

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

КРИВАНИЧ ОЛЕКСАНДР ВАЛЕРІЙОВИЧ

УДК 615.213:615.32:582.951.4

**РОЗРОБКА ТА ВАЛІДАЦІЯ МЕТОДИК КІЛЬКІСНОГО
ВИЗНАЧЕННЯ ФЕНІЛЕФРИНУ ГІДРОХЛОРИДУ У ЛІКАРСЬКИХ
ЗАСОБАХ**

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

**Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук**

Харків – 2016

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету Міністерства охорони здоров'я України

Науковий керівник: кандидат фармацевтичних наук, доцент
БЕВЗ НАТАЛІЯ ЮРІЇВНА
Національний фармацевтичний університет,
доцент кафедри фармацевтичної хімії

Офіційні опоненти: доктор хімічних наук, професор
ГРИЗОДУБ ОЛЕКСАНДР ІВАНОВИЧ
в.о. директора ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів» МОЗ України

доктор фармацевтичних наук, професор
ВАСЮК СВІТЛАНА ОЛЕКСАНДРІВНА
Запорізький державний медичний університет,
завідувач кафедри аналітичної хімії

Захист відбудеться "12" жовтня 2016 року о 12⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.01 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4).

Автореферат розісланий " ____ " вересня 2016 року.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради,
професор

В. А. Георгіянци

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Однією з вимог сучасної системи якості у фармації є розробка нових, вдосконалення вже існуючих аналітичних методик і випробувань як складової частини принципів та вимог належних практик лікарських засобів для людини на всіх стадіях життєвого циклу лікарського засобу, їх валідація у відповідності до вимог Державної фармакопеї України (ДФУ), провідних фармакопей світу та законодавчих актів, які регулюють якість лікарських засобів.

Державна фармакопея України взяла курс на введення монографій на готові лікарські засоби (ГЛЗ), що є дуже важливим для функціонування фармацевтичної галузі України, яка розвивається швидкими темпами, зокрема у напрямку імпортозаміщення. Крім того, ДФУ велику увагу приділяє формуванню сучасних вимог до якості лікарських засобів, виготовлених в аптечних умовах, що в свою чергу сприяє розвитку аптечного виробництва.

Важливість забезпечення ефективного контролю якості обумовлена розширенням номенклатури як імпортованих, так і вітчизняних препаратів на фармацевтичному ринку України. Значною мірою це стосується арсеналу препаратів з фенілефрину гідрохлоридом (ФГ), який входить до складу численних лікарських засобів, що застосовуються для лікування різноманітних захворювань, в тому числі для симптоматичного лікування грипу та гострих респіраторних захворювань, серед яких не останнє місце посідають монокомпонентні та комбіновані лікарські засоби як промислового, так і аптечного виготовлення.

Особливу увагу в фармацевтичному аналізі приділяють розробці методик контролю якості багатокомпонентних лікарських засобів. Ідентифікація та визначення кількісного вмісту діючих речовин в них при широкому діапазоні концентрацій є складною і вимагає, як правило, застосування різних методів. Це в свою чергу ускладнює процес розробки та валідації методик визначення окремих активних фармацевтичних інгредієнтів (АФІ) і вимагає великого обсягу експериментальних досліджень.

З огляду на це, актуальною є розробка та валідація простих у виконанні, швидких, точних і відтворюваних методик кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду у присутності інших компонентів у лікарських засобах.

Вищевикладене зумовило вибір теми дисертаційної роботи, визначило її актуальність, мету, завдання та структуру наукового дослідження.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота є продовженням наукових досліджень, що проводяться співробітниками хімічних кафедр Національного фармацевтичного університету в напрямку розробки та валідації методів контролю якості лікарських препаратів. Робота виконана згідно з планом НДР НФаУ за проблемою «Фармація» – «Розробка та валідація методів контролю якості лікарських засобів аптечного та промислового виробництва» (№ державної реєстрації 0108U010944,

№ державної реєстрації 0114U000949) та планом ПК «Фармація» МОЗ України.

