$ $\bar{\varepsilon} = 0,741$
25. Таблетки «Алергомакс», 5 мг	0,01294 0,01452 0,01870 0,02194 0,02543 0,03106	0,00495 0,00506 0,00499 0,00505 0,00503 0,00500	$\bar{X} = 0,00501$ $S = 4,13 \cdot 10^{-5}$ $S_x = 1,69 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x = 1,06 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x} = 4,33 \cdot 10^{-5}$ $\bar{\varepsilon} = 0,864$
26. Таблетки «Дезлоратадин», 5 мг	0,01478 0,01952 0,02503 0,02708 0,03050 0,03549	0,00497 0,00497 0,00497 0,00500 0,00502 0,00504	$\bar{X} = 0,00500$ $S = 3,02 \cdot 10^{-5}$ $S_x = 1,23 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x = 7,76 \cdot 10^{-5}$ $\Delta \bar{x} = 3,17 \cdot 10^{-5}$ $\bar{\varepsilon} = 0,634$
27. Таблетки «Алергостоп», 5 мг	0,01302 0,01745 0,02207 0,02456 0,02970 0,03121	0,00501 0,00501 0,00498 0,00494 0,00501 0,00500	$\bar{X} = 0,00499$ $S = 2,79 \cdot 10^{-5}$ $S_x = 1,14 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x = 7,17 \cdot 10^{-5}$ $\Delta \bar{x} = 2,93 \cdot 10^{-5}$ $\bar{\varepsilon} = 0,587$
28. Таблетки «Алерсіс», 5 мг	0,01293 0,01686 0,01950 0,02109 0,02741 0,02982	0,00503 0,00499 0,00497 0,00496 0,00499 0,00500	$\bar{X} = 0,00499$ $S = 2,45 \cdot 10^{-5}$ $S_x = 1,00 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x = 6,30 \cdot 10^{-5}$ $\Delta \bar{x} = 2,57 \cdot 10^{-5}$ $\bar{\varepsilon} = 0,515$
За реакцією з БКП			
29. Таблетки «Кетотифен-ЛХ», 1 мг	0,15717 0,18516 0,25673 0,32910 0,43280 0,55115	0,00104 0,00101 0,00101 0,00104 0,00099 0,00102	$\bar{X} = 0,00102$ $S = 1,94 \cdot 10^{-5}$ $S_x = 7,92 \cdot 10^{-6}$ $\Delta x = 4,32 \cdot 10^{-5}$ $\Delta \bar{x} = 1,44 \cdot 10^{-5}$ $\bar{\varepsilon} = 1,43$

1	2	3	4
30. Таблетки «Кетотифен Софарма», 1 мг	0,09084 0,12583 0,17727 0,19843 0,22619 0,26448	0,00105 0,00103 0,00103 0,00101 0,00099 0,00102	$\bar{X} = 0,00102$ $S = 2,04 \cdot 10^{-5}$ $S_x = 8,33 \cdot 10^{-6}$ $\Delta x = 3,94 \cdot 10^{-5}$ $\Delta \bar{x} = 1,34 \cdot 10^{-5}$ $\bar{\varepsilon} = 1,33$
31. Таблетки «Кетотифен», 1 мг	0,13691 0,18953 0,31550 0,41234 0,48165 0,54784	0,00098 0,00098 0,00099 0,00098 0,00100 0,00099	$\bar{X} = 0,00099$ $S = 8,16 \cdot 10^{-6}$ $S_x = 3,33 \cdot 10^{-6}$ $\Delta x = 2,10 \cdot 10^{-5}$ $\Delta \bar{x} = 8,56 \cdot 10^{-6}$ $\bar{\varepsilon} = 0,865$
32. Капсули «Кетотифен–В», 1 мг	0,08471 0,09388 0,10887 0,16695 0,18432 0,25685	0,00100 0,00101 0,00101 0,00101 0,00100 0,00100	$\bar{X} = 0,00101$ $S = 5,48 \cdot 10^{-6}$ $S_x = 2,24 \cdot 10^{-6}$ $\Delta x = 1,41 \cdot 10^{-5}$ $\Delta \bar{x} = 5,77 \cdot 10^{-6}$ $\bar{\varepsilon} = 0,570$

4.3. Розробка хроматографічних методик кількісного визначення лікарських засобів

4.3.1 Методика встановлення придатності хроматографічної системи для кількісного визначення досліджуваних речовин. Випробування придатності хроматографічної системи є обов'язковим для забезпечення необхідної ефективності хроматографування досліджуваної речовини.

Хроматографічна система вважається придатною за наступних умов:

– коефіцієнт симетрії ( $A_s$ ) хроматографічного піку досліджуваної речовини, розрахований з хроматограм розчину порівняння, знаходиться в межах 0,8-1,5;

– відносне стандартне відхилення, розраховане для піка досліджуваної речовини з хроматограф розчину порівняння, не перевищує 1,5 % для 6 паралельних вимірів;

– ефективність хроматографічної колонки, розрахована для піка досліджуваної речовини з хроматограм розчину порівняння, становить не менше 1500 теоретичних тарілок.

Для встановлення вказаних показників придатності хроматографічної системи готували розчини ФСЗ досліджуваних речовин, в оптимальних умовах проводили хроматографування, визначення площі піку та розраховували величини коефіцієнтів симетрії ( $A_s$ ) за формулою 2.7, число теоретичних тарілок ( $N$ ) за формулою 2.8 та відносне стандартне відхилення ( $RSD$ ) за формулою 2.10. З табл. 4,6 видно, що отримані показники придатності хроматографічної системи не перевищують рекомендовані межі, тобто застосована хроматографічна система є ефективною для розділення досліджуваних речовин.

Таблиця 4.6

**Значення параметрів хроматографічної системи,  
які характеризують її придатність**

Лікарська речовина	Параметри			
	Час утримання ( $t_R$ ), хв	$A_s$	$N$	$RSD$
Дифенгідрамін	5,82	1,07	1865	0,93
Зопіклон	7,54	1,12	1910	1,16

4.3.2 Хроматографічні методики кількісного визначення дифенгідраміну гідрохлориду у лікарських формах

*Приготування розчину порівняння:* точну наважку ФСЗ дифенгідраміну гідрохлориду згідно концентрації вихідного розчину, вказаної в табл. 4.2,

вміщують у мірну колбу ємністю 25,00 мл, розчиняють у рухомій фазі (див. табл. 3.8), доводять нею до позначки та перемішують. 1,00 мл одержаного вихідного розчину переносять у мірну колбу ємністю 10,00 мл, доводять рухомою фазою до позначки та перемішують.

Методика кількісного визначення дифенгідраміну гідрохлориду у таблетках. Точну наважку подрібненої таблеткової маси (табл. 4.7) вміщують у мірну колбу ємністю 25,00 мл, розчиняють у рухомій фазі (див. табл. 3.8), доводять нею до позначки, перемішують і фільтрують крізь паперовий фільтр «синя стрічка». 1,00 мл фільтрату переносять у мірну колбу ємністю 10,00 мл, доводять рухомою фазою до позначки та перемішують.

Хроматографують та вимірюють площу піку дифенгідраміну у розчині лікарської форми та розчині порівняння за вибраних умов (див. табл. 3.8). Розрахунок вмісту дифенгідраміну гідрохлориду проводять за формулою 4.3.

4.3.3 Хроматографічні методики кількісного визначення зопіклону у лікарських формах

*Приготування розчину порівняння:* точну наважку ФСЗ зопіклону, згідно концентрації вихідного розчину, вказаної в табл. 4.2, вміщують у мірну колбу ємністю 25,00 мл, розчиняють у рухомій фазі (див. табл. 3.8), доводять нею до позначки та перемішують. 1,00 мл одержаного вихідного розчину переносять у мірну колбу ємністю 10,00 мл, доводять рухомою фазою до позначки та перемішують.

Методика кількісного визначення зопіклону у таблетках. Точну наважку подрібненої таблеткової маси (табл. 4.7) вміщують у мірну колбу ємністю 25,00 мл, розчиняють у рухомій фазі (див. табл. 3.8), доводять нею до позначки, перемішують і фільтрують крізь паперовий фільтр «синя стрічка». 1,00 мл фільтрату переносять у мірну колбу ємністю 10,00 мл, доводять рухомою фазою до позначки та перемішують.

Хроматографують та вимірюють площу піку зопіклону у розчині лікарської форми та розчині порівняння за вибраних умов (див. табл. 3.8). Розрахунок вмісту зопіклону проводять за формулою 4.3.

**Умови приготування вихідних розчинів для хроматографічного  
визначення лікарських речовин в препаратах**

Лікарський препарат	Наважка, г
Таблетки «Димедрол-Дарниця», 0,05 г	0,0150–0,0224
Таблетки «Димедрол», 0,1 г	0,0100–0,0150
Таблетки «Зопіклон», 7,5 мг	0,0975–0,1450
Таблетки «Соннат», 7,5 мг	0,1140–0,1720

За запропонованими методиками було проведено кількісне визначення досліджуваних речовин у лікарських препаратах. Отримані дані оброблялись статистично. Результати кількісного визначення наведені у табл. 4.8.

Таблиця 4.8

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

Лікарський препарат	Наважка, г (мл)	Знайдено, г	Метрологічні характеристики
1	2	3	4
Таблетки «Димедрол- Дарниця», 0,05 г	0,01515	0,0504	$\bar{X} = 0,04996$
	0,01734	0,0503	$S = 4,35 \cdot 10^{-4}$
	0,01887	0,0498	$S_x = 1,77 \cdot 10^{-4}$
	0,01953	0,0497	$\Delta x = 1,12 \cdot 10^{-3}$
	0,02091	0,0493	$\Delta \bar{x} = 4,56 \cdot 10^{-4}$
	0,02220	0,0503	$\bar{\varepsilon} = 0,913$
Таблетки «Димедрол», 0,1 г	0,01016	0,0992	$\bar{X} = 0,1005$
	0,01158	0,1025	$S = 1,35 \cdot 10^{-3}$
	0,01215	0,1016	$S_x = 5,51 \cdot 10^{-4}$
	0,01297	0,0995	$\Delta x = 3,47 \cdot 10^{-3}$
	0,01316	0,1008	$\Delta \bar{x} = 1,42 \cdot 10^{-3}$
	0,01495	0,0994	$\bar{\varepsilon} = 1,41$



1	2	3	4
Таблетки «Зопіклон», 7,5 мг	0,09756 0,10639 0,12064 0,12816 0,13775 0,14551	0,00743 0,00753 0,00742 0,00751 0,00746 0,00750	$\bar{X} = 0,00748$ $S = 4,51 \cdot 10^{-5}$ $S_x = 1,84 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x = 1,16 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x} = 4,73 \cdot 10^{-5}$ $\bar{\varepsilon} = 0,632$
Таблетки «Соннат», 7,5 мг	0,11448 0,11516 0,14278 0,14839 0,16553 0,17163	0,00747 0,00747 0,00742 0,00749 0,00753 0,00752	$\bar{X} = 0,00748$ $S = 3,98 \cdot 10^{-5}$ $S_x = 1,62 \cdot 10^{-5}$ $\Delta x = 1,02 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{x} = 4,17 \cdot 10^{-5}$ $\bar{\varepsilon} = 0,558$

Результати досліджень за даним розділом наведені в роботах [199-206].

## ВИСНОВКИ

1. Встановлено величини питомих показників поглинання і межі концентрацій, в яких спостерігається підпорядкованість світлопоглинання закону Бера, для 8 лікарських речовин, які реагують з сульфогталеїновими барвниками – БТС, БКП, БКЗ. Вказані величини становлять не менше  $328\%^{-1}$ , та не більше 3,00 мг/100 мл відповідно, що свідчить про високу чутливість обраних фотометричних реакцій.

2. Для визначення дифенгідраміну гідрохлориду та зопіклону методом ВЕРХ встановлені показники придатності хроматографічної системи. Коефіцієнт асиметрії піку не більше 1,12, число теоретичних тарілок не менше 1865, що свідчать про високу ефективність розділення досліджених речовин.

3. Розроблено спектрофотометричні методики кількісного визначення досліджуваних лікарських речовин у складі 28 лікарських форм

промислового виробництва. Методики не потребують особливих умов, тривалого етапу підготування проби, є експресними та простими у виконанні.

4. Розроблено методики кількісного визначення методом високоефективної рідинної хроматографії дифенгідраміну гідрохлориду та зопіклону в 4 лікарських формах. Розроблені методики кількісного визначення відзначаються простотою виконання, доступністю та швидкістю.

5. Проведено статистичну обробку результатів кількісного визначення лікарських речовин за розробленими методиками. Відносні невизначеності середніх результатів не перевищують 1 % для спектрофотометричних методик та 1 % для ВЕРХ-методик. Отримані результати свідчать про високу відтворюваність запропонованих методик.

## РОЗДІЛ 5

ВАЛІДАЦІЯ МЕТОДИК КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ  
ДОСЛІДЖУВАНИХ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН

Запорукою забезпечення надійності результатів аналізу, їх відтворюваності та придатності для виконання поставлених перед аналітиком завдань є ретельна валідація методик кількісного визначення лікарських речовин [219–228]. Державна Фармакопея України вимагає обов'язкової валідації методики кількісного визначення лікарських засобів, що включаються до методик контролю якості. Набір досліджуваних валідаційних характеристик може варіюватись та залежить від призначення аналітичної методики. Аналітичні методики, призначені для кількісного визначення, за вимогами Державної Фармакопеї України, мають валідуватися за наступними характеристиками: специфічність, лінійність, збіжність, правильність, робасність та діапазон застосування. Тому, наступним етапом роботи стала валідація запропонованих методик кількісного визначення лікарських речовин за вказаними характеристиками.

## 5.1. Специфічність

Специфічністю ДФУ називає здатність аналітичної методики однозначно оцінювати аналізовану речовину у присутності інших компонентів досліджуваного зразку. Такими компонентами можуть бути допоміжні речовини лікарської форми, домішки, продукти розпаду тощо. У застосуванні до методик кількісного визначення це означає можливість точно і правильно встановлювати вміст саме аналізованої речовини у зразку. Вибір способу підтвердження специфічності залежить від задач, які ставляться перед методикою. Якщо застосовувана методика недостатньо специфічна, то застосовують додаткові аналітичні методики, які у комплексі забезпечують необхідну вибірність аналізу. Такими додатковими методиками можуть бути,

наприклад, випробування на домішки, або відповідний спосіб підготовки проби, такий як екстракція, осадження, або підхід до обробки отриманих результатів, наприклад, одержання похідних. При валідації спектральних методик специфічність може бути підвищена завдяки індивідуалізуючим оптичним властивостям визначуваного компонента. Якщо методика, що валідується, ґрунтується на методах розділення (хроматографії), то для підтвердження специфічності використовують характерні хроматограми із зазначенням індивідуальних речовин, а також використовувати тести на чистоту піків [188, 221].

З метою визначення рівня специфічності запропонованих спектрофотометричних методик кількісного аналізу дифенгідраміну у складі таблеток «Димедрол» 0,05 г (ПАТ «Луганський хімфармзавод»), «Димедрол» 0,05 г (ОВХФП «Біостимулятор»), «Димедрол-Дарниця» 0,05 г, розчинів для ін'єкцій «Димедрол-Дарниця» 1 % 1 мл, «Димедрол» 1 % 1 мл; зопіклону у складі таблеток «Зопіклон» 7,5 мг, «Соннат» 7,5 мг, тіопенталу натрію у складі порошку «Тіопентал» 1,0 г, кетотифену у складі таблеток «Кетотифен» 1 мг, «Кетотифен-ЛХ» 1 мг, капсул «Кетотифен-В» 1 мг; лоратадину у складі таблеток «Алерік» 10 мг, «Кларитин» 10 мг, «Лорано» 10 мг, «Лоратадин» 10 мг, «Лоризан» 10 мг; мебгідроліну у складі таблеток «Діазолін-Дарниця», драже «Діазолін» 0,1 та «Діазолін» 0,05, порошку для приготування пероральної суспензії «Діазолін для дітей» проводили випробування розчинів «плацебо». Для цього, якщо вдалося отримати всі допоміжні речовини лікарської форми (табл. 5.1), створювали модельні суміші допоміжних речовин.

Таблиця 5.1

## Склад допоміжних речовин у модельних сумішах досліджуваних лікарських препаратів

Лікарський препарат	Допоміжні речовини															
	Лактози моногідрат	Цукор буряковий	Крохмаль картопляний	Крохмаль кукурудзяний	Глицирам	Кислота сорбінова	Кислота стеаринова	Аеросил	Тальк	Віск жовтий	Кальцію стеарат	Магнію стеарат	Мікрокристалічна целюлоза	Повідон	Вода	Олія соняшникова
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Таблетки «Димедрол» 0,05 г (ПАТ «Луганський хімфармзавод»)	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Таблетки «Димедрол» 0,05 г (ОВХФП «Біостимулятор»)	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Таблетки «Димедрол-Дарниця»	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Розчин для ін'єкцій «Димедрол-Дарниця»	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Розчин для ін'єкцій «Димедрол»	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Таблетки «Зопіклон»	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-

Продовж. табл. 5.1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Таблетки «Соннат»	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-
Порошок «Тіопентал»	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Таблетки «Кетотифен»	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-
Таблетки «Кетотифен-ЛХ»	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-
Капсули «Кетотифен-В»	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-
Таблетки «Алерік»	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-
Таблетки «Кларитин»	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Таблетки «Лорано»	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
Таблетки «Лоратадин»	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-
Таблетки «Лоризан»	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Таблетки «Діазолін-Дарниця»	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-
Драже «Діазолін» 0,1 г	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+
Драже «Діазолін» 0,05 г	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+
Порошок «Діазолін для дітей»	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-

До частини кожної модельної суміші додавали відповідну лікарську речовину у концентрації, яка міститься у препараті. Надалі послідовно відтворювали всі етапи пробопідготовки запропонованих методик для модельних сумішей, що містили аналізовану речовину, і для сумішей «плацебо» та вимірювали оптичну густину отриманих розчинів. Далі розраховували відсотковий внесок допоміжних речовин до величини абсорбції розчину. За вимогами ДФУ для однохвильового однокомпонентного аналізу, компоненти матриці досліджуваного зразка не повинні збільшувати поглинання за аналітичної довжини хвилі більше ніж десята частина допусків вмісту аналізованого компонента. У такому випадку вплив домішок на результати аналізу вважається неістотним [188]. Отримані в результаті величини поглинання досліджених розчинів та їх відношення наведені у табл. 5.2.

Таблиця 5.2

**Величина абсорбції розчинів модельних сумішей  
лікарських препаратів**

Лікарський препарат	Абсорбція розчинів модельних сумішей		Внесок до абсорбції допоміжних речовин, %
	Містить активний компонент	Не містить активний компонент	
1	2	3	4
Таблетки «Димедрол» 0,05 г (ПАТ «Луганський хімфармзавод»)	0,9562	0,0023	0,25
Таблетки «Димедрол» 0,05 г (ОВХФП «Біостимулятор»)	0,9489	0,0035	0,37
Таблетки «Димедрол-Дарниця»	0,9612	0,0029	0,30
Розчин для ін'єкцій «Димедрол-Дарниця»	1,2675	0,0076	0,60

1	2	3	4
Розчин для ін'єкцій «Димедрол»	1,2561	0,0081	0,65
Таблетки «Зопіклон»	1,1236	0,0019	0,17
Таблетки «Соннат»	1,1654	0,0021	0,18
Порошок «Тіопентал»	0,8953	0,0007	0,08
Таблетки «Кетотифен»	0,6924	0,0013	0,18
Таблетки «Кетотифен-ЛХ»	0,7259	0,0012	0,16
Капсули «Кетотифен-В»	0,7367	0,0015	0,20
Таблетки «Алерік»	1,0532	0,0047	0,44
Таблетки «Кларитин»	0,9856	0,0019	0,19
Таблетки «Лорано»	1,0248	0,0015	0,15
Таблетки «Лоратадин»	1,0831	0,0036	0,33
Таблетки «Лоризан»	0,9782	0,0027	0,28
Таблетки «Діазолін-Дарниця»	1,0568	0,0018	0,17
Драже «Діазолін» 0,1 г	1,0699	0,0026	0,24
Драже «Діазолін» 0,05 г	1,0700	0,0021	0,19
Порошок «Діазолін для дітей»	1,0750	0,0009	0,08

Таким чином, з табл. 5.2 видно, що допоміжні речовини лікарських форм: таблетки «Димедрол» 0,05 г (ПАТ «Луганський хімфармзавод»), «Димедрол» 0,05 г (ОВХФП «Біостимулятор»), «Димедрол-Дарниця» 0,05 г, «Зопіклон», «Соннат», «Кетотифен», «Кетотифен-ЛХ», «Алерік», «Кларитин», «Лорано», «Лоратадин», «Лоризан», «Діазолін-Дарниця», розчини для ін'єкцій «Димедрол-Дарниця» 1 % 1 мл, «Димедрол» 1 % 1 мл, порошки «Тіопентал» та «Діазолін для дітей», капсул «Кетотифен-В» 1 мг, драже «Діазолін» 0,1 та «Діазолін» 0,05, майже не поглинають випромінювання в області спектра, в якій спостерігаються максимуми



поглинання діючої речовини, і їх внесок у величину оптичної густини зразків складає менше 1%.

Лікарські форми димедролу – таблетки «Димедрол» 0,1 г, зопіклону – таблетки «Сонован», «Зопіклон-ЗН», тригексифенідилу – таблетки «Циклодол», кетотифену – таблетки «Кетотифен Софарма», лоратадину – таблетки «Лоратадин-Дарниця», дезлоратадину – таблетки «Едем», «Алергомакс», «Трексил-нео», «Алергостоп», «Алерсіс», «Дезлоратадин», мають відносно складні набори допоміжних речовин, відтворити які у модельних сумішах не виявилось можливим. Тому специфічність запропонованих методик була оцінена після проведення визначення правильності запропонованих методик методом добавок (розд. 5.3).

Запропоновані спектрофотометричні методики кількісного визначення лікарських речовин у складі лікарських препаратів промислового виробництва не дозволяють одночасно визначати можливі домішки. Тому досліджувані лікарські препарати мають проходити додаткові випробування на їх наявність. При виконанні цієї роботи використовувались лише лікарські препарати, вільні від неприпустимих кількостей домішок, про що свідчили сертифікати якості виробників.

З метою визначення рівня специфічності запропонованих хроматографічних методик кількісного аналізу дифенгідраміну у складі таблеток «Димедрол-Дарниця» 0,05 г та «Димедрол» 0,1 г, а також зопіклону у таблетках «Зопіклон» 7,5 мг та «Соннат» 7,5 мг, проводили тест на чистоту піка. Для цього створювали модельні суміші допоміжних речовин лікарської форми (табл. 5.1). До частини кожної модельної суміші додавали відповідну лікарську речовину, у концентрації, яка міститься у препараті. Надалі послідовно відтворювали всі етапи пробопідготовки запропонованих методик для модельних сумішей, що містили аналізовану речовину, та для сумішей «плацебо» та хроматографували отримані розчини. Далі на отриманих хроматографах розчинів «плацебо» проводили пошук хроматографічних

пиків, що за часом утримання співпадали б з часом утримання піку основного компоненту та накладались на нього.

Як приклад на рис. 5.1 та рис. 5.2 наведено хроматограми модельних сумішей, що не містять дифенгідрамінін (хроматограми 1, 3), та модельних сумішей, що містять дифенгідрамінін (хроматограми 2, 4), для таблеток «Димедрол-Дарниця» 0,05 г та таблеток «Димедрол» 0,1 г.

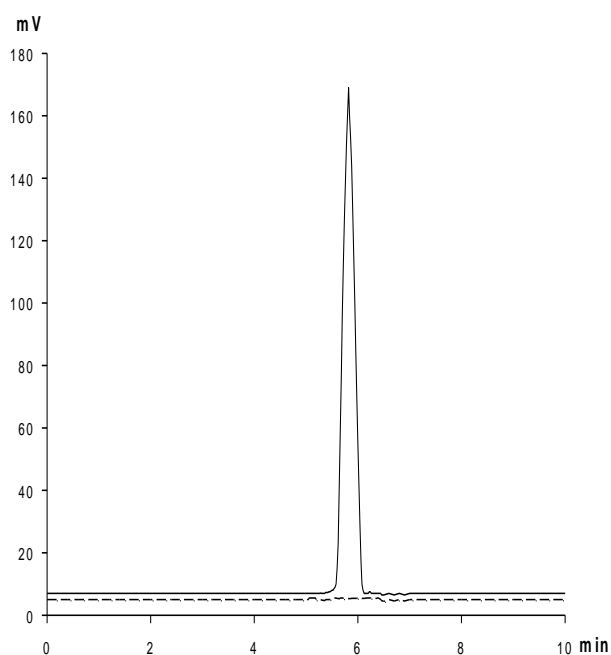


Рис. 5.1. Визначення специфічності хроматографічної методики кількісного аналізу дифенгідрамінін у таблетках «Димедрол-Дарниця» 0,05 г (пояснення в тексті)

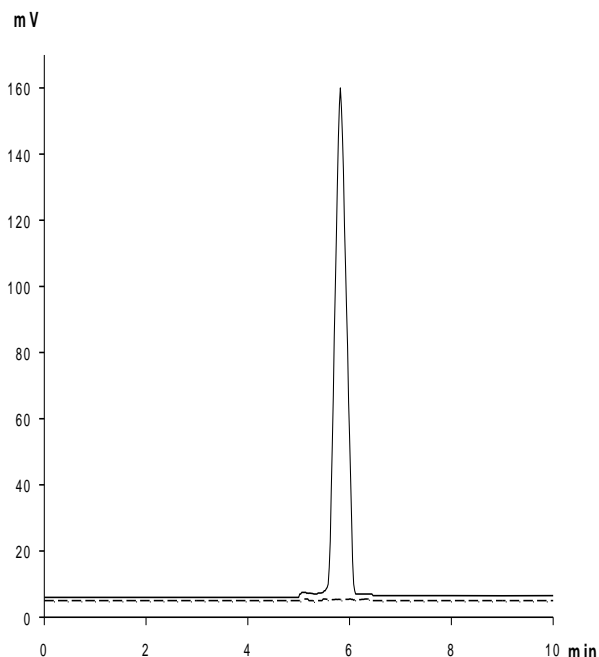


Рис. 5.2. Визначення специфічності хроматографічної методики кількісного аналізу дифенгідрамінін у таблетках «Димедрол» 0,1 г (пояснення в тексті)

Таким чином, можна сказати, що на хроматограмах модельних сумішей, що не містять дифенгідрамінін та зопіклону, хроматографічних піків, що за часом утримання співпадали б з часом утримання піку основного компоненту та накладались на нього немає. Тобто, допоміжні речовини досліджених лікарських форм не впливають на площу хроматографічного піку аналізованої речовини.

## 5.2. Лінійність

Встановлення лінійної залежності величини абсорбції або площі хроматографічного піку від введеної концентрації лікарської речовини та виключення неприпустимих відхилень від лінійної залежності проводилось шляхом регресійного аналізу отриманих даних [188, 225–228]. Досліджували лінійну залежність у межах діапазону застосування запропонованих методик згідно вимог ДФУ (табл. 4.3). З цією метою для кожної речовини проводили вимірювання абсорбції або площі хроматографічного піку не менше п'яти розчинів з відомою концентрацією. Досліджувані розчини готували шляхом розведення стандартного розчину (табл. 4.1, 4.2) та проводили визначення у оптимальних умовах, встановлених раніше та описаних у розділах (табл. 3.1 та 3.2). Використовуючи отримані результати залежності абсорбції від концентрації досліджуваної лікарської речовини, будували графіки для спектрофотометричних методик (рис. 5.3 –5.10.), що мають лінійний вигляд.

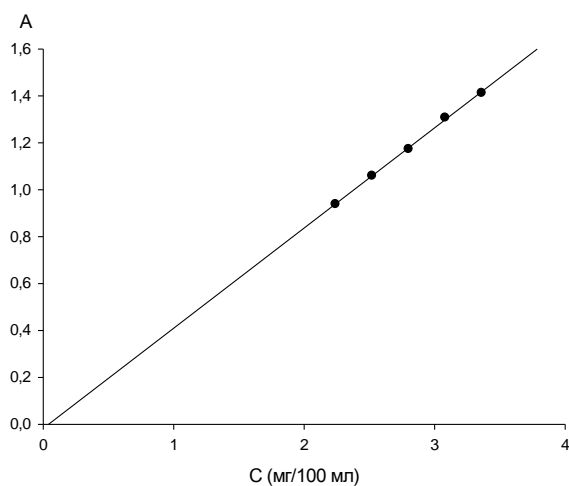


Рис. 5.3. Графік залежності абсорбції розчину від концентрації димедролу

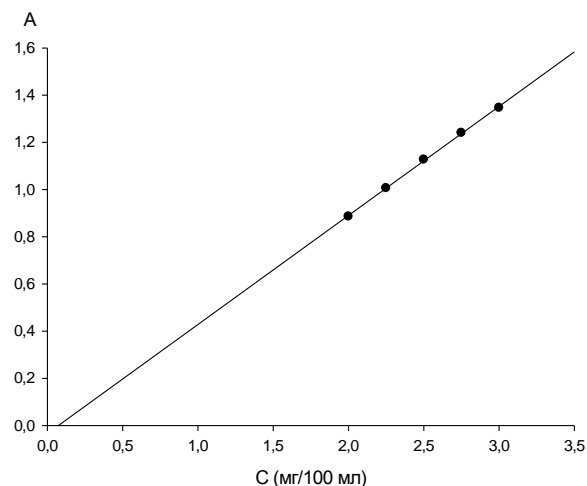


Рис. 5.4. Графік залежності абсорбції розчину від концентрації зопіклону

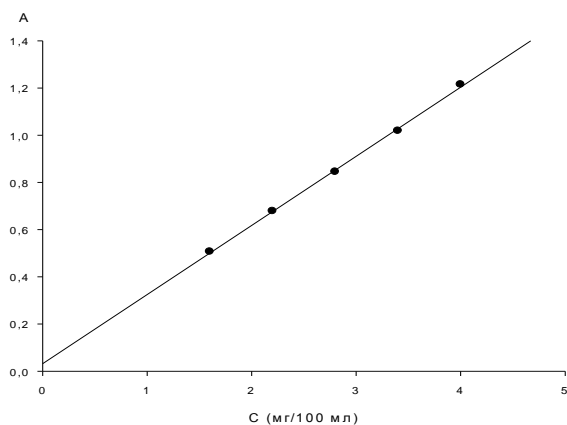


Рис.5.5. Графік залежності абсорбції розчину від концентрації тригексифенідилу

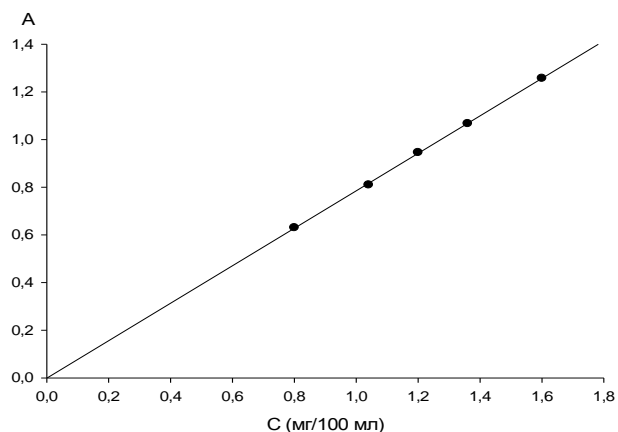


Рис. 5.6. Графік залежності абсорбції розчину від концентрації тіопенталу натрію

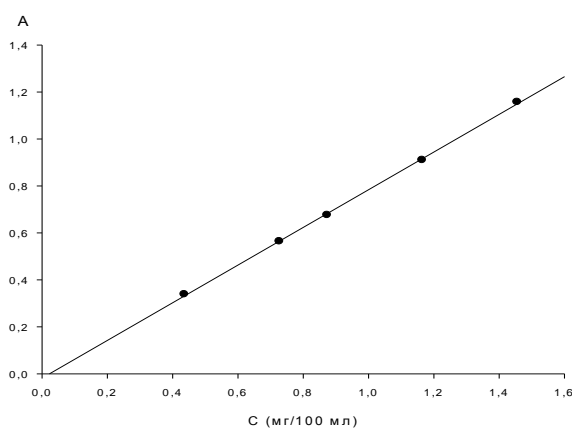


Рис. 5.7. Графік залежності абсорбції розчину від концентрації кетотифену

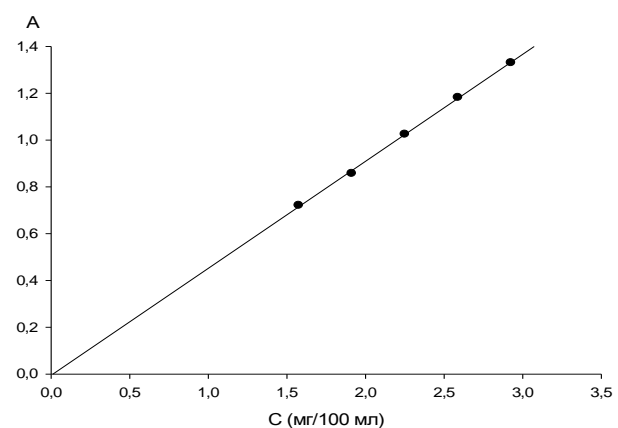


Рис. 5.8. Графік залежності абсорбції розчину від концентрації лоратадину

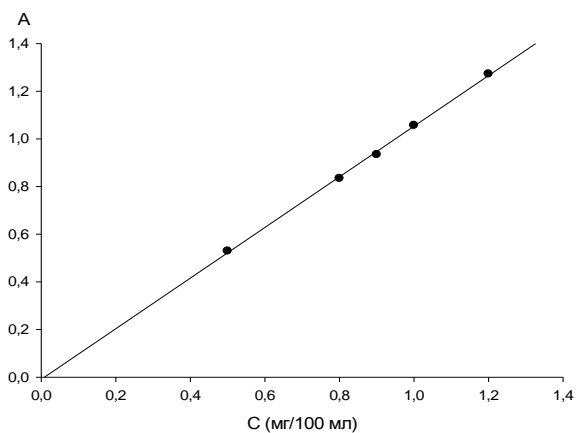


Рис. 5.9. Графік залежності абсорбції розчину від концентрації дезлоратадину

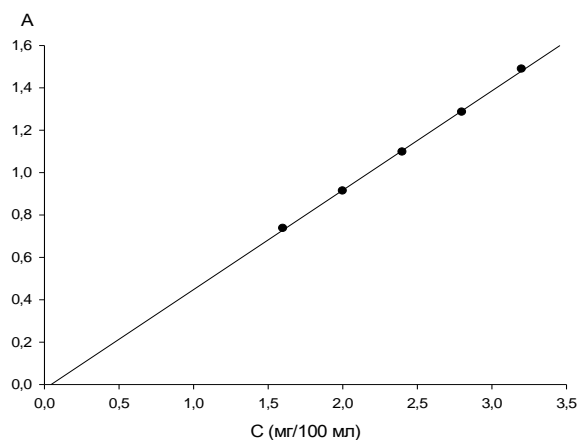


Рис. 5.10. Графік залежності абсорбції розчину від концентрації меггідроліну

За результатами залежності площі хроматографічного піку від концентрації досліджуваної лікарської речовини, побудували графіки для хроматографічних методик (рис. 5.11, 5.12.), що також мають лінійний вигляд.

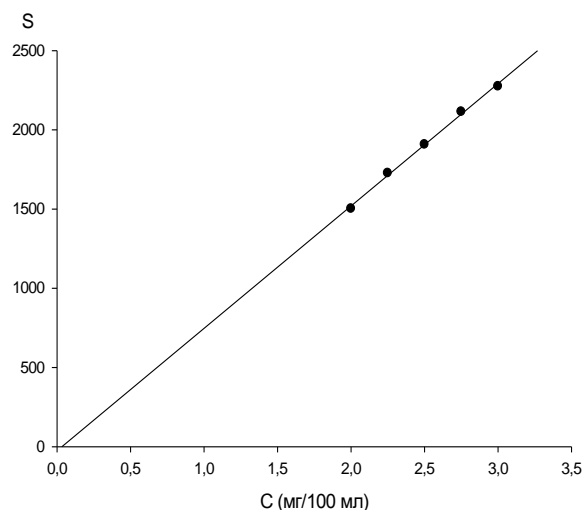
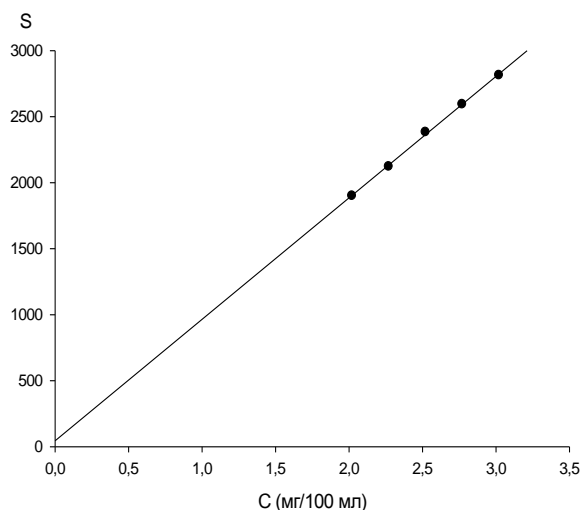


Рис. 5.11. Графік залежності площі хроматографічного піку від концентрації димедролу  
Рис. 5.12. Графік залежності площі хроматографічного піку від концентрації зопіклону

Отримані результати обробили методом найменших квадратів. В результаті були розраховані рівняння лінійної регресії, що мали загальний вигляд:

$$y = a + b \cdot x,$$

де  $y$  – вимірюваний аналітичний відгук,

$x$  – концентрація лікарської речовини,

$a$  – вільний член лінійної регресії (точка перетину з віссю ординат),

$b$  – кутовий коефіцієнт (тангенс кута нахилу прямої).

Також з метою подальшого аналізу отриманих лінійних залежностей були розраховані такі числові показники: коефіцієнт кореляції  $r$ , стандартне відхилення вільного члену лінійної регресії  $S_a$ , стандартне відхилення кутового коефіцієнту  $S_b$  та залишкова сума квадратів відхилень  $S_y$ .

Оцінку коректності лінійної моделі проводили за вимогами ДФУ.

Коефіцієнт кореляції  $r$  може приймати значення від  $-1$  до  $+1$ . Лінійна залежність між абсорбцією або площею хроматографічного піку ( $x$ ) та концентрацією досліджуваної речовини ( $y$ ) тим сильніша, чим ближче абсолютна величина  $|r|$  до одиниці. Таким чином, коефіцієнт кореляції дозволяє оцінювати жорсткість лінійного зв'язку між величинами  $x$  та  $y$ . У кількісному хімічному аналізі зазвичай використовують лінійні залежності з коефіцієнтом кореляції  $\geq 0,997$  [221–223]. Величина коефіцієнту кореляції залежить від кількості визначень, діапазону концентрацій та від коефіцієнту регресії і не є єдиним критерієм для доказу лінійності.

У випадку застосування методу стандарту (калібрування за однією точкою), пряма графічної залежності має перетинати систему координат максимально близько до нуля, тобто значення абсолютної величини вільного члена лінійної залежності  $a$  має бути мінімальне. У такому випадку систематична похибка вимірювань відсутня. Мірою систематичної похибки є критерій статистичної незначущості, який полягає у тому, що значення вільного члену  $a$  не повинне перевищувати свій довірчий інтервал:  $|a| \leq \Delta a$ , тобто незначуще відрізнятися від 0. Якщо даний критерій не виконується, ДФУ рекомендує застосовувати критерій практичної незначущості: внесок вільного члена лінійної регресії  $a$  в невизначеність результату аналізу має бути незначущим у порівнянні з максимально припустимою невизначеністю аналізу [188].

Величина кутового коефіцієнту  $b$  прямо пропорційно залежить від чутливості аналітичної методики, що валідуються, кількісного визначення речовини.

Залишкове стандартне відхиленням по осі абсцис  $s_{x,0} = s_0 / b$ , характеризує випадкову похибку, властиву аналітичній методиці. Ця залежність полягає в тому, що добуток відносного залишкового стандартного відхилення за віссю абсцис  $s_{x,0}$  на критерій Стьюдента  $t(95;n-2)$  є довірчим інтервалом розкиду точок навколо прямої. Відповідно до вимог ДФУ,

довірчий інтервал розкиду точок навколо прямої не повинен перевищувати гранично припустиму невизначеність аналізу  $\Delta_{As}$  (%) [188].

Відповідно до вимог ДФУ було розраховано усі вищезазначені показники лінійної залежності для запропонованих спектрофотометричних (табл. 5.3) та хроматографічних методик (табл. 5.4).