Мета і задачі дослідження. Метою дисертаційної роботи є розробка та валідація методик кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду в лікарських засобах промислового та аптечного виробництва.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити наступні задачі:

- проаналізувати асортимент однокомпонентних та багатокомпонентних лікарських засобів з ФГ промислового та аптечного виготовлення; провести аналіз літературних джерел щодо існуючих методик кількісного визначення ФГ в субстанції і лікарських засобах;
- верифікувати тести «Ідентифікація» та «Випробування на чистоту» згідно вимог Британської фармакопеї (ВР); розробити та валідувати спектрофотометричну методику кількісного визначення ФГ для її подальшого включення в монографію ДФУ;
- розробити методики кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду в таблетках, очних та назальних краплях методом абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій та видимій областях спектра;
- валідувати розроблені методики кількісного визначення ФГ в моно- та багатокомпонентних лікарських засобах;
- розробити методики кількісного визначення ФГ в лікарських формах аптечного виготовлення;
- розробити методики контролю якості (МКЯ) та здійснити валідацію методик кількісного визначення складових екстемпоральних лікарських засобів (ЕЛЗ);
- на основі отриманих результатів розробити практичні рекомендації щодо проведення хімічного аналізу екстемпоральних лікарських форм (ЕЛФ);
- визначити терміни придатності для обраних ЕЛФ з подальшим впровадженням отриманих результатів в аптечну практику.

Об'єкт дослідження – контроль якості лікарських засобів з фенілефрину гідрохлоридом промислового та аптечного виробництва.

Предмет дослідження – розробка та валідація фізико-хімічних та хімічних методик кількісного визначення лікарських засобів з фенілефрину гідрохлоридом: розчин для ін'єкцій «Мезатон», очні краплі «Мезатон», назальні краплі «Назол Бебі» та «Грипоцитрон РИНС», таблетки «Антифлу», виготовлені в умовах виробництва та очні краплі і складні порошки для лікування простудних захворювань аптечного виготовлення. Верифікація тестів монографії Британської фармакопеї «Фенілефрину розчин для ін'єкцій» для розробки монографії ДФУ.

Методи дослідження. Для вирішення поставлених задач були застосовані фармакопейні фізико-хімічні методи аналізу: абсорбційна спектрофотометрія (СФ) в ультрафіолетовій (УФ) і видимій областях спектра, тонкошарова хроматографія (ТШХ); хімічні методи ідентифікації та

кількісного визначення, випробування на чистоту, у тому числі визначення супровідних домішок; фармако-технологічні випробування готових лікарських засобів; методи математичної статистики, у тому числі статистичний аналіз результатів експериментальних досліджень. Процедуру валідації аналітичних методик проводили відповідно до вимог ДФУ. Використовували біологічні методи, що рекомендуються ДФУ для визначення стерильності і мікробіологічної чистоти при визначення терміну придатності ЕЛФ.

Наукова новизна одержаних результатів. Запропоновано та шляхом валідації доведено коректність оригінальної методики кількісного визначення ФГ в очних краплях аптечного виробництва.

Уперше розроблено методику кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду методом абсорбційної СФ в УФ області методом стандарту в назальних краплях у присутності допоміжних речовин (патент України на корисну модель № UA95908 U).

Модифіковано та валідовано методику кількісного визначення ФГ методом спектрофотометрії у видимій області, яка ґрунтується на реакції з 4-аміноантипірином у присутності калію феріцианіду в слаболужному середовищі. Методику валідовано на модельній суміші, яка відповідає складу назальних крапель «Назол Бебі».

Уперше запропоновано використовувати як реагент 2,6-дихлорхінон-4-хлорімід для кількісної оцінки фенілефрину гідрохлориду в складі багатокомпонентних лікарських форм (назальні краплі «Грипоцитрон РИНІС» та таблетки «Антифлу»). Вивчені валідаційні характеристики доводять коректність використання даної методики для контролю якості ФГ у цих лікарських формах.

Уперше розроблено та валідовано за вимогами ДФУ методики контролю якості АФІ (фенілефрину гідрохлорид, кислота аскорбінова, рутин, парацетамол) в протизастудних комбінованих порошках аптечного виготовлення, які використані для встановлення терміну придатності ЕЛФ.

У процесі виконання експериментальної частини дисертаційної роботи розроблено і валідовано методики кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду відповідно до вимог ДФУ в обраних 5 лікарських засобах промислового виробництва та 2 ЕЛФ.