Таблиця 5.3

**Числові показники лінійної залежності запропонованих  
спектрофотометричних методик**

Величина	Значення	Критерії	Висновок
1	2	3	4
<b>Зопіклон</b>			
$b\pm(s_b)$	0,4621±(0,0073)	–	–
$a\pm(s_a)$	-0,0337±(0,0185)	$ a \leq\Delta a=t(95\%;3)\cdot s_a=0,0435$	відповідає
$s_{x,0}(\%)$	0,5020	$\leq\Delta_{As}(\%)/t(95\%;3)=1,360$	відповідає
$r$	0,9993	$\geq 0,9985$	відповідає
<b>Тригексифенідил</b>			
$b\pm(s_b)$	0,2928±(0,0052)	–	–
$a\pm(s_a)$	0,0322±(0,0152)	$ a \leq\Delta a=t(95\%;3)\cdot s_a=0,0357$	відповідає
$s_{x,0}(\%)$	1,207	$\leq\Delta_{As}(\%)/t(95\%;3)=1,360$	відповідає
$r$	0,9995	$\geq 0,9985$	відповідає
<b>Тіопентал натрій</b>			
$b\pm(s_b)$	0,7861±(0,0075)	–	–
$a\pm(s_a)$	0,0007±(0,0092)	$ a \leq\Delta a=t(95\%;3)\cdot s_a=0,0217$	відповідає
$s_{x,0}(\%)$	0,4874	$\leq\Delta_{As}(\%)/t(95\%;3)=1,360$	відповідає
$r$	0,9999	$\geq 0,9985$	відповідає
<b>Дифенгідраміну гідрохлорид</b>			
$b\pm(s_b)$	0,4271±(0,0077)	–	–
$a\pm(s_a)$	-0,0171±(0,0219)	$ a \leq\Delta a=t(95\%;3)\cdot s_a=0,0515$	відповідає

1	2	3	4
$s_{x,0}(\%)$	0,577	$\leq \Delta_{As}(\%)/t(95\%;3)=1,360$	відповідає
$r$	0,9995	$\geq 0,9985$	відповідає
Кетотифен			
$b\pm(s_b)$	0,8024 $\pm$ (0,0099)	–	–
$a\pm(s_a)$	-0,0183 $\pm$ (0,0099)	$ a \leq \Delta a=t(95\%;3)\cdot s_a=0,0233$	відповідає
$s_{x,0}(\%)$	1,128	$\leq \Delta_{As}(\%)/t(95\%;3)=1,360$	відповідає
$r$	0,9998	$\geq 0,9985$	відповідає
Лоратадин			
$b\pm(s_b)$	0,4573 $\pm$ (0,0078)	–	–
$a\pm(s_a)$	-0,0052 $\pm$ (0,0179)	$ a \leq \Delta a=t(95\%;3)\cdot s_a=0,0421$	відповідає
$s_{x,0}(\%)$	0,8067	$\leq \Delta_{As}(\%)/t(95\%;3)=1,360$	відповідає
$r$	0,9996	$\geq 0,9995$	відповідає
Дезлоратадин			
$b\pm(s_b)$	1,0622 $\pm$ (0,0200)	–	–
$a\pm(s_a)$	-0,0088 $\pm$ (0,0182)	$ a \leq \Delta a=t(95\%;3)\cdot s_a=0,0428$	відповідає
$s_{x,0}(\%)$	1,14	$\leq \Delta_{As}(\%)/t(95\%;3)=1,360$	відповідає
$r$	0,9995	$\geq 0,9985$	відповідає
Мабгідролін			
$b\pm(s_b)$	0,4690 $\pm$ (0,0071)	–	–
$a\pm(s_a)$	-0,0208 $\pm$ (0,0175)	$ a \leq \Delta a=t(95\%;3)\cdot s_a=0,0412$	відповідає
$s_{x,0}(\%)$	0,800	$\leq \Delta_{As}(\%)/t(95\%;3)=1,360$	відповідає
$r$	0,9997	$\geq 0,9985$	відповідає



**Числові показники лінійної залежності запропонованих  
хроматографічних методик**

Величина	Значення	Критерії	Висновок
Дифенгідраміну гідрохлорид			
$b \pm (s_b)$	920±(18)	–	–
$a \pm (s_a)$	63,6±(45,6)	$ a  \leq \Delta a = t(95\%;3) \cdot s_a = 107,3$	відповідає
$s_{x,0}(\%)$	0,615	$\leq \Delta_{A_s}(\%) / t(95\%;3) = 1,36$	відповідає
$r$	0,9994	$\geq 0,9985$	відповідає
Зопіклон			
$b \pm (s_b)$	772,4±(23,8)	–	–
$a \pm (s_a)$	-25,2±(60,1)	$ a  \leq \Delta a = t(95\%;3) \cdot s_a = 141$	відповідає
$s_{x,0}(\%)$	0,974	$\leq \Delta_{A_s}(\%) / t(95\%;3) = 1,360$	відповідає
$r$	0,9989	$\geq 0,9985$	відповідає

### 5.3. Правильність

Правильність аналітичної методики характеризує наближення середнього результату вимірів до істинного значення. Відповідно до вимог ДФУ встановлювали правильність запропонованих методик кількісного визначення лікарських речовин у складі лікарських форм. Для цього, якщо в наявності були всі допоміжні речовини лікарської форми (табл. 5.1), створювали модельні суміші допоміжних речовин, до них додавали відомі кількості досліджуваної субстанції та аналізували за запропонованими методиками. У випадках, коли деякі з допоміжних речовин лікарського засобу були відсутні, застосовували метод добавок [188, 223, 224].

При встановленні правильності методик кількісного визначення лікарських речовин, модельні суміші застосовували для таких лікарських форм:

- таблетки «Димедрол» 0,05 г (ПАТ «Луганський хімфармзавод»), «Димедрол» 0,05 г (ОВХФП «Біостимулятор»), «Димедрол-Дарниця» 0,05 г, «Зопіклон», «Соннат», «Кетотифен», «Кетотифен-ЛХ», «Алерік», «Кларитин», «Лорано», «Лоратадин», «Лоризан», «Діазолін-Дарниця»;
- розчини для ін'єкцій «Димедрол-Дарниця» 1 % 1 мл, «Димедрол» 1 % 1 мл;
- порошки «Тіопентал» та «Діазолін для дітей»;
- капсул «Кетотифен-В» 1 мг;
- драже «Діазолін» 0,1 та «Діазолін» 0,05.

Для кожної з наведених лікарських форм готували по три модельні суміші активної субстанції з допоміжними речовинами. З метою максимального приближення до заводського виробничого процесу, при приготуванні модельних сумішей, активну субстанцію додавали до допоміжних речовин на початку виготовлення сумішей. Далі повторювали всі можливі стадії технології – гомогенізували в ступці, зважували на електронних вагах, розводили, фільтрували тощо. Для встановлення правильності запропонованих методик у всьому діапазоні застосування, до однакових сумішей допоміжних речовин вносили активну субстанцію у кількостях, що відповідають 80, 100 та 120% від номінального вмісту у лікарській формі. Кількісне дослідження кожної модельної суміші повторювали тричі. Таким чином, усього було зроблено по 9 вимірів для кожної лікарської форми.

Отримані в результаті аналізу величини кількісного вмісту лікарських речовин у модельних сумішах виражали у відсотках від теоретично доданої кількості ( $Z$ ), розраховували середнє значення ( $\bar{Z}$ ) та тестували статистично відносно 100%.

При статистичному аналізі результатів кількісного визначення лікарських речовин значення дисперсії генеральної сукупності  $\sigma^2$  невідоме і обсяг досліджуваної вибірки досить малий ( $n=9$ ). Тому тестова статистика орієнтовно має  $t$ -розподіл з  $n-1$  ступенями свободи [224].

Для встановлення статистичної значущості різниці між отриманим та істинним значенням зазвичай проводять  $t$ -тест. Згідно ДФУ, систематична похибка статистично не відрізняється від нуля, якщо відхилення  $\bar{Z}$  від 100% не перевищує свій довірчий інтервал  $\Delta_{\bar{z}}$ . Якщо таке співвідношення не виконується, це свідчить про статистично значущу різницю між одержаним значенням кількісного вмісту та його теоретичним значенням, тобто довірчий інтервал не включає теоретичне значення концентрації 100%. У таких випадках ДФУ рекомендує використовувати критерій практичної незначущості одержаної систематичної похибки у порівнянні з максимально припустимою невизначеності аналізу:  $|\bar{Z}-100| \leq 0,32 \cdot \Delta_{As}$  [188].

Статистичні характеристики правильності запропонованих спектрофотометричних методик наведені у табл. 5.5, хроматографічних методик – у табл. 5.6.

Таблиця 5.5

**Визначення правильності спектрофотометричних методик на модельних сумішах досліджуваних лікарських засобів**

Модельні суміші	$\bar{Z}$	RSD	$\Delta_{\bar{z}}$	$ \bar{Z}-100 $	$0,32 \cdot \Delta_{As}$
1	2	3	4	5	6
Таблетки «Димедрол» 0,05 г (ПАТ «Луганський хімфармзавод»)	100,1	1,02	0,64	0,1	1,024
Таблетки «Димедрол» 0,05 г (ОВХФП «Біостимулятор»)	99,79	1,13	0,70	0,21	1,024
Таблетки «Димедрол-Дарниця»	99,60	1,48	0,92	0,40	1,024
Розчин для ін'єкцій «Димедрол-Дарниця»	100,1	1,55	0,96	0,10	1,024
Розчин для ін'єкцій «Димедрол»	100,1	1,56	0,97	0,10	1,024
Таблетки «Зопіклон»	100,8	1,35	0,83	0,80	1,024
Таблетки «Соннат»	100,6	1,93	1,19	0,60	1,024

1	2	3	4	5	6
Порошок «Гіопентал»	100,8	2,60	1,61	0,75	1,024
Таблетки «Кетотифен»	100,7	2,52	1,55	0,70	1,024
Таблетки «Кетотифен-ЛХ»	99,52	1,9	1,18	0,48	1,024
Капсули «Кетотифен-В»	100,6	1,85	1,15	0,60	1,024
Таблетки «Алерік»	100,9	3,13	1,94	0,90	1,024
Таблетки «Кларитин»	100,5	1,85	1,15	0,50	1,024
Таблетки «Лорано»	100,3	1,60	0,99	0,30	1,024
Таблетки «Лоратадин»	100,1	2,26	1,40	0,10	1,024
Таблетки «Лоризан»	100,1	1,33	0,820	0,10	1,024
Таблетки «Діазолін-Дарниця»	100,9	2,37	1,47	0,90	1,024
Драже «Діазолін» 0,1 г	100,2	1,23	0,76	0,20	1,024
Драже «Діазолін» 0,05 г	100,9	2,55	1,58	0,90	1,024
Порошок «Діазолін для дітей»	100,1	1,26	0,78	0,10	1,024

Таблиця 5.6

**Визначення правильності хроматографічних методик на модельних сумішах досліджуваних лікарських засобів**

Модельні суміші	$\bar{Z}$	RSD	$\Delta_{\bar{Z}}$	$ \bar{Z}-100 $	$0,32 \cdot \Delta_{As}$
Таблетки «Димедрол» 0,05 г (ПАТ «Луганський хімфармзавод»)	98,9	3,07	1,92	1,1	1,024
Таблетки «Димедрол» 0,1 г	100,2	2,19	1,35	0,2	1,024
Таблетки «Зопіклон»	101,8	3,31	2,01	1,8	1,024
Таблетки «Соннат»	98,2	4,25	2,68	1,8	1,024

Правильність методик лікарських форм димедролу – таблетки «Димедрол» 0,1 г, зопіклону – таблетки «Сонован», «Зопіклон-ЗН», тригексифенідилу – таблетки «Циклодол», кетотифену – таблетки «Кетотифен Софарма», лоратадину – таблетки «Лоратадин-Дарниця»,

дезлоратадину – таблетки «Едем», «Алергомакс», «Трексил-нео», «Алергостоп», «Алерсіс», «Дезлоратадин» визначали, застосовуючи метод добавок. Цей метод полягає у тому, що до трьох рівних проб кожного препарату додавали різні кількості розчину порівняння відповідної субстанції, що лежали у діапазонах застосування розроблених методик, та аналізували тричі. Тобто було отримано також по 9 результатів визначень для кожної лікарської форми, до яких застосували статистичний аналіз, як описано вище та будували графіки залежності аналітичного відгуку від кількості доданої субстанції (рис. 5.13 – 5.24).

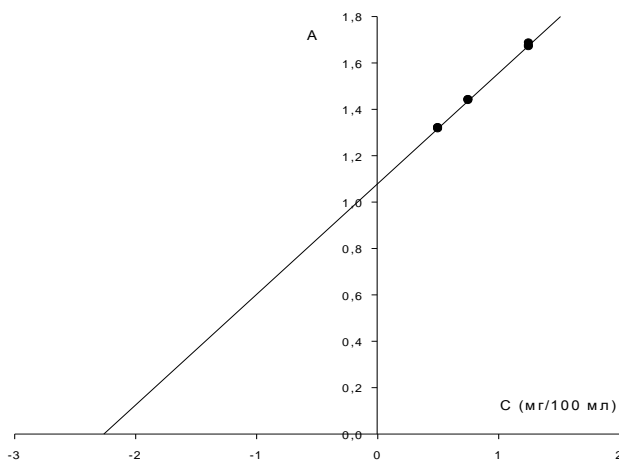


Рис. 5.13. Залежність абсорбції від кількості стандарту, доданого до таблеток «Димедрол» 0,1 г

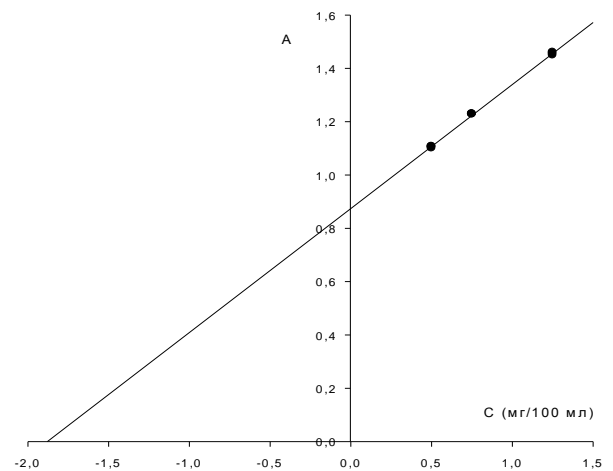


Рис. 5.14. Залежність абсорбції від кількості стандарту, доданого до таблеток «Сонован»

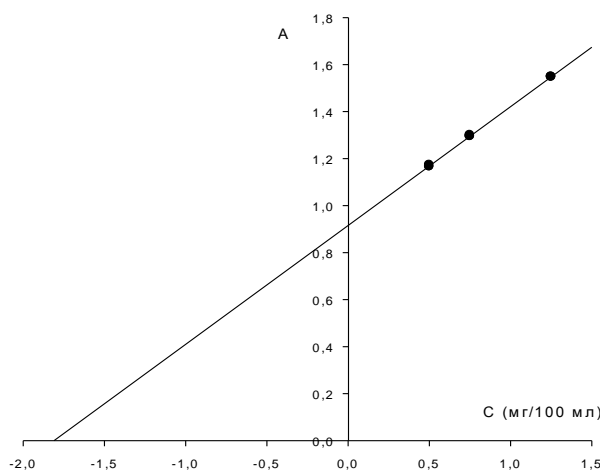


Рис. 5.15. Залежність абсорбції від кількості стандарту, доданого до таблеток «Зопіклон-ЗН»

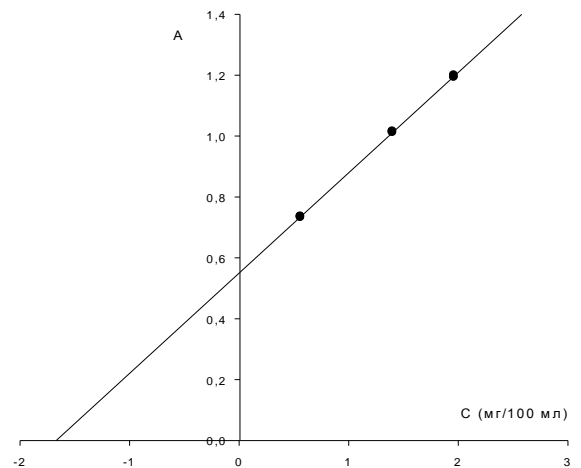


Рис. 5.16. Залежність абсорбції від кількості стандарту, доданого до таблеток «Циклодол»

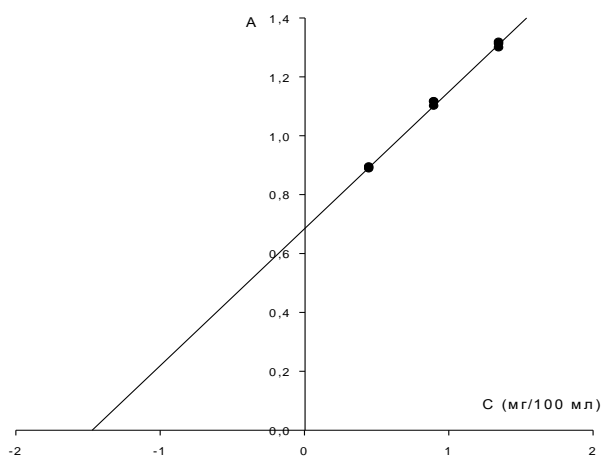


Рис. 5.17. Залежність абсорбції від кількості стандарту, доданого до таблеток «Лоратадин-Дарниця»

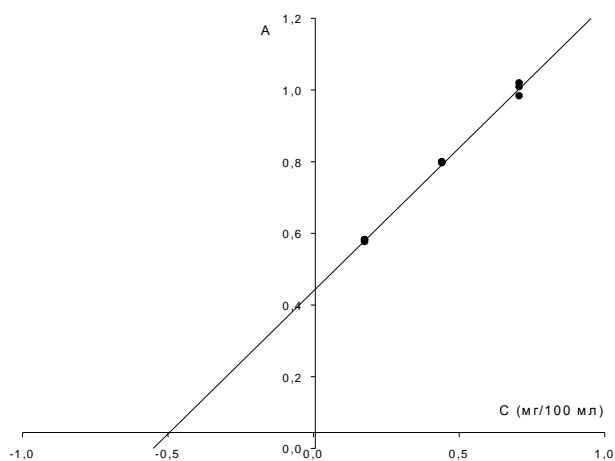


Рис. 5.18. Залежність абсорбції від кількості стандарту, доданого до таблеток «Кетотифен Софарма»

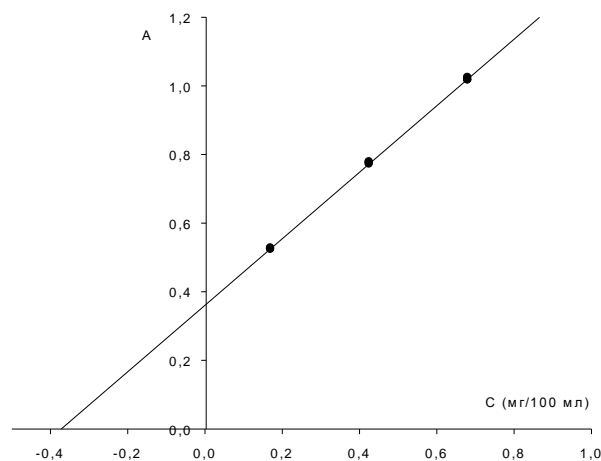


Рис. 5.19. Залежність абсорбції від кількості стандарту, доданого до таблеток «Алергомакс»

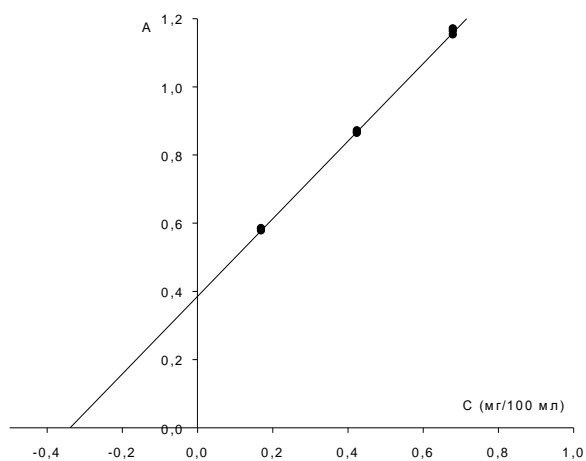


Рис. 5.20. Залежність абсорбції від кількості стандарту, доданого до таблеток «Трексил-нео»

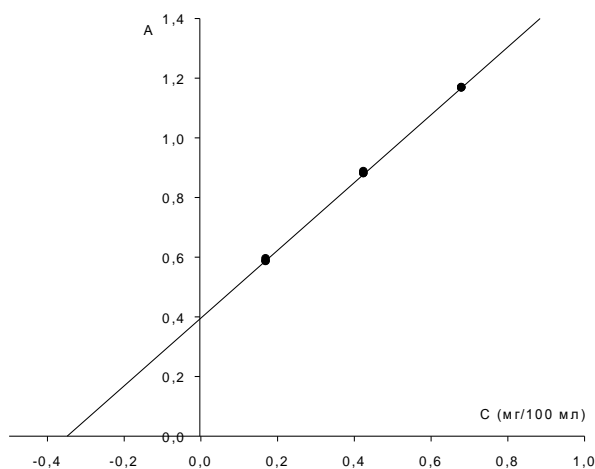


Рис. 5.21. Залежність абсорбції від кількості стандарту, доданого до таблеток «Едем»

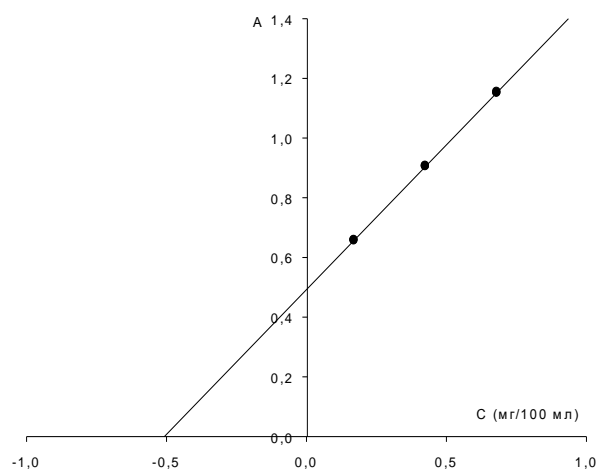


Рис. 5.22. Залежність абсорбції від кількості стандарту, доданого до таблеток «Алергостоп»

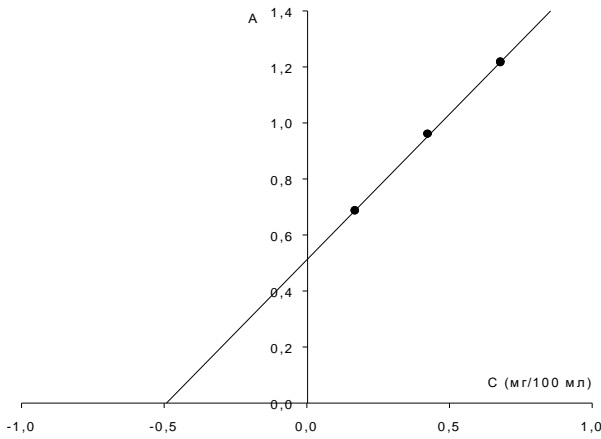


Рис. 5.21. Залежність абсорбції від кількості стандарту, доданого до таблеток «Алерсіс»

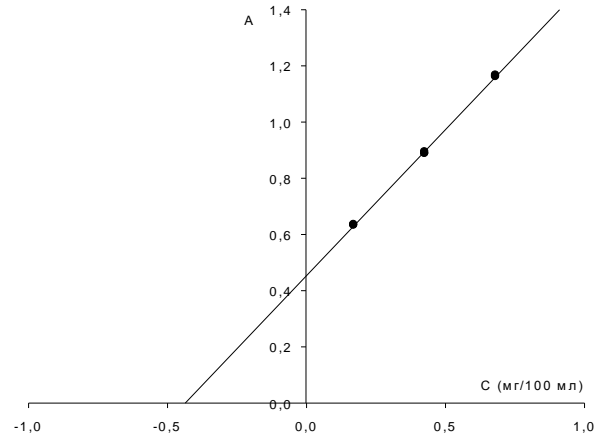


Рис. 5.21. Залежність абсорбції від кількості стандарту, доданого до таблеток «Дезлоратадин»

Результати статистичного аналізу отриманих значень кількості діючої речовини наведені у табл. 5.7. Продовж. табл. 5.7

Таблиця 5.7

**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 «Димедрол» 0,1 г	2,00	0,500	99,32	99,97±0,76	0,03
	2,00	0,750	100,4		
	2,00	1,25	100,2		
Таблетки «Сонован»	1,80	0,50	99,33	100,2±0,81	0,20
	1,80	0,75	101,6		
	1,80	1,25	99,73		
Таблетки «Зопиклон-ЗН»	1,80	0,50	97,33	98,98±1,17	1,02
	1,80	0,75	99,13		
	1,80	1,25	100,5		
Таблетки «Циклодол»	1,60	0,56	98,93	99,42±0,69	0,58
	1,60	1,40	99,77		
	1,60	1,96	99,57		
Таблетки «Лоратадин-Дарниця»	1,50	0,45	96,56	100,84±1,86	0,84
	1,50	0,90	103,3		
	1,50	1,35	101,7		

1	2	3	4	5	6
Таблетки «Кетотифен Софарма»	0,500 0,500 0,500	0,1770 0,4425 0,7080	99,67 102,3 100,7	100,88±1,41	0,88
Таблетки «Алергомакс»	0,850 0,850 0,850	0,170 0,425 0,680	99,90 100,6 99,85	100,1±0,577	0,10
Таблетки «Трексил-нео»	0,850 0,850 0,850	0,170 0,425 0,680	99,69 98,70 99,65	99,35±0,837	0,66
Таблетки «Едем»	0,850 0,850 0,850	0,170 0,425 0,680	100,1 99,32 100,7	100,0±0,775	0,0
Таблетки «Алергостоп»	0,850 0,850 0,850	0,170 0,425 0,680	100,4 99,87 99,42	99,89±0,540	0,11
Таблетки «Алерсіс»	0,850 0,850 0,850	0,170 0,425 0,680	97,10 101,2 99,87	99,39±1,13	0,61
Таблетки «Дезлоратадин»	0,850 0,850 0,850	0,170 0,425 0,680	99,63 98,22 100,4	99,29±0,775	0,71

Примітка. \* – середнє для трьох визначень.

Метод добавок при застосуванні для визначення правильності аналітичних методик дозволяє виявити можливий вплив допоміжних речовин, що входять до складу лікарської форми, на результати кількісного визначення та оцінити величину систематичної похибки, що виникають в результаті такого впливу.

Показником впливу допоміжних речовин випробовуваних препаратів на величину аналітичного відгуку є коефіцієнт чутливості  $b$ , котрий у такому разі буде відрізнятися від коефіцієнту чутливості вимірів розчинів чистої субстанції, що не містять матриці. Таким чином, для одержаних залежностей були розраховані відповідні коефіцієнти та порівняні з коефіцієнтами чутливості, одержаними при розрахунках лінійності залежності аналітичного



відгуку від концентрації відповідної субстанції (табл. 5.8). Чим ближче величини одержаних коефіцієнтів чутливості, тим менше вплив допоміжних речовин лікарської форми на результати визначення [220].

Таблиця 5.8

**Порівняння значень коефіцієнтів чутливості, встановлених для розчинів ФСЗ (РСЗ) та лікарських форм**

Лікарський препарат	$b \pm (s_b)$	
	для стандартних розчинів	для лікарських форм за методом добавок
Таблетки «Димедрол» 0,1 г	0,4271±(0,0077)	0,4770±(0,0077)
Таблетки «Сонован»	0,4621±(0,0073)	0,4651±(0,0054)
Таблетки «Зопиклон-ЗН»	0,4621±(0,0073)	0,5057±(0,0035)
Таблетки «Циклодол»	0,2928±(0,0052)	0,3295±(0,0019)
Таблетки «Лоратадин-Дарниця»	0,4573±(0,0078)	0,4649±(0,0083)
Таблетки «Кетотифен Софарма»	0,8024±(0,0099)	0,7980±(0,0163)
Таблетки «Алергомакс»	1,0622±(0,0200)	0,9693±(0,0058)
Таблетки «Трексил-нео»	1,0622±(0,0200)	1,1379 ±(0,0101)
Таблетки «Едем»	1,0622±(0,0200)	1,1358±(0,0067)
Таблетки «Алергостоп»	1,0622±(0,0200)	0,9697±(0,0039)
Таблетки «Алерсіс»	1,0622±(0,0200)	1,0399±(0,0074)
Таблетки «Дезлоратадин»	1,0622±(0,0200)	1,0394±(0,0090)

#### 5.4. Прецизійність

Прецизійність аналітичної методики, за ДФУ, характеризує ступінь близькості результатів для серії вимірів, виконаних за даною методикою на різних пробах однорідного зразка. Прецизійність рекомендується вивчати на однорідних зразках, якими при кількісному аналізі можна вважати готові лікарські форми. Ця характеристика може розглядатися на трьох рівнях:

збіжність, внутрішньолабораторна прецизійність та відтворюваність. Збіжність характеризує прецизійність методики при її виконанні в одних і тих самих умовах (одним аналітиком, чи групою аналітиків, на одному обладнанні, тощо) протягом невеликого проміжку часу. Вплив внутрішньолабораторних факторів, зокрема різні дні, різне обладнання, різні аналітики, виражає внутрішньолабораторна прецизійність. При встановленні відтворюваності методики проводиться визначення міжлабораторної збіжності результатів досліджень [188].

При виконанні даної роботи прецизійність запропонованих методик була встановлена на рівні збіжності. Для цього з трьох різних наважок лікарської форми готували розчини, для кожного з яких проводили по три паралельні визначення за описаних вище умов. Паралельно проводились визначення відповідних розчинів порівняння. Вміст діючої речовини в грамах у дозованій одиниці лікарської форми розраховували за формулами 4.1 та 4.3. Отримані значення кількості діючої речовини виражали у відсотках від теоретичного, розраховували середнє ( $\bar{x}$ ) та тестували статистично відносно 100%.

Для оцінки прецизійності були розраховані наступні статистичні характеристики.

Стандартне відхилення ( $S$ ) та відносне стандартне відхилення у відсотках ( $RSD$ ). Ці величини дозволяють оцінити розкид отриманих результатів аналізу відносно середнього значення ( $\bar{x}$ ), яке приймається за найближче до справжнього значення вмісту досліджуваної речовини  $\mu$ .

Відносний однобічний довірчий інтервал одиночного ( $A_{x, r}$ ) та середнього результатів вимірів ( $A_{\bar{x}, r}$ ) розраховувався для оцінки ступеню невизначеності щодо справжнього значення величини  $\mu$ . За вимогами ДФУ до прецизійності методик, однобічний довірчий інтервал ( $A_{x, r}$ ) не має перевищувати максимальну припустиму невизначеність аналізу ( $\Delta_{As, \%}$ ), що розраховується з відносного допуску вмісту аналізованої речовини у лікарській формі у відсотках за формулою:  $\Delta_{As, \%} = \frac{B_H - B_1}{2} \times 0,32$  (де  $B_H$  та  $B_1$

– відповідно верхня та нижня межі вмісту досліджуваної речовини у відсотках за специфікацією).

Статистичні характеристики прецизійності запропонованих спектрофотометричних методик наведені у табл. 5.9, хроматографічних методик – у табл. 5.10.

Таблиця 5.9

**Визначення прецизійності результатів кількісного визначення досліджуваних речовин в готових лікарських формах за запропонованими спектрофотометричними методиками**

Лікарський препарат	Метрологічні характеристики					
	$\bar{x}$	$S$	$RSD$	$\Delta_{x,r}$	$\Delta_{\bar{x},r}$	$\Delta_{As},\%$
1	2	3	4	5	6	7
За реакцією з БТС						
Таблетки «Димедрол» 0,05 г (ПАТ «Луганський хімфармзавод»)	0,04990	$4,58 \cdot 10^{-4}$	0,918	1,71	0,569	3,20
Таблетки «Димедрол» 0,05 г (ОВХФП «Біостимулятор»)	0,05000	$2,74 \cdot 10^{-4}$	0,548	1,02	0,340	3,20
Таблетки «Димедрол- Дарниця»	0,05010	$6,27 \cdot 10^{-4}$	1,251	2,33	0,775	3,20
Таблетки «Димедрол» 0,1 г	0,10080	$1,20 \cdot 10^{-3}$	1,190	2,21	0,738	3,20
Розчин для ін'єкцій «Димедрол-Дарниця»	0,01010	$1,17 \cdot 10^{-4}$	1,158	2,15	0,718	3,20
Розчин для ін'єкцій «Димедрол»	0,01008	$1,38 \cdot 10^{-4}$	1,369	2,54	0,848	3,20
Таблетки «Зопіклон»	0,00748	$8,98 \cdot 10^{-5}$	1,198	2,23	0,743	3,20
Таблетки «Соннат»	0,00752	$2,96 \cdot 10^{-5}$	0,394	0,732	0,244	3,20
Таблетки «Сонован»	0,00750	$2,69 \cdot 10^{-5}$	0,359	0,667	0,222	3,20

1	2	3	4	5	6	7
Таблетки «Зопиклон-ЗН»	0,00747	$6,70 \cdot 10^{-5}$	0,897	1,67	0,556	3,20
Таблетки «Діазолін-Дарниця»	0,10015	$5,54 \cdot 10^{-4}$	0,55	1,03	0,34	3,20
Драже «Діазолін» 0,1	0,10066	$1,55 \cdot 10^{-3}$	1,54	2,77	0,93	3,20
Драже «Діазолін» 0,05	0,04995	$2,83 \cdot 10^{-4}$	0,57	1,05	0,35	3,20
Порошок «Діазолін для дітей»	0,60366	$4,33 \cdot 10^{-3}$	0,72	1,33	0,44	3,20
За реакцією з БКЗ						
Таблетки «Циклодол»	0,00201	$3,44 \cdot 10^{-5}$	1,71	3,16	1,05	3,20
Порошок «Гіопентал»	0,99000	$1,50 \cdot 10^{-2}$	1,16	2,16	0,720	3,20
Таблетки «Лоратадин-Дарниця»	0,01017	$1,29 \cdot 10^{-4}$	1,27	2,36	0,787	3,20
Таблетки «Алерік»	0,00989	$1,64 \cdot 10^{-4}$	1,66	3,08	1,027	3,20
Таблетки «Кларитин»	0,01018	$1,65 \cdot 10^{-4}$	1,62	3,01	1,003	3,20
Таблетки «Лорано»	0,00995	$1,16 \cdot 10^{-4}$	1,16	2,17	0,723	3,20
Таблетки «Лоратадин»	0,01000	$1,00 \cdot 10^{-4}$	1,00	1,86	0,620	3,20
Таблетки «Лоризан»	0,01005	$1,04 \cdot 10^{-4}$	1,03	1,92	0,64	3,20
Таблетки «Едем»	0,00499	$1,50 \cdot 10^{-5}$	0,30	0,56	0,19	3,20
Таблетки «Трексил-нео»	0,00500	$3,50 \cdot 10^{-5}$	0,70	1,30	0,43	3,20
Таблетки «Алергомакс»	0,00501	$3,60 \cdot 10^{-5}$	0,72	1,34	0,45	3,20
Таблетки «Дезлоратадин»	0,00499	$2,96 \cdot 10^{-5}$	1,10	0,37	0,19	3,20
Таблетки «Алергостоп»	0,00499	$2,90 \cdot 10^{-5}$	0,58	1,08	0,36	3,20
Таблетки «Алерсіс»	0,00499	$2,40 \cdot 10^{-5}$	0,48	0,89	0,30	3,20
За реакцією з БКП						
Таблетки «Кетотифен-ЛХ»	0,00103	$1,20 \cdot 10^{-5}$	1,16	2,17	0,723	3,20
Таблетки «Кетотифен Софарма»	0,00104	$1,60 \cdot 10^{-5}$	1,54	2,86	0,957	3,20
Таблетки «Кетотифен»	0,00099	$1,16 \cdot 10^{-5}$	1,17	2,17	0,725	3,20
Капсули «Кетотифен-В»	0,00100	$1,05 \cdot 10^{-5}$	1,06	1,97	0,817	3,20

**Визначення прецизійності результатів кількісного визначення  
досліджуваних лікарських речовин в готових лікарських формах за  
запропонованими хроматографічними методиками**

Лікарський препарат	Метрологічні характеристики					
	$\bar{x}$	$S$	$RSD$	$\Delta_{x,r}$	$(\Delta_{\bar{x},r})$	$\Delta_{As},\%$
Таблетки «Димедрол-Дарниця» 0,05 г	0,0501	$5,39 \cdot 10^{-4}$	1,08	2,01	0,669	3,20
Таблетки «Димедрол» 0,1 г	0,1001	$1,40 \cdot 10^{-3}$	1,40	2,60	0,868	3,20
Таблетки «Зопіклон»	0,00745	$7,78 \cdot 10^{-5}$	1,05	1,95	0,650	3,20
Таблетки «Соннат»	0,00747	$6,12 \cdot 10^{-5}$	0,823	1,52	0,507	3,20

Виходячи з даних табл. 5.10, можна підсумувати, що для спектрофотометричних методик середнє значення  $RSD$  складає 0,30–1,71, а для хроматографічних 0,823–1,40, що свідчить про достатню збіжність методик.

### 5.5. Діапазон застосування

Діапазоном застосування аналітичної методики є інтервал між мінімальною та максимальною концентраціями досліджуваної речовини, для якого показано, що методика має потрібну лінійність, правильність та прецизійність. Мінімальний допустимий діапазон застосування методики для кількісного визначення лікарських форм за вимогами ДФУ складає 80–120% від номінального вмісту [188]. В результаті проведених досліджень були отримані задовільні показники лінійності, точності та специфічності запропонованих методик у діапазонах концентрацій, що перевищують мінімально допустимий діапазон застосування методики.

Діапазони застосування, у яких було валідовано запропоновані спектрофотометричні методики, наведені у табл. 5.11.

**Діапазони застосування спектрофотометричних методик  
кількісного визначення досліджуваних лікарських речовин**

Лікарська речовина	Діапазон робочих концентрацій
Зопіклон	72 – 128%
Тригексифенідил	57 – 143%
Тіопентал натрій	67 – 133%
Дифенгідраміну гідрохлорид	72 – 128%
Кетотіфену гідрофумарат	50 – 150%
Лоратадін	67 – 133%
Дезлоратадін	60 – 140%
Мебгідролін	67 – 133%

Діапазони застосування, у яких було валідовано запропоновані хроматографічні методики, наведені у табл. 5.12.

Таблиця 5.12

**Діапазони застосування хроматографічних методик кількісного  
визначення досліджуваних лікарських речовин**

Лікарська речовина	Діапазон робочих концентрацій
Зопіклон	77 – 123%
Дифенгідраміну гідрохлорид	77 – 123%

### 5.6. Робасність

За визначенням ДФУ, робасність аналітичної методики – це її здатність не зазнавати впливу малих задаваних (контрольованих) аналітиком змін в умовах виконання аналізу. Робасність характеризує надійність методики при її використанні у вищевказаних умовах [188]. Запропоновані методики

проходили перевірку робастності на стадії їх розробки в ході встановлення оптимальних умов аналізу.

Для запропонованих спектрофотометричних методик були визначені фактори, які здатні впливати на величину оптичної густини: температура, кількість реагентів та розчинників, стабільність розчинів у часі (розд. 3.1, 3.2). Таким чином було встановлено, що аналізовані розчини стабільні у часі протягом щонайменше 60 хв і на величину оптичної густини не мають суттєвого впливу коливання кількості доданих реагентів в межах  $\pm 5\%$ .

Для запропонованих хроматографічних методик були визначені фактори, які здатні впливати на величину площі піку: температура, рН рухомої фази, склад рухомої фази, швидкість рухомої фази (розд. 3.6). Було встановлено, що величина площі піків несуттєво залежить від коливання температури, рН рухомої фази, складу рухомої фази та швидкості рухомої фази в межах  $\pm 5\%$  від наведених у табл. 3.8.

Тобто, запропоновані спектрофотометричні та хроматографічні методики є робастними.

Дослідження за даним розділом наведені в роботах [199 – 218].

## ВИСНОВКИ

1. Доведена достатня специфічність запропонованих методик кількісного визначення лікарських речовин груп антигістаміних засобів, снодійних засобів, та інших, що знаходять застосування поза медичною практикою, у складі лікарських форм відносно допоміжних речовин.

2. Встановлено величини показників лінійної залежності результатів запропонованих методики (коефіцієнт кореляції  $r$ , відносне залишкове стандартне відхилення по осі абсцис  $s_{x,0}(\%)$ , вільний член лінійної регресії  $a$ , кутовий коефіцієнт  $b$ ). Їх значення свідчать про лінійність розроблених методик в обраних діапазонах робочих концентрацій.

3. Визначено правильність методик на модельних сумішах лікарських препаратів та методом добавок шляхом обчислення практичної та статистичної незначущості систематичної похибки. Отримані величини свідчать, що запропоновані методики задовольняють вимогам ДФУ щодо правильності.

4. Прецизійність запропонованих методик встановлено на рівні збіжності і доведено, що оскільки однобічний довірчий інтервал ( $\Delta_x$ ) не перевищує максимальну припустиму невизначеність аналізу ( $\Delta_{As} \%$ ), методики є прецизійними відповідно до вимог ДФУ.

5. Визначено, що інтервали робочих концентрацій, у яких доведена лінійність, правильність та прецизійність методик, входять у межі мінімально допустимого діапазону застосування методик для кількісного визначення лікарських форм за вимогами 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 хроматографічних та спектрофотометричних методик визначення лікарських речовин, якими зловживають для досягнення психотропного ефекту, потенціювання дії інших психоактивних речовин, а також суїциду, у складі медикаментів.