Практичне значення одержаних результатів. Представлені результати наукових досліджень дозволяють використовувати розроблені методики кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду в моно- та багатокомпонентних лікарських формах промислового та аптечного виготовлення для проведення контролю якості обраних лікарських засобів в лабораторіях з аналізу якості лікарських засобів та виробів медичного призначення територіальних Державних служб та рутинного аналізу на виробництві.

Результати експериментальних досліджень з адаптації/верифікації методик ВР та розробки методики кількісного визначення, отримані на трьох

серіях препарату «Мезатон, розчин для ін'єкцій» українського виробника стали підставою для введення монографії «Фенілефрину гідрохлорид, розчин для ін'єкцій» до другого видання ДФУ (акт № 11/243 від 22.09.2014 р.).

Розроблено проект монографії ДФУ «Мезатон, очні краплі, виготовлені в аптеці», який подано до подальшого включення до Державної Фармакопеї України.

За результатами проведених досліджень оформлено 1 інформаційний лист про нововведення в галузі охорони здоров'я (№ 420 – 2014 «Визначення кількісного вмісту фенілефрину гідрохлориду в комбінованих назальних краплях методом абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій та видимій області»).

Результати дисертаційної роботи впроваджені в практику лабораторій з аналізу якості лікарських засобів та виробів медичного призначення територіальних Державних служб з лікарських засобів у Житомирській, Волинській та Сумській областях, в науково-педагогічний процес кафедр вищих навчальних закладів України (Запорізький державний медичний університет, Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького, ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. Горбачевського, ДВНЗ «Ужгородський національний університет»).

Особистий внесок здобувача. У комплексних дослідженнях за темою дисертаційної роботи, проведених колективом співавторів, особисто дисертантом здійснено пошук та аналіз даних наукової літератури вітчизняних та іноземних джерел із проблем валідації та верифікації аналітичних методик кількісного визначення ФГ. Проведено аналіз асортименту ГЛЗ та ЕЛФ, що містять у своєму складі фенілефрину гідрохлорид з метою визначення об'єктів дослідження.

Автором особисто проведені експериментальні дослідження, описані в дисертаційній роботі: розроблено методики кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду в ГЛЗ та ЕЛФ методом абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій області, фотометричні методики із застосуванням таких реагентів як 4-аміноантипирин та 2,6-дихлорхінонхлорімід і запропоновано використовувати для аналізу ЕЛФ титриметричні методи. Безпосередньо автором проведено процедуру визначення і розрахунку валідаційних характеристик рекомендованих методик кількісного визначення аналізованої речовини в складі досліджуваних лікарських форм. Автор приймав участь в узагальненні експериментальних даних і оформленні інформаційного листа, патенту на корисну модель, статей та тез доповідей на конференціях.

Апробація результатів дисертації. Основний зміст дисертаційної роботи доповідався на науково-практичних конференціях: «Сучасні досягнення фармацевтичної технології: Матеріали III науково-практичної конференції з міжнародною участю» (Харків 2012 р.), «Управління якістю в фармації: Матеріали VII науково-практичної конференції», (Харків 2013 р.), «Косметологія: сьогоднішня та майбутня: Матеріали науково-практичної

конференції з міжнародною участю» (Харків 2013 р.), «Сучасні досягнення фармацевтичної технології: Матеріали IV науково-практичної конференції з міжнародною участю» (Харків 2014 р.), «Topical issues of new drugs development: Abstracts of International Scientific And Practical: Conference Of Young Scientists And Student» (Харків 2015 р.), «44th Conference Drug Synthesis and Analysis» (Чеська республіка, Брно 2015 р.).

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 14 наукових праць, із них 6 статей у провідних наукових фахових виданнях, 1 патент на корисну модель, 1 інформаційний лист та 6 тез доповідей на науково-практичних конференціях різних рівнів.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 194 сторінках машинописного тексту, складається зі вступу, 5 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 146 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 62 таблицями, 2 схемами та 32 рисунками. Список використаних джерел містить 187 найменувань, з них 64 кирилицею та 123 латиною.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Розділ 1. Асортимент лікарських засобів з фенілефрину гідрохлоридом та контроль їх якості (огляд літератури)

Огляд літератури присвячено аналізу асортименту лікарських засобів з фенілефрину гідрохлоридом промислового та аптечного виробництва. Визначена структурованість ЛЗ з ФГ на ринку України. Проаналізовано та узагальнено методи кількісного визначення ФГ в різноманітних комбінаціях та в різних лікарських формах. Узагальнено методики контролю якості ФГ. Встановлено, що перспективною є розробка нових методик кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду в ГЛЗ та ЕЛФ.

Розділ 2. Об'єкти, матеріали та методи дослідження

За результатами аналізу асортименту лікарських засобів промислового виробництва були обрані найбільш застосовувані лікарські форми, що містять в своєму складі ФГ: розчин для ін'єкцій, краплі очні, назальні краплі, таблетки. Об'єктами дослідження обрані «Мезатон, розчин для ін'єкцій»; «Мезатон, краплі очні»; «Грипоцитрон РИНІС, краплі назальні»; «Назол Бебі, краплі назальні» та таблетки «Антифлу».

Проведений аналіз екстемпоральної рецептури аптек показав, що частіше за все лікарі виписують, в аптеці виготовляють такі прописи з фенілефрину гідрохлоридом, як очні краплі й порошки для лікування симптомів застуди та грипу:

Rp.: Sol. Phenylephrini hydrochloridi
1%-10мл
Natrii chloridi 0,062

Rp.: Paracetamoli 0,5
Acidi ascorbinici 0,3
Rutini 0,05
Phenylephrini hydrochloridi 0,01
Glucosi ad 2,0

Наведено методики кількісного визначення парацетамолу, кислоти аскорбінової та рутину, які можуть бути використані для аналізу ЕЛФ в умовах лабораторій з аналізу якості ЛЗ та аптек. Охарактеризовано процедуру вивчення валідаційних характеристик і наведено критерії прийнятності для спектрофотометричної та титриметричних методик кількісного визначення ГЛЗ і ЕЛФ.

Розділ 3. Розробка методик контролю якості ін'єкційних розчинів та очних крапель з фенілефрину гідрохлоридом промислового та аптечного виробництва

У зв'язку зі зростанням попиту на лікарські засоби вітчизняного виробництва виникла потреба у розробці монографії «Фенілефрину гідрохлорид, розчин для ін'єкцій» для подальшого включення її до другого видання ДФУ. За основу була обрана монографія Британської фармакопеї, згідно вимог якої проведена верифікація тестів «Ідентифікація» і «Випробування на чистоту».

У розділі описані результати ідентифікації фенілефрину гідрохлориду методами абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій області, тонкошарової хроматографії та хімічними реакціями й наведені випробування на чистоту (визначення рН розчину та супутніх домішок за допомогою ТШХ).

Згідно вимог ВР кількісне визначення проводять методом абсорбційної спектрофотометрії в УФ-області. Використовують як розчинник 0,5 М розчин кислоти сульфатної, визначення проводять за довжини хвилі 273 нм у варіанті методу питомого показника поглинання. Відповідно до вимог ДФУ щодо спектрофотометричних випробувань розроблено методику кількісного визначення ФГ у розчині для ін'єкцій з розрахунком вмісту діючої речовини методом стандарту. Визначено валідаційні характеристики: лінійність, правильність, стабільність, прецизійність, збіжність, відтворюваність, невизначеність пробопідготовки.

За результатами валідації спектрофотометричної методики кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду встановлено, що хоча повна невизначеність пробопідготовки є суттєвою $\Delta_{SP} = 0,728 \geq 0,512\%$, у той же час повна прогнозована невизначеність $\Delta_{As} = 0,85\% \leq 1,60\%$ не перевищує критичного значення. Параметри лінійності (рис. 1, табл. 1) відповідають вимогам ДФУ на всьому діапазоні аналізованих концентрацій 80-120%. Отримані результати експериментального визначення валідаційних характеристик підтверджують коректність методики при відтворюваності її в інших лабораторіях ($a=0,97 \leq 1,94$, $r=0,9981 \geq 0,9981$).

Відносний довірчий інтервал методики складає 0,74%, систематична похибка – 0,09%, відносне стандартне відхилення – 0,39%, результати вивчення правильності та збіжності не перевищують критеріїв прийнятності методики.

Методика була апробована на лікарській формі «Мезатон, розчин для ін'єкцій» українського виробника трьох серій.