1. На основі аналізу літературних джерел обґрунтована доцільність розробки нових хроматографічних та спектрофотометричних методик визначення лікарських речовин, якими зловживають для досягнення психотропного ефекту, потенціювання дії інших психоактивних речовин, а також суїциду, у складі медикаментів.

2. Встановлено, що оптимальними умовами перебігу фотометричних реакцій сульфталейнових барвників з лікарськими речовинами: дифенгідраміном, зопіклоном, тригексифенідилом, тіопентал натрієм, кетотифеном, лоратадином, дезлоратадином є середовище ацетону, кімнатна температура та надлишок реагенту. Розраховані аналітичні показники свідчать про високу чутливість застосованих реакцій – межі виявлення досліджуваних речовин складають 0,47–1,7 мкг/мл.

3. Методами ізомолярних серій, молярних співвідношень та відносного виходу на прикладі дифенгідраміну, зопіклону та мебгідроліну з бромтимоловим синім, тригексифенідилу з бромкрезоловим зеленим визначено стехіометричні співвідношення для реакції сульфоталейнових барвників з лікарськими речовинами, які склали 1:1. Синтезовано і виділено продукт реакції бромтимолового синього з мебгідроліном. За допомогою ІЧ- та  $^1\text{H}$  ЯМР-спектроскопії встановлено його будову і підтверджено, що за своєю природою даний продукт є іонним асоціатом.

4. Встановлено що оптимальними умовами хроматографування лікарських речовин дифенгідраміну та зопіклону, методом ВЕРХ на

обернено-фазовій колонці є елюювання рухомою фазою ацетонітрил:фосфатний буфер з рН=3, зі швидкістю 1 мл/хв. Розраховані показники придатності хроматографічної системи: коефіцієнт асиметрії піку не більше 1,12, число теоретичних тарілок не менше 1865, що свідчать про високу ефективність розділення досліджених речовин.

5. Розроблено і валідовано спектрофотометричні методики кількісного визначення 7 лікарських речовин у складі 32 лікарських форм промислового виробництва. Запропоновані методики відрізняються простотою виконання та не потребують складного обладнання. Встановлено, що відносне відхилення середнього результату за розробленими спектрофотометричними методиками знаходиться в межах 1%, що свідчить про їх високу відтворюваність.

6. Запропоновано ВЕРХ-методики кількісного визначення 2 лікарських речовин у складі 4 лікарських форм промислового виробництва. Встановлено, що відносне відхилення середнього результату за розробленими методиками не перевищує 1 %, що свідчить про їх високу відтворюваність.

7. Встановлено основні валідаційні характеристики і доведено, що за специфічністю, лінійністю, правильністю, прецизійністю, діапазоном застосування та робасністю розроблені спектрофотометричні та ВЕРХ-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, а також хіміко-криміналістичних лабораторіях.

8. Розроблені методики впроваджені у практичну діяльність Запорізької обласної інспекції контролю якості лікарських засобів і відділу спеціальних видів досліджень Науково-дослідного експертно-криміналістичного центру при ГУ МВС України в Запорізькій області, а також у навчально-педагогічний процес вищих навчальних закладів України.

## 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. Onal A. Spectrophotometric determination of dopaminergic drugs used for parkinson's disease, cabergoline and ropinirole, in pharmaceutical preparations / A. Onal, S. Caglar // Chem. Pharm. Bull. – 2007. – Vol. 55, № 4. – P. 629–631.
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. Spectrophotometric determination of ofloxacin and lomefloxacin hydrochloride with some sulphonphthalein dyes / Y. M. Issa, F. M. Abdel-Gawad,

M. A. Abou Table, H. M. Hussein // *Anal. Lett.* – 1997. – Vol. 30, № 11. – P. 2071–2084.

10. 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.

11. Spectrophotometric determination of certain antidepressants in pharmaceutical preparations / A. Onal, S. E. Kepeksi, S. M. Cetin, S. Erturk // *J. AOAC Int.* – 2006. – Vol. 89, № 4. – P. 966–971.

12. 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.

13. Onal A. Spectrophotometric methods for the determination of the antidepressant drug paroxetine hydrochloride in tablets / A. Onal, S. E. Kepeksi, A. Oztunc // *J. AOAC Int.* – 2005. – Vol. 88, № 2. – P. 490–495.

14. 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.

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. 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.

17. Erk N. Extractive spectrophotometric methods for determination of lercanidipine / N. Erk // *Pharmazie.* – 2003. – Vol. 58, № 11. – P. 801–803.

18. Ashour S. Spectrophotometric determination of alfuzosin HCL in pharmaceutical formulations with some sulphonaphthalein dyes / S. Ashour,

M. F. Chenna, R. Bayram // *Int. J. Biomed. Sci.* – 2006. – Vol. 2, № 3. – P. 273–279.

19. 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.

20. 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.

21. El-Didamoni A. M. Extractive spectrophotometric methods for the determination of oxomemazine 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.

22. 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.

23. 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.

24. 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.

25. 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.

26. Flow-injection extraction-spectrophotometric method for the determination of chlorhexidine in pharmaceutical preparations / T. Perez-Ruiz, C. Martinez-Lozano, A. Sanz, A. Sanches // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 1999. – Vol. 21, № 4. – P. 709–714.

27. 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.

28. 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.

29. 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.

30. Abu Zuhri A. Z. Extractional-spectrophotometric determination of famotidine in pharmaceutical formulations / A. Z. Abu Zuhri, R. M. Shubietah, G. M. Badah // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 1999. – Vol. 21, № 2. – P. 459–465.

31. 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.

32. 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.

33. 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.

34. 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.

35. 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.

36. El-Yazbi F. A. Spectrophotometric methods for the determination of benazepril hydrochloride in its single and multi-component dosage forms / F. A. El-Yazbi, N. N. Abdine, R. A. Shaalan // J. Pharm. Biomed. Anal. – 1999. – Vol. 20, № 1-2. – P. 343–350.

37. 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.

38. 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.

39. 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.

40. 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.

41. 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.

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

43. Abdel-Gawad F. M. Spectrophotometric determination of some pharmaceutical piperazine derivatives through charge-transfer and ion-pair complexation reactions / F. M. Abdel-Gawad // J. Pharm. Biomed. Anal. – 1997. – Vol. 15, № 11. – P. 1679–1685.

44. 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.

45. Визначенн 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.

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

47. 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.

48. Бурлака Ю. В. Спектрофотометричне визначення цефтриаксону / Ю. В. Бурлака, О. О. Тарханова, С. О. Васюк // Запороз. мед. журн. – 2009. – № 6. – С. 93–94.

49. Монайкіна Ю. В. Застосування сульфоталеїнових барвників у спектрофотометричному аналізі лікарських засобів: дис. ... кандидата фарм. наук : 15.00.02 / Монайкіна Юлія Віталіївна. – Запоріжжя, 2011. – 177 с.

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

51. Жук Ю. М. Спектрофотометричне визначення бісопрололу за реакцією з тимоловим синім / Ю. М. Жук, С. О. Васюк І. М. Кейтлін // Запороз. мед. журн. – 2012. – № 3(72). – С. 62–64.



52. Жук Ю. М. Спектрофотометричне визначення сальбутамолу за реакцією з бромкрезоловим зеленим / Ю. М. Жук // Актуальні питання фармац. та мед. науки та практики : зб. наук. статей. – Запоріжжя, 2011. – Вип. XXIV. – № 2. – С. 90–92.

53. Ulu Tatar S. Spectrophotometric method for the determination, validation, spectroscopic and thermal analysis of diphenhydramine in pharmaceutical preparation / S. Ulu Tatar, Z. Aydoğmuş // *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* – 2010. – Vol. 77, № 1. – P. 324–329.

54. Simultaneous determination of naphazoline and diphenhydramine hydrochlorides in nasal drops by second-order derivative UV spectroscopy / G. Santoni, P. Mura, S. Pinzauti [et al.] // *International Journal of Pharmaceutics.* – 1989. – Vol. 50, № 1. – P. 75–78.

55. El-Didamony A. M. Spectrophotometric determination of diphenhydramine hydrochloride in pharmaceutical preparations and biological fluids via ion-pair formation / A. M. El-Didamony, M. A. Moustafa // *Arabian Journal of Chemistry.* – 2010. – Vol. 3, № 4. – P. 265–270.

56. Hassan W. S. Spectrophotometric determination of some histamine H1-antagonists drugs in their pharmaceutical preparations / W. S. Hassan, M. M. El-Henawee, A. A. Gouda // *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* – 2008. – Vol. 69, № 1. – P. 245–255.

57. Basavaiah K. Titrimetric and spectrophotometric assay of some antihistamines through the determination of the chloride of their hydrochlorides / K. Basavaiah, V.S. Charan // *Farmaco.* – 2002. – Vol. 57, № 1. – P. 9–17.

58. Artificial neural network for simultaneous determination of two components of compound paracetamol and diphenhydramine hydrochloride powder on NIR spectroscopy / Y. Dou, Y. Sun, Y. Ren, Y. Ren // *Analytica Chimica Acta.* – 2005. – Vol. 528, № 1. – P. 55–61.

59. Quantitative analysis of liquid formulations using FT-Raman spectroscopy and HPLC: The case of diphenhydramine hydrochloride in Benadryl® / M. G. Orkoula, C. G. Kontoyannis, C. K. Markopoulou,

J. E. Koundourellis // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2006. – Vol. 41, № 4. – P. 1406–1411.

60. M. A. El Ries. Indirect atomic absorption determination of atropine, diphenhydramine, tolazoline, and levamisole based on formation of ion-associates with potassium tetraiodomercurate / M. A. El Ries, S. Khalil // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2001. – Vol. 25, № 1. – P. 3–7.

61. Optimization and validation of a method for the determination of caffeine, 8-chlorotheophylline and diphenhydramine by isocratic high-performance liquid chromatography: Stress test for stability evaluation / C. Barbas, A. García, L. Saavedra, M. Castro // *Journal of Chromatography A.* – 2000. – Vol. 870, № 1–2. – P. 97–103.

62. A new hydrophilic interaction liquid chromatographic (HILIC) procedure for the simultaneous determination of pseudoephedrine hydrochloride (PSH), diphenhydramine hydrochloride (DPH) and dextromethorphan hydrobromide (DXH) in cough-cold formulations / M. Shahid Ali, M. Ghori, S. Rafiuddin, A. Roshanali Khatri // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2007. – Vol. 43, № 1. – P. 158–167.

63. Simultaneous determination of potassium guaiacolsulfonate, guaifenesin, diphenhydramine HCl and carbetapentane citrate in syrups by using HPLC-DAD coupled with partial least squares multivariate calibration / Ö. A. Dönmez, B. Aşç, A. Bozdoğan, S. Sungur // *Talanta.* – 2011. – Vol. 83, № 5. – P. 1601–1605.

64. Hair analysis for diphenhydramine after surreptitious administration to a child / P. Kintz, J. Evans, M. Villain [et al.] // *Forensic Science International.* – 2007. – Vol. 173, № 2–3. – P. 171–174.

65. Development and validation of a liquid chromatography/tandem mass spectrometry assay for the simultaneous determination of d-amphetamine and diphenhydramine in beagle dog plasma and its application to a pharmacokinetic study / C. Wang, G. Fan, M. Lin [et al.] // *Journal of Chromatography B.* – 2007. – Vol. 854, № 1–2. – P. 48–56.

66. Development and validation of a capillary electrophoresis method for the determination of codeine, diphenhydramine, ephedrine and noscapine in pharmaceuticals / M. R. Gomez, L. Sombra, R. A. Olsina [et al.] // *Farmaco.* – 2005. – Vol. 60, № 1. – P. 85–90.

67. Separation and determination of pseudoephedrine, dextromethorphan, diphenhydramine and chlorpheniramine in cold medicines by nonaqueous capillary electrophoresis / Y. Dong, X. Chen, Y. Chen [et al.] // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2005. – Vol. 39, № 1–2. – P. 285–289.

68. Simultaneous determination of dextromethorphan, diphenhydramine and phenylephrine in expectorant and decongestant syrups by capillary electrophoresis / M. R. Gomez, R. A. Olsina, L. D. Martínez, M. F. Silva // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2002. – Vol. 30, № 3. – P. 791–799.

69. Simultaneous determination of naphazoline, diphenhydramine and phenylephrine in nasal solutions by capillary electrophoresis / A. F. Marchesini, M. R. Williner, V. E. Mantovani [et al.] // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2003. – Vol. 31, № 1. – P. 39–46.

70. Determination of diphenhydramine by capillary electrophoresis with tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(II) electrochemiluminescence detection / J. Liu, W. Cao, X. Yang, E. Wang // *Talanta.* – 2003. Vol. 59, № 3. – P. 453–459.

71. Frag E. Y. Z. Potentiometric determination of antihistaminic diphenhydramine hydrochloride in pharmaceutical preparations and biological fluids using screen-printed electrode / E. Y. Z. Frag, G. G. Mohamed, W. G. El-Sayed // *Bioelectrochemistry.* – 2011. Vol. 82, № 2. – P. 79–86.

72. Quantitative determination of zopiclone and its impurity by four different spectrophotometric methods / M. M. Abdelrahman, I. A. Naguib, M. R. El Ghobashy, N. A. Ali // *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* – 2015. – Vol. 137. – P. 617–624.

73. Paw B. Determination of zopiclone in tablets by HPLC and UV-spectrophotometry / B. Paw, G. Misztal // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2000. – Vol. 23, № 5. – P. 819–823.

74. Forensic Science International Volume 145, Issues 2–3, 29 October 2004, Pages 117–121 Testing for zopiclone in hair application to drug-facilitated crimes / M. Villain, M. Chèze, A. Tracqui [et al.] // Forensic Science International. – 2004. – Vol. 145, № 2–3. – P. 117–121.

75. Target screening and confirmation of 35 licit and illicit drugs and metabolites in hair by LC–MSMS / E. Lendoiro, Ó. Quintela, A. de Castro [et al.] // Forensic Science International. – 2012. – Vol. 217, № 1–3. – P. 207–215.

76. HPLC–ESI-MS/MS validated method for simultaneous quantification of zopiclone and its metabolites, N-desmethyl zopiclone and zopiclone-N-oxide in human plasma / H. N. Mistri, A. G. Jangid, A. Pudage, P. Shrivastav // Journal of Chromatography B. – 2008. – Vol. 864, № 1–2. – P. 137–148.

77. Detection and validated quantification of 21 benzodiazepines and 3 “z-drugs” in human hair by LC–MS/MS / K. Y. Rust, M. R. Baumgartner, N. Meggiolaro, T. Kraemer // Forensic Science International. – 2012. – Vol. 215, № 1–3. – P. 64–72.

78. Quantitative determination of fifteen basic pharmaceuticals in ante- and post-mortem whole blood by high pH mobile phase reversed phase ultra high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry / I. Amundsen, Å. M. L. Øiestad, D. Ekeberg, L. Kristoffersen // Journal of Chromatography B. – 2013. – Vol. 927. – P. 112–123.

79. Direct quantitative analysis of benzodiazepines, metabolites, and analogs in diluted human urine by rapid resolution liquid chromatography–tandem mass spectrometry / R. Y. Hsu, S. A. Chan, S. L. Lin [et al.] // Journal of Food and Drug Analysis. – 2013. – Vol. 21, № 4. – P. 376–383.

80. A fast liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for determining benzodiazepines and analogues in urine. Validation and application to real cases of forensic interest / A. Salomone, E. Gerace, P. Brizio [et al.] // J. Pharm. Biomed. Anal. – 2011. – Vol. 56, № 3. – P. 582–591.

81. Irving R. C. The detection of sedatives in hair and nail samples using tandem LC–MS–MS / R. C. Irving, S. J. Dickson // *Forensic Science International*. – 2007. – Vol. 166, № 1. – P. 58–67.

82. Montesano C. Validation of a method for the targeted analysis of 96 drugs in hair by UPLC–MS/MS / C. Montesano, S. S. Johansen, M. K. K. Nielsen // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2014. – Vol. 88. – P. 295–306.

83. Detection of drugs of abuse in simultaneously collected oral fluid, urine and blood from Norwegian drug drivers / V. Vindenes, H. M. E. Lund, W. Andresen [et al.] // *Forensic Science International*. – 2012. – Vol. 219, № 1–3. – P. 165–171.

84. Comparison of extraction procedures for benzodiazepines determination in hair by LC–MS/MS / L. Morini, C. Vignali, M. Polla [et al.] // *Forensic Science International*. – 2012. – Vol. 218, № 1–3. – P. 53–56.

85. Simultaneous screening and quantification of 52 common pharmaceuticals and drugs of abuse in hair using UPLC-TOF-MS / M. K. K. Nielsen, S. S. Johansen, P. W. Dalsgaard, K. Linnet // *Forensic Science International*. – 2010. – Vol. 196, № 1–3. – P. 85–92.

86. A method for screening for various sedative-hypnotics in serum by liquid chromatography/single quadrupole mass spectrometry / H. Miyaguchi, K. Kuwayama, K. Tsujikawa [et al.] // *Forensic Science International*. – 2006. – Vol. 157, № 1. – P. 57–70.

87. Drugs of abuse in oral fluid collected by two different sample kits – Stability testing and validation using ultra performance tandem mass spectrometry analysis / H. M. E. Lund, E. L. Øiestad, H. Gjerde, A. S. Christophersen // *Journal of Chromatography B*. – 2011. – Vol. 879, № 30. – P. 3367–3377.

88. Segmental hair analysis using liquid chromatography–tandem mass spectrometry after a single dose of benzodiazepines / P. Xiang, Q. Sun, B. Shen [et al.] // *Forensic Science International*. – 2011. – Vol. 204, № 1–3. – P. 19–26.

89. Simultaneous determination of zopiclone and its degradation product and main impurity (2-amino-5-chloropyridine) by micellar liquid chromatography

with time-programmed fluorescence detection: Preliminary investigation for biological monitoring / R.N. El-Shaheny, A. Alattas, J.J. Nasr [et al.] // *Journal of Chromatography B*. – 2012. – Vol. 907. – P. 49–55.

90. Rapid and quantitative screening method for 43 benzodiazepines and their metabolites, zolpidem and zopiclone in human plasma by liquid chromatography/mass spectrometry with a small particle column / T. Ishida, K. Kudo, M. Hayashida, N. Ikeda // *Journal of Chromatography B*. – 2009. – Vol. 877, № 25. – P. 2652–2657.

91. Characterisation of selected hypnotic drugs and their metabolites using electrospray ionisation with ion trap mass spectrometry and with quadrupole time-of-flight mass spectrometry and their determination by liquid chromatography–electrospray ionisation–ion trap mass spectrometry / W. F. Smyth, C. Joyce, V. N. Ramachandran [et al.] // *Analytica Chimica Acta*. – 2004. – Vol. 506, № 2. – P. 203–214.

92. Nielsen M. K. K. Pre-analytical and analytical variation of drug determination in segmented hair using ultra-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry / M. K. K. Nielsen, S. S. Johansen, K. Linnet // *Forensic Science International*. – 2014. – Vol. 234. – P. 16–21.

93. Stability tests of zopiclone in whole blood / G. H. Nilsson, F. C. Kugelberg, R. Kronstrand, J. Ahlner // *Forensic Science International*. – 2010. – Vol. 200, № 1–3. – P. 130–135.

94. Adamowicz P. Simultaneous screening for and determination of 128 date-rape drugs in urine by gas chromatography–electron ionization-mass spectrometry / P. Adamowicz, M. Kała // *Forensic Science International*. – 2010. – Vol. 198, № 1–3. – P. 39–45.

95. Development and validation of an EI–GC–MS method for the determination of benzodiazepine drugs and their metabolites in blood: Applications in clinical and forensic toxicology / I. I. Papoutsis, S. A. Athanaselis, P. D. Nikolaou [et al.] // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2010. – Vol. 52, № 4. – P. 609–614.

96. Rapid and simple determination of psychotropic phenylalkylamine derivatives in human hair by gas chromatography–mass spectrometry using micro-pulverized extraction / J. Y. Kim, S. H. Shin, J. I. Lee, M. K. In // *Forensic Science International*. – 2010. – Vol. 196, № 1–3. – P. 43–50.

97. Simultaneous determination of 5 psychotropic drugs of various types in an autopsy case of acute multiple drug poisoning / C. Sasaki, T. Shinozuka, C. Murakami [et al.] // *Forensic Science International*. – 2013. – Vol. 227, № 1–3. – P. 90–94.

98. Szökő É. Analysis of biological samples by capillary electrophoresis with laser induced fluorescence detection / É. Szökő, T. Tábi // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2010. – Vol. 53, № 5. – P. 1180–1192.

99. Wate S. P. Simultaneous Spectrophotometric Estimation of Haloperidol and Trihexyphenidyl in Tablets / S. P. Wate, A. A. Borkar // *Indian. J. Pharm. Sci.* – 2010. – Vol. 72, № 2. – P. 265–267.

100. Absorption Correction Method For Estimation Of Risperidone And Trihexyphenidyl HCl In Combined Tablet Dosage Form / A. B. Roge, G. R. Shendarkar, N. B. Ghiware [et al.] // *International Journal of ChemTech Research*. – 2013. – Vol. 5, № 1. – P. 121–126.

101. Simultaneous Determination of Atenolol-Amlodipine and Haloperidol–Trihexyphenidyl in Combined Tablet Preparations by Derivative Spectroscopy / C. V. N. Prasad, C. Parihar, T. R. Chowdhary [et al.] // *Pharmacy and Pharmacology Communications*. – 1998. – Vol. 4, № 7. – P. 325–330.

102. Formulation and evaluation of bi-layer floating tablets of ziprasidone HCl and trihexyphenidyl HCl / S. K. Dinakaran, S. Kumar, D. Banji [et al.] // *Braz. J. Pharm. Sci.* – 2011. – Vol. 47, № 3.

103. Two Wavelength Method for Estimation of Risperidone and Trihexyphenidyl HCl in Combined Tablet Dosage Form / A. B. Roge, G. R. Shendarkar, N. Y. Gond [et al.] // *Asian Journal of Research in Chemistry*. – 2013. – Vol. 6, № 1. – P. 7–10.

104. Method Development and Validation for estimation of Trihexyphenidyl Hydrochloride in Tablet Dosage Forms / A. Patel, A. Shrivastava, A. Jain, G. K. Singh // Asian Journal of Research in Chemistry. – 2009. – Vol. 2, № 2. – P. 104–107.

105. Simultaneous Determination of 13 Psychiatric Pharmaceuticals in Sewage by Automated Solid Phase Extraction and Liquid Chromatography-Mass Spectrometry / S. L. Yuan, X. F. Li, X. M. Jiang [et al.] // Chinese Journal of Analytical Chemistry. – 2013. – Vol. 41, № 1. – P. 49–56.

106. Čápka V. Stereoselective determination of trihexyphenidyl in human serum by LC–ESI–MS / V. Čápka, Y. Xu, Y. H. Chen // J. Pharm. Biomed. Anal. – 1999. – Vol. 21, № 3. – P. 507–517.

107. Patela Y. P. A comparative study using HPLC and packed column supercritical fluid chromatography for the assay of three anti-psychotic dosage forms / Y. P. Patela, U. J. Dhorda, M. Sundaresan // Talanta. – 1998. – Vol. 21, № 3. – P. 625–630.

108. Daksh S. Analytical method development and validation for simultaneous estimation of trifluoperazine HCl and trihexyphenidyl HCl in bulk drug and pharmaceutical formulations / S. Daksh, A. Goyal, C. K. Pandiya // International Journal of Pharmaceutical Research & Analysis. – 2015. – Vol. 5, № 1. – P. 38-45.

109. Čápka V. Simultaneous determination of enantiomers of structurally related anticholinergic analogs in human serum by liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry with on-line sample cleanup / V. Čápka, Y. Xu // Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications. – 2001. – Vol. 762, № 2. – P. 181–192.

110. Stanley S. M. R. Screening for basic drugs in equine urine using direct-injection differential-gradient LC–LC coupled to hybrid tandem MS/MS / S. M. R. Stanley, H. C. Foo // Journal of Chromatography B. – 2006. – Vol. 836, № 1–2. – P. 1–14.



111. Hadidi K. A. Development of a screening method for the most commonly abused anticholinergic drugs in Jordan; trihexyphenidyl, procyclidine and biperiden / K. A. Hadidi // *Legal Medicine*. – 2004. – Vol. 6, № 4. – P. 233–241.

112. Detection of antidepressant and antipsychotic drugs in human hair / M. Shen, P. Xiang, H. Wu [et al.] // *Forensic Science International*. – 2002. – Vol. 126, № 2. – P. 153–161.

113. Simultaneous determination of trihexyphenidyl, chlorpromazine and clozapine in blood by GC-MS / S. Q. Zheng, W. Wang, C. Liang [et al.] // *Fa Yi Xue Za Zhi*. – 2011. – Vol. 27, № 4. – P. 271–273.

114. Determination of drugs used as anti-Parkinson's disease drugs in urine and serum by capillary electrophoresis / G. Vargas, J. Havel, L. Babácková, J. J. Patocka // *Capillary Electrophor.* – 1998. – Vol. 5, № 3–4. – P. 153–158.

115. Drug-human serum albumin binding studied by capillary electrophoresis with electrochemiluminescence detection / X. Zhao, T. You, J. Liu [et al.] // *Electrophoresis*. – 2004. – Vol. 25, № 20. – P. 3422–3426.

116. Stereoselective determination of trihexyphenidyl using carboxymethyl- $\beta$ -cyclodextrin by capillary electrophoresis with field-amplified sample stacking / H. Li, P. Wang, C. Li [et al.] // *Microchemical Journal*. – 2008. – Vol. 89, № 1. – P. 34–41.

117. Zakrzewski R. Determination of thiopental in urine sample with high-performance liquid chromatography using iodine–azide reaction as a postcolumn detection system / R. Zakrzewski, W. Ciesielski // *Journal of Chromatography B*. – 2005. – Vol. 824, № 1–2. – P. 327–332.

118. Fast, simple and cost-effective determination of thiopental in human plasma by a new HPLC technique / G. Coppa, R. Testa, A. M. Gambini [et al.] // *Clinica Chimica Acta*. – 2001. – Vol. 305, № 1–2. – P. 41–45.

119. Detection of thiopental in the steroid fraction of serum from neonates following maternal exposure / B. Cheng, M. Al-Essa, F. Sequeira, J. Thakkar //

The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology. – 2004. – Vol. 92, № 1–2. – P. 73–77.

120. Detection of thiopental and pentobarbital in head and pubic hair in a case of drug-facilitated sexual assault / G. Frison, D. Favretto, L. Tedeschi, S. D. Ferrara // Forensic Science International. – 2003. – Vol. 133, № 1–2. – P. 171–174.

121. Sanganalmath P. U. HPTLC method for the assay of thiopental in post-mortem blood in a fatal case of suicide / P. U. Sanganalmath, P. M. Nagaraju, B. M. Mohan // J. Pharm. Biomed. Anal. – 2013. – Vol. 80. – P. 89–93.

122. Simple chemiluminescence determination of ketotifen using tris(1,10 phenanthroline)ruthenium(II)- Ce(IV) system / A. Mokhtari, M. Ghazaeian, M. Maghsoudi [et al.] // Luminescence. – 2015. – Vol. 30, № 7. – P. 1094–1100.

123. Nie Fei. Determination of ketotifen by using calcein as chemiluminescence reagent / Nie Fei, Lu Jiuru // Analytica Chimica Acta. – 2007. – Vol. 592, № 2. – P. 168–172.

124. El-Kousy N. Determination of some antihistaminic drugs by atomic absorption spectrometry and colorimetric methods / N. El-Kousy, L. I. Bebawy // J. Pharm. Biomed. Anal. – 1999. – Vol. 20, № 4. – P. 671–679.

125. Мирошниченко Ю. О. Розробка методів хіміко-токсикологічного аналізу кетотифену: дис. ... кандидата фарм. наук : 15.00.02 / Мирошниченко Юлія Олександрівна. – Харків, 2014. – 168 с.

126. Фотометричне визначення кетотифену / В. В. Болотов, Ю. О. Мирошниченко, Е. Ю. Ахмедов, Л. Ю. Кліменко // Вісн. фармації. – 2011. – № 3 (67). – С. 50 – 53.

127. Determination of Ketotifen Fumarate in Raw Material and Pharmaceutical Products Using Ion-pair Formation / M. Amanlou, M. H. Nazlou, H. Azizian, E. S. H. Farsam // Analytical Letters. – 2007. – Vol. 40, № 17. – P. 3267–3279.

128. Говорова Е. Г. Исследование кетотифена в применении к его химико-токсикологическому анализу: дис. ... кандидата фарм. наук : 15.00.02 / Говорова Елена Геннадьевна. – Пермь, 2004. – 128 с.

129. Titrimetric and Spectrophotometric Methods for the Assay of Ketotifen Using Cerium(IV) and Two Reagents / M. S. Raghu, K. Basavaiah, K. N. Prashanth, K. B. Vinay // International Journal of Analytical Chemistry. – 2013. – Vol. 2013, Article ID 697651. – 9 pages.

130. Kabra P. Development and Validation of a Stability-Indicating LC-UV Method for Simultaneous Determination of Ketotifen and Cetirizine in Pharmaceutical Dosage Forms / P. Kabra, L. V. G. Nargund, M. S. Murthy // Trop. J. Pharm. Res. – 2013. – Vol. 13, № 7. – P. 1141–1147.

131. Simple and accurate estimation of ketotifen fumarate by RP-HPLC / S. Muralidharan, L. B. Han, J. L. Y. Ming [et al.] // IJPCBS. – 2012. – Vol. 2, № 3. – P. 392–396.

132. Alali F. Q. Determination of ketotifen in human plasma by LC-MS / F. Q. Alali, B. M. Tashtoush, N. M. Najib // J. Pharm. Biomed. Anal. – 2004. – Vol. 34, № 1. – P. 87–94.

133. Говорова Е.Г. ВЭЖХ метод определения кетотифена / Е. Г. Говорова, Ю. А. Хомов, Н. В. Кокшарова // "Науки о человеке" – Сборник статей молодых ученых и специалистов /Под ред. Л. М. Огородова, Л.В. Капилевич. – Томск, СГМУ, 2002. – 254 с.

134. Determination of ketotifen and its conjugated metabolite in human plasma by liquid chromatography/tandem mass spectrometry: application to a pharmacokinetic study / X. Chen, D. Zhong, D. Liu [et al.] // Rapid Commun. Mass Spectrom. – 2003. – Vol. 17. – P. 2459–2463.

135. Determination of some antiallergic drugs in human plasma by direct-injection high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry / K. Fujimaki, X. P. Lee [et al.] // Forensic Toxicology. – 2006. – Vol. 24, № 1. – P. 8–16.

136. Застосування високоефективної рідинної хроматографії в аналізі кетотифену / В. В. Болотов, Ю. О. Мирошниченко, Л. Ю. Кліменко, Е. Ю. Ахмедов // Укр. мед. альм. – 2012. – Т. 15, № 5 (додаток). – С. 40 – 42.

137. Identification and determination of ketotifen hydrogen fumarate, azelastine hydrochloride, dimetindene maleate and promethazine hydrochloride by densitometric method / E. Wyszomirska, K. Czerwińska, E. Kublin, A. P. Mazurek // *Acta Poloniae Pharmaceutica*. – 2013. – Vol. 70, № 6. – P. 951–959.

138. Thin layer chromatography-densitometric determination of some non-sedating antihistamines in combination with pseudoephedrine or acetaminophen in synthetic mixtures and in pharmaceutical formulations / M. E. El-Kommos, S. M. El-Gizawy, N. N. Atia, N. M. Hosny // *Biomedical Chromatography*. – 2014. – Vol. 28, № 3. – P. 391–400.

139. Khater M. M. Flow injection determination of ketotifen fumarate using PVC membrane selective electrodes / M. M. Khater, Y. M. Issa, S. H. Mohammed // *Bioelectrochemistry*. – 2009. – Vol. 77, № 1. – P. 53–59.

140. Simultaneous determination of loratadine and pseudoephedrine sulfate in pharmaceutical formulation by RP-LC and derivative spectrophotometry / M. M. Mabrouk, H. M. El-Fataty, S. Hammad, A. A. M. Wahbi // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2003. – Vol. 33, № 4. – P. 597–604.

141. Simultaneous determination of montelukast and loratadine by HPLC and derivative spectrophotometric methods / T. Radhakrishna, A. Narasaraju, M. Ramakrishna, A. Satyanarayana // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2003. – Vol. 31, № 2. – P. 359–368.

142. Simultaneous determination of pseudoephedrine sulfate, dexbrompheniramine maleate and loratadine in pharmaceutical preparations using derivative spectrophotometry and ratio spectra derivative spectrophotometry / F. Onur, C. Yücesoy, S. Dermiş [et al.] // *Talanta*. – 2000. – Vol. 51, № 2. – P. 269–279.

143. Spectrophotometric determination of binary mixtures of pseudoephedrine with some histamine H1-receptor antagonists using derivative

ratio spectrum method / H. Mahgoub, A. A. Gazy, F. A. El-Yazbi [et al.] // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2003. – Vol. 31, № 4. – P. 801–809.

144. Spectroscopic behavior of loratadine and desloratadine in different aqueous media conditions studied by means of TD-DFT calculations / R. Brasca, M. A. Romero, H. C. Goicoechea [et al.] // *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* – 2013. – Vol. 115. – P. 250–258.

145. El-Ragehy N. A. Stability indicating methods for the determination of loratadine in the presence of its degradation product / N. A. El-Ragehy, A. M. Badawey, S. Z. El-Khateeb // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2002. – Vol. 28, № 6. – P. 1041–1053.

146. Simultaneous determination of loratadine and desloratadine in pharmaceutical preparations using liquid chromatography with a microemulsion as eluent / D. T. El-Sherbiny, N. El-Enany, F. F. Belal, S. H. Hansen // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2007. – Vol. 43, № 4. – P. 1236–1242.

147. El-Awady M. Robust analysis of the hydrophobic basic analytes loratadine and desloratadine in pharmaceutical preparations and biological fluids by sweeping—cyclodextrin-modified micellar electrokinetic chromatography / M. El-Awady, F. Belal, U. Pyell // *Journal of Chromatography A.* – 2013. – Vol. 1309. – P. 64–75.

148. Peyrovi M. Extraction optimization of Loratadine by supramolecular solvent-based microextraction and its determination using HPLC / M. Peyrovi, M. Hadjmohammadi // *Journal of Chromatography B.* – 2015. – Vol. 980. – P. 41–47.

149. Determination of loratadine and its active metabolite in human plasma by high-performance liquid chromatography with mass spectrometry detection / L. Vlase, S. Imre, D. Muntean, S. E. Leucuta // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2007. – Vol. 44, № 3. – P. 652–657.

150. International Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques Sensitive liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for the determination of loratadine and its major active metabolite descarboethoxyloratadine in human plasma / F. C. W. Sutherland,

A. D. de Jager, D. Badenhorst [et al.] // *Journal of Chromatography A*. – 2001. – Vol. 914, № 1–2. – P. 37–43.

151. LC–MS/MS bioanalysis of loratadine (Claritin) in dried blood spot (DBS) samples collected by subjects in a clinical research study / W. Li, J. Doherty, P. Moench [et al.] // *Journal of Chromatography B*. – 2015. – Vol. 983–984 – P. 117–124.

152. Amini H. Rapid determination of loratadine in small volume plasma samples by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection / H. Amini, A. Ahmadiani // *Journal of Chromatography B*. – 2004. – Vol. 809, № 2. – P. 227–230.

153. Salem I. I. Determination of loratadine in human plasma by liquid chromatography electrospray ionization ion-trap tandem mass spectrometry / I. I. Salem, J. Idrees, J. I. Al-Tamimi // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2004. – Vol. 34, № 1. – P. 141–151.

154. Molecularly imprinted nano particles combined with miniaturized homogenous liquid–liquid extraction for the selective extraction of loratadine in plasma and urine samples followed by high performance liquid chromatography–photo diode array detection / H. Ebrahimzadeh, K. Molaei, A. A. Asgharinezhad [et al.] // *Analytica Chimica Acta*. – 2013. – Vol. 767. – P. 155–162.

155. Kunicki P. K. Determination of loratadine in human plasma by high-performance liquid chromatographic method with ultraviolet detection / P. K. Kunicki // *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*. 2001. – Vol. 755, № 1–2. – P. 331–335.

156. Yin O. Q. P. Reliable and specific high-performance liquid chromatographic method for simultaneous determination of loratadine and its metabolite in human plasma / O. Q. P. Yin, X. Shi, M. S. S. Chow // *Journal of Chromatography B*. – 2003. – Vol. 796, № 1. – P. 165–172.

157. Rupérez F. J. LC determination of loratadine and related impurities / F. J. Rupérez, H. Fernández, C. Barbas, // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2002. – Vol. 29, № 1–2. – P. 35–41.

158. Simultaneous determination of loratadine and pseudoephedrine sulfate in human plasma by liquid chromatography–electrospray mass spectrometry for pharmacokinetic studies / J. Sun, G. Wang, W. Wang [et al.] // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2005. – Vol. 39, № 1–2. – P. 217–224.

159. Development and validation of high-throughput liquid chromatography–tandem mass spectrometric method for simultaneous quantification of loratadine and desloratadine in human plasma G. Srinubabu, R. S. Patel, V. P. Shedbalkar [et al.] // *Journal of Chromatography B.* – 2007. – Vol. 860, № 2. – P. 202–208.

160. A sensitive LC/MS/MS method using silica column and aqueous–organic mobile phase for the analysis of loratadine and descarboethoxy-loratadine in human plasma / W. Naidong, T. Addison, T. Schneider [et al.] // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2003. – Vol. 32, № 4–5. – P. 609–617.

161. Fernández H. Capillary electrophoresis determination of loratadine and related impurities / H. Fernández, F. J. Rupérez, C. Barbas // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2003. – Vol. 31, № 3. – P. 499–506.

162. Capella-Peiró M. E. Optimization by factorial design of a capillary zone electrophoresis method for the simultaneous separation of antihistamines / M. E. Capella-Peiró, A. Bossi, J. Esteve-Romero // *Analytical Biochemistry.* – 2006. – Vol. 352, № 1. – P. 41–49.

163. Chavhan M. L. Development and validation of a stability indicating RP-TLC/densitometric method for determination of Loratadine in bulk and in tablets / M. L. Chavhan, A. A. Shirkhedkar, S. J. Surana // *Arabian Journal of Chemistry.* – 2013. – 6 pages.

164. Polarographic behaviour of loratadine and its direct determination in pharmaceutical formulation and human plasma by cathodic adsorptive stripping voltammetry / M. M. Ghoneim, M. M. Mabrouk, A. M. Hassanein, A. Tawfik // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – Vol. 25, № 5–6. – P. 933–939.

165. Gouda A. A. Novel spectrophotometric methods for determination of desloratidine in pharmaceutical formulations based on charge transfer reaction / A. A. Gouda, M. Kassem // *Arabian Journal of Chemistry*. – 2012. – 9 pages.

166. El-Hay S. S. A. Determination of clemastine hydrogen fumarate, desloratadine, losartan potassium and moxepiril HCl through binary complex formation with eosin / S. S. A. El-Hay, M. Y. El-Mammlı, A. A. Shalaby // *Arabian Journal of Chemistry*. – 2011. – 7 pages.

167. Patel R. B. Validation of stability indicating high performance liquid chromatographic method for estimation of Desloratadine in tablet formulation / R. B. Patel, M. R. Patel, J. B. Mehta // *Arabian Journal of Chemistry*. – 2012. – 7 pages.

168. Zheng J. Rapid separation of desloratadine and related compounds in solid pharmaceutical formulation using gradient ion-pair chromatography / J. Zheng, A. M. Rustum // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2010. – Vol. 51, № 1. – P. 146–152.

169. Rao D. D. A validated stability-indicating UPLC method for desloratadine and its impurities in pharmaceutical dosage forms / D. D. Rao, N. V. Satyanarayana, A. M. Reddy [et al.] // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2010. – Vol. 51, № 3. – P. 736–742.

170. Qi M. Determination of desloratadine in drug substance and pharmaceutical preparations by liquid chromatography / M. Qi, P. Wang, Y. Geng // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2005. – Vol. 38, № 2. – P. 355–359.

171. Ponnuru V. S. Quantification of desloratadine in human plasma by LC-ESI-MS/MS and application to a pharmacokinetic study / V. S. Ponnuru, B. R. Challa, R. Nadendla // *Journal of Pharmaceutical Analysis*. – 2010. – Vol. 2, № 3. – P. 180–187.

172. Simultaneous determination of rupatadine and its metabolite desloratadine in human plasma by a sensitive LC–MS/MS method: Application to the pharmacokinetic study in healthy Chinese volunteers / J. Wena, Z. Honga, Y. Wua [et al.] // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2009. – Vol. 49, № 2. – P. 347–353.



173. Simultaneous determination of desloratadine and its active metabolite 3-hydroxydesloratadine in human plasma by LC/MS/MS and its application to pharmacokinetics and bioequivalence / H.-R. Xu, X.-N. Li, W.-L. Chen, N.-N. Chu // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2007. – Vol. 45, № 4. – P. 659–666.

174. Orthogonal extraction/chromatography and UPLC, two powerful new techniques for bioanalytical quantitation of desloratadine and 3-hydroxydesloratadine at 25 pg/mL / J. X. Shen, H. Wang, S. Tadros, R. N. Hayes // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – Vol. 40, № 3. – P. 689–706.

175. High-performance liquid chromatographic method for the bioequivalence evaluation of desloratadine fumarate tablets in dogs / L. Liu, M. Qi, P. Wang, H. Li // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2004. – Vol. 34, № 5. – P. 1013–1019.

176. Validation of a sensitive and automated 96-well solid-phase extraction liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for the determination of desloratadine and 3-hydroxydesloratadine in human plasma / L. Yang, R. P. Clement, B. Kantesaria [et al.] // *Journal of Chromatography B.* – 2003. – Vol. 792, № 2. – P. 229–240.

177. Development of a highly sensitive LC–MS/MS method for simultaneous determination of rupatadine and its two active metabolites in human plasma: Application to a clinical pharmacokinetic study / C. Sun, Q. Li, L. Pan [et al.] // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2015. – Vol. 111. – P. 163–168.

178. Sastry C. S. P. Extraction-spectrophotometric determination of some antihistaminic agents with fast green FCF / C. S. P. Sastry, T. A. S. R. Prasad, M. V. Suryanarayana // *Microchimica Acta.* – 1990. – Vol. 100, № 1. – P. 107–112.

179. Sastry C. S. P. Spectrophotometric determination of some antiallergic agents with 3-methyl-2-benzothiazolinone hydrazine / C. S. P. Sastry, T. A. S. R. Prasad, M. V. Suryanarayana // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 1990. – Vol. 8, № 3. – P. 287–292.

180. Таджиева А. Д. Изучение стабильности и скорости высвобождения диазолина из из таблеток Диафита / А. Д. Таджиева // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2000. – № 2. – С. 43–44.

181. Wulandari L. Densitometric determination of mebhydrolin napadisylate in tablets / L. Wulandari, M. Yumono, G. Indrayanto // J. Planar Chromatogr. – 2012. – Vol. 25, № 1. – P. 60–64.

182. Wulandari L. Determination and validation of mebhydroline napadisylate in tablets by HPLC / L. Wulandari // Indo. J. Chem. – 2008. – Vol. 8, № 3. – P. 377–379.

183. Мантров Г. И. Ионселективный электрод для определения мебгидролина (диазолина) в фармацевтических препаратах / Г. И. Мантров, И. К. Шевчук // Вестник ТвГУ серия «Химия». – 2012. – № 14. – С. 43–47.

184. Державна Фармакопея України. – 1-е вид. – Харків: PIPEГ, 2001. – Доповнення 1. – 2004. – 520 с.

185. British Pharmacopeia. – Her Majesty's Stationery Office. – London, 2013.

186. European Pharmacopoeia. – 8th ed. – Strasbourg, France: Council of Europe, 2013. – 3655 с.

187. United States Pharmacopeia. – 32 ed. – Rockville: USP Convention Inc., 2008. – 3577 с.

188. Державна Фармакопея України. – 1-е вид. – Харків: Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр", 2008. – Доповнення 2. – 2008. – 620 с.

189. Государственная Фармакопея СССР. – 10-е вид. – М.: Медицина, 1968. – 1079 с.

190. Государственная Фармакопея Российской Федерации. – 12-е вид. – М.: Научный центр экспертизы средств медицинского применения, 2008. – 704 с.

191. Булатов М. И. Практическое руководство по фотометрическим методам анализа – 5-е изд. / М. И. Булатов, И. П. Калинин – Л.: Химия, 1986. – 432 с.

192. Mchedlov-Petrosyan N. O. Dissociation, tautomerism and electroreduction of xanthene and sulfonephthalein dyes in N,N-dimethylformamide and other solvents / Mchedlov-Petrosyan N. O., Kukhtik V. I., Bezugliy V. D. // *J. Phys. Org. Chem.* – 1996. – Vol. 16, № 7. – P. 380–397.

193. Экспертное исследование производных амфетамина: Методические рекомендации / [И. Г. Алексеев, А. В. Беляев, М. А. Дроздов и др.]. – М.: ЭКЦ МВД России, 1997. – 47 с

194. Державна Фармакопея України. – 1-е вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – 556 с.

195. Казицына Л. А. Применение УФ-, ИК-, ЯМР- и масс-спектропии в органической химии / Л. А. Казицына, Н. Б. Куплетская – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1979. – 240 с.

196. Браун Д. Спектроскопия органических веществ / Браун Д., Флорид А., Сейнсбери М.; пер. с англ. А. А. Кирюшкина. – М.: Мир, 1992. – С. 38–78.

197. Spectroscopic studies on [(DD18C6H<sub>2</sub>)(HPA)<sub>2</sub>](PA)<sub>2</sub> and [(DD18C6H<sub>2</sub>)(DDQ)<sub>2</sub>](DDQH)<sub>2</sub> formed in the reaction of N,N'-dibenzyl-1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazacyclooctadecane with HPA and DDQ / S. M. Teleb, A. S. Gaballa, M. A. F. Elmosallamy, el-M. Nour // *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* – 2005. – Vol. 61, № 11–12. – P. 2708–2718.

198. The direct effects of alkali metal and alkaline earth metal perchlorates on the equilibria of acid-base indicators (sulfonephthaleins) in acetonitrile solution / M. Hojo, T. Ueda, K. Kavamura, M. Yamasaki // *Bull. Chem. Soc. Jpn.* – 2000. – Vol. 73, № 2. – P. 347–355.

199. 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.

200. Загородній С. Л. Кількісне визначення зопіклону 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.

201. Загородній С. Л. Спектрофотометричне визначення циклодолу в таблетках / С. Л. Загородній, С. О. Васюк // Фармац. часопис. – 2014. – № 4 (32). – С. 58–63.

202. Загородній С. Л. Validation of quantitative determination methods of diphenhydramine tablets by high performance liquid chromatography / С. Л. Загородній, С. О. Васюк // Запорозж. мед. журн. – 2015. - № 2 (89). – С. 89–93.

203. Загородній С. Л. Спектрофотометрическое определение зопиклона в таблетках / С. Л. Загородній, С. О. Васюк // Рецепт. – 2014. – № 2 (94). – С. 71–78.

204. 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.

205. Загородній С. Л. Валідація методики кількісного визначення зопіклону в таблетках методом високоефективної рідинної хроматографії / С. Л. Загородній, С. О. Васюк // Фармацевтичний журнал. – 2015. – № 2. – С. 69–74.

206. Патент на корисну модель 92249 Україна, МПК G01N 21/78. Спектрофотометричний спосіб кількісного визначення зопіклону / С. Л. Загородній, С. О. Васюк – № u201401711 ; заявл. 21.02.14 ; опубл. 11.08.14, Бюл. № 5.

207. Загородній С. Л. Спектрофотометрична методика визначення димедролу / С. Л. Загородній, С. О. Васюк // Сучас. можлив. стоматології : тези доп. III Всеукр. наук.-практ. конф. студ. та мол. вчених, м. Луганськ, 11-12 квіт. 2013 р. – Луганськ, 2013. – С. 158.

208. Загородній С. Л. Визначення деяких валідаційних характеристик для спектрофотометричної методики кількісного визначення димедролу в таблетках / С. Л. Загородній, С. О. Васюк // Матер. XVII міжнар. мед. конгрес студ. та мол. вчених, м. Тернопіль, 22-24 квіт. 2013 р. – Тернопіль, 2013. – С. 306.

209. Загородній С. Л. Спектрофотометрична методика кількісного визначення циклодолу / С. Л. Загородній, С. О. Васюк // Актуал. пробл. та персп. розв. мед., фармац. та природн. наук – 2013 : тези доп. II Регіон. наук.-практ. конф. студ., аспір. та мол. вчених, м. Запоріжжя, 21 груд. 2013 р. – Запоріжжя, 2013. – С. 10–11.

210. Загородній С. Л. Розробка та валідація спектрофотометричних методик кількісного визначення речовин в лікарських формах на основі взаємодії з сульфоталеїновими барвниками та похідними хінону / С. Л. Загородній, С. О. Васюк, К. П. Портна, Ю. М. Жук // Пробл. синт. біол. актив. речов. та створ. на їх основі лікар. субст : матер. Укр. наук.-практ. конф., присв. 100-річчю з дня нар. д. хім. н. П. О. Петюніна, м. Харків, 24-25 квіт. 2014 р. – Харків, 2014. – С. 88.

211. Загородній С.Л. Застосування сульфоталеїнових барвників у спектрофотометричному аналізі психотропних лікарських засобів / С. Л. Загородній, С. О. Васюк // Сучас. аспекти мед. і фармац. – 2014 : тези доп. 74 Всеукр. наук.-практ. конф. мол. вчених та студ. з міжнар. участю, м. Запоріжжя, 15-16 трав. 2014 р. – Запоріжжя, 2014. – С. 174.

212. Загородній С. Л. Визначення деяких валідаційних характеристик методики кількісного визначення димедролу в таблетках методом високоефективної рідинної хроматографії / С. Л. Загородній, С. О. Васюк // Актуал. пробл. та персп. розв. мед., фармац. та природн. наук – 2013 : тези доп. III Регіон. наук.-практ. конф. студ., аспір. та мол. вчених, м. Запоріжжя, 29 лист. 2014 р. – Запоріжжя, 2014. – С. 167–168.

213. Загородній С. Л. Розробка та валідація спектрофотометричної методики кількісного визначення тиопенталу натрію / С. Л. Загородній,

С. О. Васюк // Аналіт. хім. у фармації : матер. міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 19-20 бер. 2015 р. – Харків, 2015. – С. 38–39.

214. Загородній С. Л. Розробка та валідація спектрофотометричної методики кількісного визначення лоратадину в таблетках / С. Л. Загородній, С. О. Васюк В. В. Бугайова // Мед. наука та практ. на сучас. істор. етапі : тези доп. міжнар. наук.-практ. конф., м. Київ, 8 трав. 2015 р. – Київ 2015. – С. 112–113.

215. Загородній С. Л. Разработка спектрофотометрических методик количественного определения лекарственных веществ в фармацевтических препаратах на основе реакций с сульфоталеиновыми красителями и производными хинона / С. Л. Загородній, С. О. Васюк К. П. Портна // Батыс Казакстан медицина журналы : тези доп. 55-ї юбіл. Міжнар. наук. конф. студ. і мол. вчених, м. Актобе, 19-20 трав. 2015 р. – 2015. – № 1 (45). – С. 25.

216. Загородній С. Л. Розробка та валідація спектрофотометричної методики кількісного визначення лоратадину в таблетках «Алерік» / С. Л. Загородній, С. О. Васюк // Ліки – людині. Сучас. пробл. фармакотер. і признач. лік. засобів : тези доп. XXXII Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 21 трав. 2015 р. – Харків 2015. – С. 36.

217. Загородній С.Л. Розробка та валідація спектрофотометричної методики кількісного визначення лоратадину / С.Л. Загородній, С. О. Васюк, В.В. Бугайова // Сучас. аспекти мед. і фармац. – 2015 : тези доп. Всеукр. наук.-практ. конф. мол. вчених та студ. з міжнар. участю, м. Запоріжжя, 14-15 трав. 2015 р. – Запоріжжя, 2015. – С. 150–151.

218. Загородній С.Л. Спектрофотометрична методика кількісного визначення лоратадину в таблетках / С.Л. Загородній, С. О. Васюк, В. В. Бугайова // Здобут. клін. та експерим. медицини : тези доп. наук.-практ. конф., м. Тернопіль, 17 черв. 2015 р. – Тернопіль, 2015. – С. 195.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

228. Стандартизованная процедура валидации методик количественного анализа лекарственных средств методом стандарта / А. И. Гризодуб, Леонтьев Д. А., Денисенко Н. В., Подпружников Ю. В. // Фармаком. – 2004. – № 3. – С. 5-16.

## Додаток А

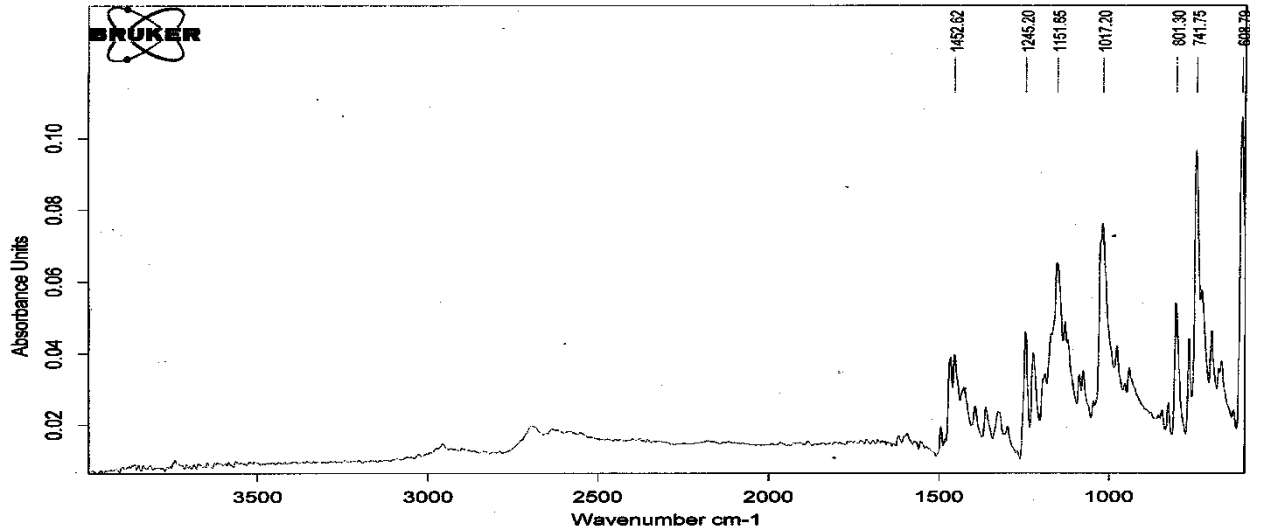


Рис. А.1. ІЧ-спектр мебгідролін

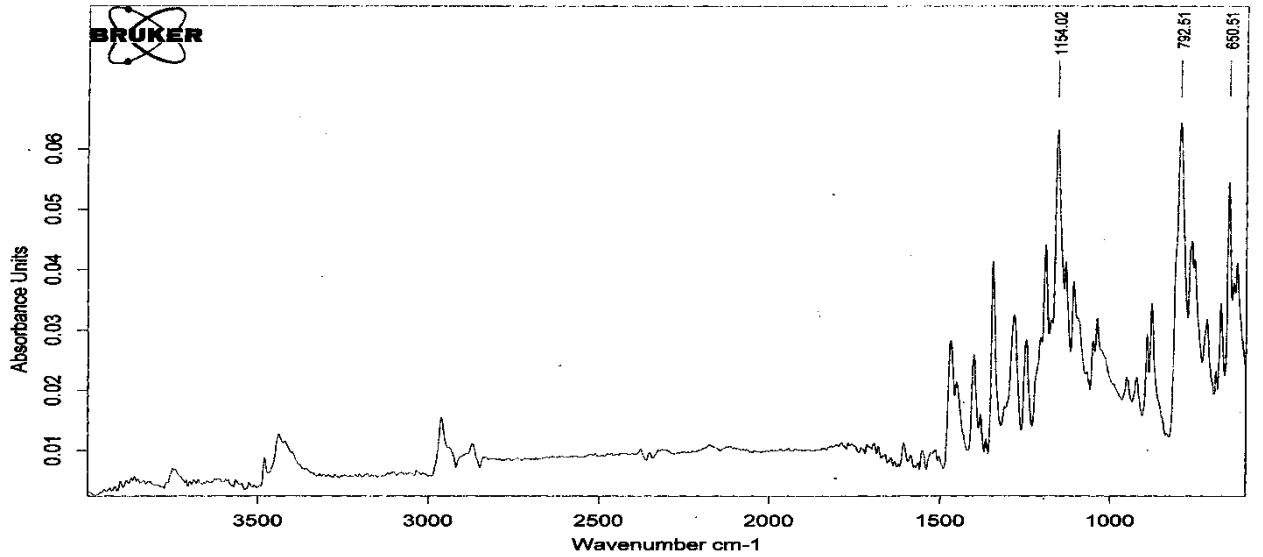


Рис. А.2. ІЧ-спектр бромтимолового синього

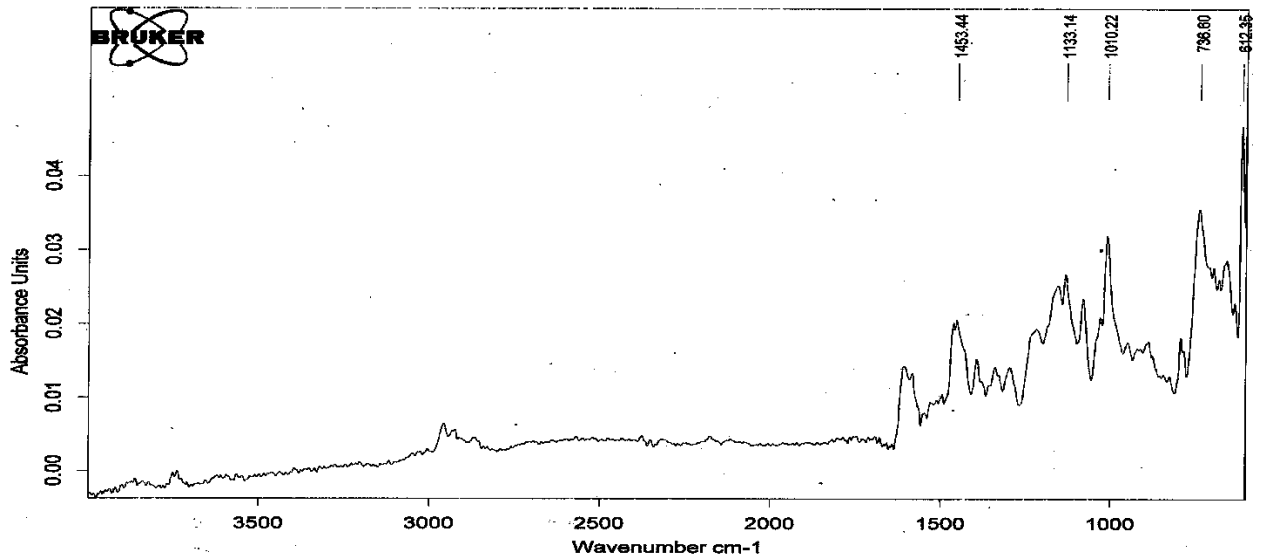


Рис. А.3. ІЧ-спектр продукту взаємодії мебгідроліну з BTS



Додаток Б

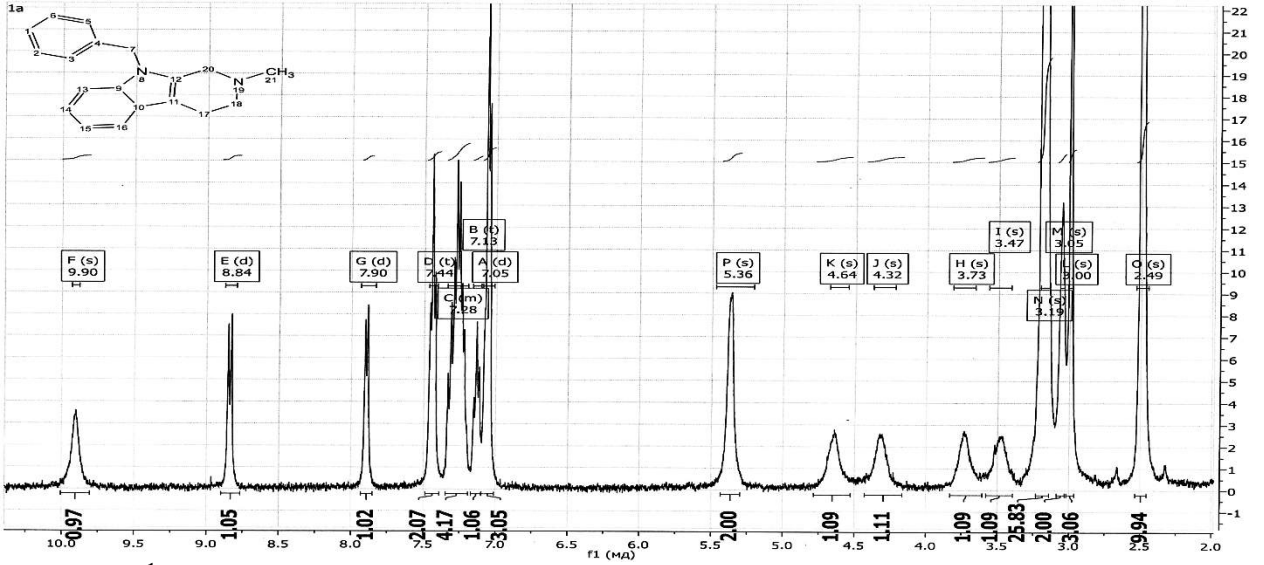


Рис. Б.1. <sup>1</sup>H-ЯМР -спектр мекбгдроліну

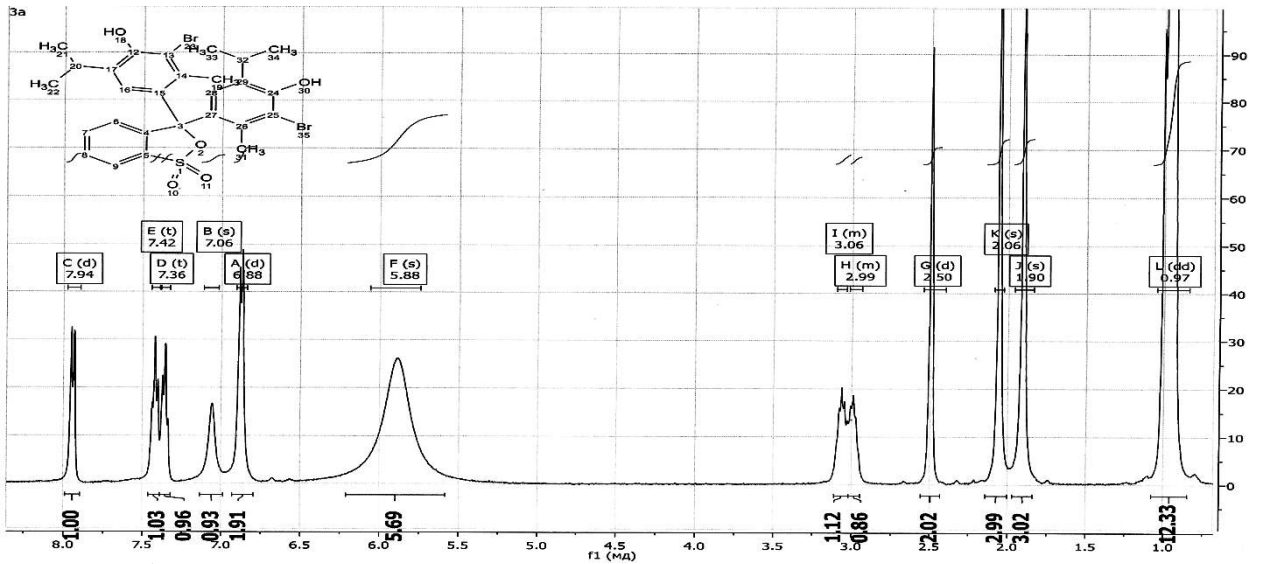


Рис. Б.2. <sup>1</sup>H-ЯМР -спектр бромтимолового синього

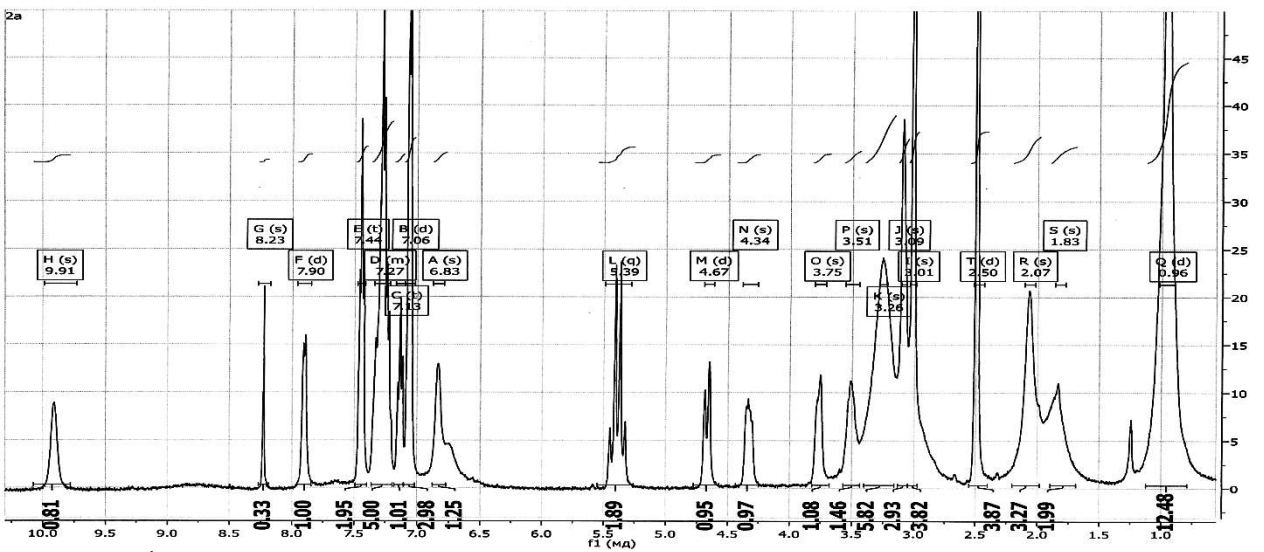


Рис. Б.3. <sup>1</sup>H-ЯМР -спектр продукту взаємодії мекбгдроліну з БТС

Додаток В

УКРАЇНА



ПАТЕНТ

НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

№ 92246

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНИЙ СПОСІБ КІЛЬКІСНОГО  
ВИЗНАЧЕННЯ ЗОПІКЛОНУ

Видано відповідно до Закону України "Про охорону прав на винаходи і корисні моделі".

Зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на корисні моделі **11.08.2014**.

Голова Державної служби  
інтелектуальної власності України

  
М.В. Ковіня

## Продовж. дод. В

(11) 92246

(19) UA

(51) МПК  
G01N 21/78 (2006.01)

- |  |  |
|--|--|
| <p>(21) Номер заявки: <b>u 2014 01711</b></p> <p>(22) Дата подання заявки: <b>21.02.2014</b></p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>11.08.2014</b></p> <p>(46) Дата публікації відомостей про видачу патенту та номер бюлетеня: <b>11.08.2014, Бюл. № 15</b></p> | <p>(72) Винахідники:<br/><b>Загородній Святослав Леонідович, UA,<br/>Васюк Світлана Олександрівна, UA</b></p> <p>(73) Власники:<br/><b>ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ,<br/>пр. Маяковського, 26, м.<br/>Запоріжжя, 69035, UA,<br/>Загородній Святослав Леонідович,<br/>вул. Маршала Чуйкова, 28, кв. 40, м: Запоріжжя, 69121, UA,<br/>Васюк Світлана Олександрівна,<br/>вул. Героїв Сталінграду, 22, кв. 57, м. Запоріжжя, 69095, UA</b></p> |
|--|--|

(54) Назва корисної моделі:

**СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНИЙ СПОСІБ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ЗОПІКЛОНУ**

(57) Формула корисної моделі:

Спектрофотометричний спосіб кількісного визначення зопіклону, який полягає у розчиненні проби та вимірюванні абсорбції, який відрізняється тим, що розчиняють пробу в ацетоні, обробляють ацетоновим розчином бромтимолового синього та вимірюють абсорбцію у видимій області спектра при довжині хвилі 400 нм.

## Додаток Д



«УЗГОДЖЕНО»

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

2015 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Спектрофотометричний спосіб кількісного визначення зопіклону.
2. **Установа, автор:** Запорізький державний медичний університет, пр. Маяковського, 26, м. Запоріжжя, 69121, Загородній Святослав Леонідович, Васюк Світлана Олександрівна.
3. **Джерело інформації:** патент на корисну модель № 92246, МПК G01N21/78. Спектрофотометричний спосіб кількісного визначення зопіклону // Промислова власність.-2014.-№ 15.
4. **Впроваджено:** в практичну роботу Державної служби з лікарських засобів у Запорізькій області.
5. **Строки впровадження:** з 02.02.2015 р. по 02.03.2015 р.
6. **Ефективність впровадження:** нова методика спектрофотометричного визначення зопіклону дозволяє швидко та з високою точністю встановити його кількісний вміст в таблетках.
7. **Зауваження, додатки:** німає

Відповідальний за впровадження:

«02» 03 2015 р.

(підпис)

зав.лабор. Клементів І.М.  
(П.І.Б.)

## Додаток Е



«УЗГОДЖЕНО»

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

2015 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Спектрофотометричний спосіб кількісного визначення кетотифену.
2. **Установа, автор:** Запорізький державний медичний університет, пр. Маяковського, 26, м. Запоріжжя, 69121, Загородній Святослав Леонідович, Васюк Світлана Олександрівна.
3. **Джерело інформації:** 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.
4. **Впроваджено:** в практичну роботу Державної служби з лікарських засобів у Запорізькій області.
5. **Строки впровадження:** з 13.07.2015 р. по 14.08.2015 р.
6. **Ефективність впровадження:** нова методика спектрофотометричного визначення кетотифену дозволяє швидко та з високою точністю встановити його кількісний вміст в таблетках.
7. **Зауваження, додатки:** німає

Відповідальний за впровадження:

«14» 08 2015 р.

(підпис)

зав.лабор Кедровий І.М.  
(П.І.Б.)

## Додаток Ж

**«ЗАТВЕРДЖУЮ»**  
 Начальник НДЕКЦ при ГУМВС  
 України в Запорізькій області  
 підполковник міліції  
 Герасимов О.В.



» 2015 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Кількісне визначення димедролу в лікарських формах методом високоефективної рідинної хроматографії
2. **Установа, автор:** Запорізький державний медичний університет, кафедра аналітичної хімії, Загородній С. Л., Васюк С. О.
3. **Джерела інформації:** Запорожский медицинский журнал. – 2015. – № 2 (89). – С. 89-93.
4. **Впроваджено:** в практичну роботу відділу спеціальних видів експертиз НДЕКЦ при ГУМВС України в Запорізькій області
5. **Термін впровадження:** 05.05-05.06.2015 р.
6. **Ефективність впровадження:** нова методика дозволила швидко та з високою точністю встановлювати кількісний вміст димедролу в таблетках
7. **Зауваження, пропозиції:** впровадити нову методику в практичну роботу інших експертних підрозділів МВС України.

**Відповідальний за впровадження**  
 заступник начальника відділу  
 спеціальних видів експертиз  
 підполковник міліції, к.фарм.н.

Герасимов Віктор Миколайович

« 05 » « 06 » 2015 р.

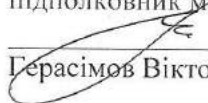
## Додаток 3


  
**«ЗАТВЕРДЖУЮ»**  
 Начальник НДЕКЦ при ГУМВС  
 України в Запорізькій області  
 підполковник міліції  
 Третяков О.В.  
 « 25 » « 09 » 2015 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Кількісне визначення зопіклону в таблетках методом високоефективної рідинної хроматографії
2. **Установа, автор:** Запорізький державний медичний університет, кафедра аналітичної хімії, Загородній С. Л., Васюк С. О.
3. **Джерела інформації:** Фармацевтичний журнал. – 2015. – № 2. – С. 69-74.
4. **Впроваджено:** в практичну роботу відділу спеціальних видів експертиз НДЕКЦ при ГУМВС України в Запорізькій області
5. **Термін впровадження:** 25.08-25.09.2015 р.
6. **Ефективність впровадження:** нова методика дозволила швидко та з високою точністю встановлювати кількісний вміст зопіклону в таблетках
7. **Зауваження, пропозиції:** впровадити нову методику в практичну роботу інших експертних підрозділів МВС України.

**Відповідальний за впровадження**  
 заступник начальника відділу  
 спеціальних видів експертиз  
 підполковник міліції, к.фарм.н.

  
 Герасімов Віктор Миколайович

« 25 » « 09 » 2015 р.

## Додаток И

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи

Запорізького державного

медичного університету



професор

В.О. Туманський

11 2013 р.

## АКТ

**впровадження результатів наукових досліджень Загороднього С.Л. в  
науково-педагогічний процес кафедри фармацевтичної хімії  
Запорізького державного медичного  
університету**

На кафедрі аналітичної хімії Запорізького державного медичного університету заочним аспірантом Загороднім С.Л. розроблено новий спосіб кількісного визначення димедролу (стаття: «Спектрофотометричне визначення димедролу в таблетках») на підставі реакції з бромтимоловим синім 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 К.1

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

Організація  
Ідентифікаційний код СДРНОУ

**А К Т**  
про використання об'єкта права інтелектуальної власності

« 08 » вересня 20 14 р.

Назва і номер охоронного документу Патент на корисну модель № 92246

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

Спектрофотометричний спосіб кількісного визначення зопіклону

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 « 08 » вересня 20 14 р.

Проректор з науки  
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

Загородній С.Л.

Васюк С. О.

« 08 » вересня 20 14 р.

## Додаток К.2



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Спектрофотометричний спосіб кількісного визначення зопіклону.
2. **Установа, автор:** Запорізький державний медичний університет, пр. Маяковського, 26, м. Запоріжжя, 69121, Загородній Святослав Леонідович, Васюк Світлана Олександрівна.
3. **Джерело інформації:** патент на корисну модель № 92246, МПК G01N21/78, Спектрофотометричний спосіб кількісного визначення зопіклону // Промислова власність.-2014.-№ 15.
4. **Впроваджено 2014 р. в науково-педагогічний процес кафедри фармацевтичної хімії** Запорізького державного медичного університету.
5. **Строки впровадження:** з 01.09.2014 р. по 01.11.2014 р.
6. **Ефективність впровадження:** студенти фармацевтичного факультету з цікавістю сприйняли нову методику спектрофотометричного визначення зопіклону, що дозволяє швидко та з високою точністю встановити його кількісний вміст в таблетках.
7. **Зауваження, додатки:** включити інформацію про нову методику визначення зопіклону у науково-педагогічний процес фармацевтичних та хімічних кафедр інших навчальних закладів країни.

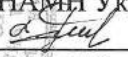
Відповідальний за впровадження:  
 завідувач кафедри фармацевтичної хімії  
 д. фарм. н.

Л. І. Кучеренко

«28» Серпня 2015 р.

## Додаток Л

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

перший проректор Львівського  
національного медичного університету  
імені Данила Галицького  
чл.-кор. НАМН України, професор  
 М.Р. Гжегоцький  
« 19 » 05 2014 р.



## АКТ

**впровадження результатів наукових досліджень С.Л. Загороднього 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 заочним аспірантом Загороднім С.Л. розроблено новий спосіб кількісного визначення димедролу (стаття: Загородній С. Л. Спектрофотометричне визначення димедролу в таблетках / Загородній С. Л., Васюк С. О. // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки і практики. – 2013. – № 2 (12). – С. 98 – 101.) за реакцією з бромтимоловим синім у видимій області спектра.

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

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



Р.Б. Лесик

## Додаток М

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

## Акт

**впровадження результатів наукових досліджень С.Л. Загороднього в  
науково-педагогічний процес кафедри фармацевтичної хімії  
Національного фармацевтичного університету**

На кафедрі аналітичної хімії Запорізького державного медичного університету заочним аспірантом Загороднім С.Л. розроблено новий спосіб кількісного визначення димедролу (стаття «Спектрофотометричне визначення димедролу в таблетках») на підставі реакції з бромтимоловим синім у видимій області спектра.

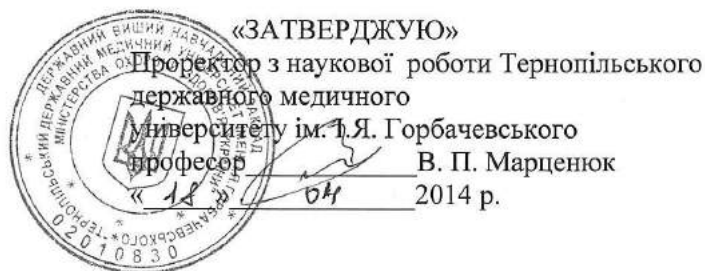
Розроблені способи впроваджені в науково-педагогічний процес студентів III, IV та V курсів кафедри фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету і використовуються в лекціях, лабораторних заняттях студентів, інтернів, слухачів курсів підвищення кваліфікації.

Завідувач кафедри фармацевтичної хімії  
Національного фармацевтичного університету  
професор



В. А. Георгіяни

## Додаток Н



## АКТ

**впровадження результатів наукових досліджень Загороднього С.Л. 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 заочним аспірантом Загороднім С. Л. розроблено новий спосіб кількісного визначення димедролу (стаття: Загородній С. Л. Спектрофотометричне визначення димедролу в таблетках / Загородній С. Л., Васюк С. О. // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки і практики. – 2013. –№ 2 (12). – С. 98 – 101.) за реакцією з бромтимоловим синім 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 П

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

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



» 2015 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Спектрофотометричне визначення циклодолу в таблетках
2. **Установа, автор:** Запорізький державний медичний університет, кафедра аналітичної хімії, Загородній С.Л., Васюк С.О.
3. **Джерела інформації:** Фармацевтичний часопис. – 2014. – № 4 (32). – С. 58-63.
4. **Впроваджено:** в педагогічний процес кафедри контролю якості і стандартизації лікарських засобів на циклі інтернатура «Загальна фармація»
5. **Термін впровадження:** 2.02-26.06.2015р.
6. **Ефективність впровадження:** слухачі циклу – провізори інтерни, випускники Національного медичного університету імені О.О.Богомольця, Запорізького державного медичного університету, Національного фармацевтичного університету та Вінницького національного медичного університету імені М.І.Пирогова з цікавістю сприйняли нову методику спектрофотометричного визначення циклодолу, яка може бути використана для кількісного визначення цієї речовини у лікарських формах
7. **Зауваження, пропозиції:** включити інформації у навчання інших циклів, спрямованих на підготовку провізорів, які займаються оптовою та роздрібною реалізацією ліків, відповідають за систему забезпечення якості лікарських засобів.

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

Ветютнева Наталія Олександрівна  
« 26 » « 06 » 2015 р.

## Додаток Р

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

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



« 26 » « 06 » 2015 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Кількісне визначення димедролу в лікарських формах методом високоефективної рідинної хроматографії
2. **Установа, автор:** Запорізький державний медичний університет, кафедра аналітичної хімії, Загородній С.Л., Васюк С.О.
3. **Джерела інформації:** Запорожский медицинский журнал. – 2015. – № 2 (89). – С. 89-93.
4. **Впроваджено:** в педагогічний процес кафедри контролю якості і стандартизації лікарських засобів на циклі інтернатура «Загальна фармація»
5. **Термін впровадження:** 2.02-26.06.2015р.
6. **Ефективність впровадження:** слухачі циклу – провізори інтерни, випускники Національного медичного університету імені О.О.Богомольця, Запорізького державного медичного університету, Національного фармацевтичного університету та Вінницького національного медичного університету імені М.І.Пирогова з цікавістю сприйняли нову методику хроматографічного визначення димедролу, яка може бути використана для кількісного визначення цієї речовини у лікарських формах
7. **Зауваження, пропозиції:** включити інформацію у навчання циклів провізорів-інтернів та інших циклів, спрямованих на підготовку фахівців, що займаються оптовою та роздрібною реалізацією ліків, відповідають за систему забезпечення якості лікарських засобів

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

Ветютнева Наталія Олександрівна  
« 26 » « 06 » 2015 р.

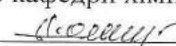
## Додаток С



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Кількісне визначення димедролу в лікарських формах методом вискоєфективної рідинної хроматографії
2. **Установа, автор:** Запорізький державний медичний університет, кафедра аналітичної хімії, Загородній С. Л., Васюк С. О.
3. **Джерела інформації:** Запорожский медицинский журнал. – 2015. – № 2 (89). – С. 89-93.
4. **Впроваджено:** в науково-педагогічний процес кафедри хімії
5. **Термін впровадження:** 05.05-05.06.2015 р.
6. **Ефективність впровадження:** сприяти з цікавістю сприйняли нову методику кількісного визначення димедролу, що дозволяє швидко та точно аналізувати його лікарські форми
7. **Зауваження, пропозиції:** немає

Відповідальний за впровадження  
 професор кафедри хімії

  
 Омелянчик Людмила Олександрівна

« 05 » « 06 » 2015 р.



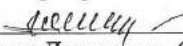
## Додаток Т

**«ЗАТВЕРДЖУЮ»**  
 Проректор з наукової роботи  
 Запорізького національного  
 університету  
 д.і.н., проф.  Васильчук Г. М.  
 « 05 » « 06 » 2015 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Спектрофотометричне визначення циклодолу в таблетках
2. **Установа, автор:** Запорізький державний медичний університет, кафедра аналітичної хімії, Загородній С. Л., Васюк С. О.
3. **Джерела інформації:** Фармацевтичний часопис. – 2014. – № 4 (32). – С. 58-63.
4. **Впроваджено:** в науково-педагогічний процес кафедри хімії
5. **Термін впровадження:** 05.05-05.06.2015 р.
6. **Ефективність впровадження:** студенти з цікавістю сприйняли нову методику спектрофотометричного визначення циклодолу в таблетках, що дозволяє точно та з високою швидкістю аналізувати лікарські форми
7. **Зауваження, пропозиції:** намає

Відповідальний за впровадження  
 професор кафедри хімії

  
 Омелянчик Людмила Олександрівна

« 05 » « 06 » 2015 р.