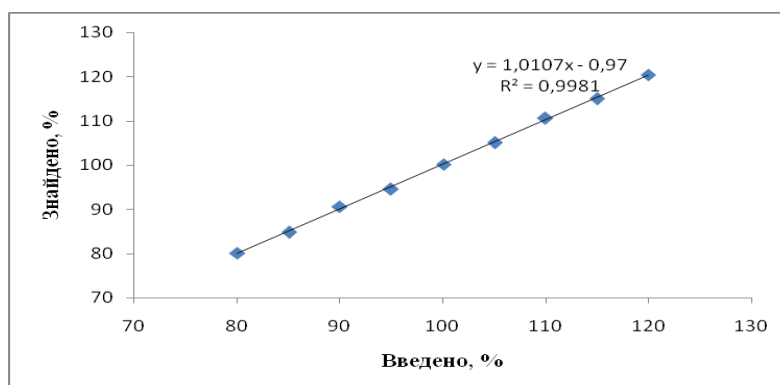


Рис. 1 Графік лінійної залежності оптичної густини від концентрації фенілефрину гідрохлориду в нормалізованих координатах

Таблиця 1

Метрологічні характеристики лінійної залежності

Величина	Значення	Критерії (для допусків 80-120%, число точок 9)	Висновок (відповідає, не відповідає)
b	1,01	-	-
S_b	0,01	-	-
a	-0,97	1) $\leq 1,8946 \cdot S_a = 1,94$; 2) якщо не виконується, то $\leq 2,6$;	відповідає
S_a	1,02	-	-
S_0	0,39	-	-
S_0/b	0,39	$\leq 0,84$	відповідає
S_Y	13,65		
r	0,9981	$\geq 0,9981$	відповідає

Запропоновану методику спектрофотометричного кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду в варіанті методу стандарту в розчині для ін'єкцій використали для оцінки якості діючої речовини в інших лікарських формах, таких як очні краплі екстемпорального (розчин фенілефрину гідрохлориду 1%, очні краплі) та промислового виготовлення (Мезатон, краплі очні 2,5%).

Валідаційні характеристики спектрофотометричної методики: робастність, правильність, прецизійність, збіжність, специфічність, лінійність, діапазон застосування вивчали на модельних сумішах, які відповідали складу очних крапель відповідно до вимог ДФУ (рис. 2 і 3, табл. 2).

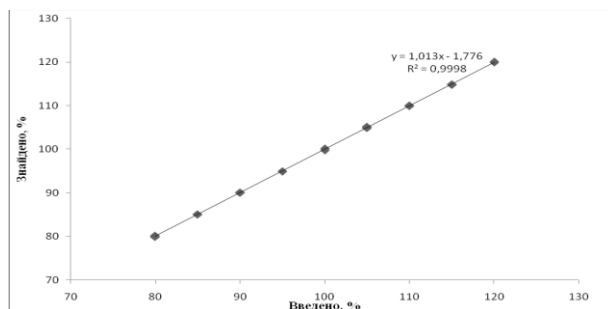


Рис. 2 Графік лінійної залежності у нормалізованих координатах для «Мезатон, краплі очні 2,5 мг»

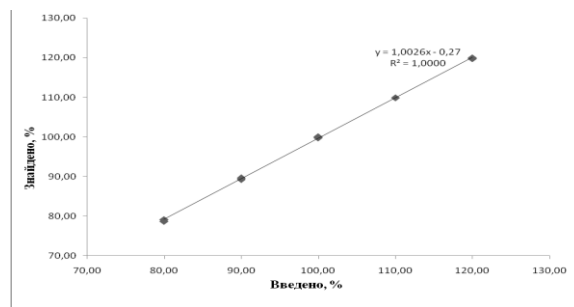


Рис. 3 Графік лінійної залежності у нормалізованих координатах для очних крапель аптечного виготовлення

Результати вивчення валідаційних характеристик кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду

Валідаційні характеристики	Величина	«Мезатон, краплі очні 2,5 мг»	Екстемпоральні очні краплі	Критерії прийнятності%
Лінійність	a	-1,78	-0,27	$\leq 2,6$
	S_o	0,269	0,06	$\leq 0,84$
	r	0,9998	1,0000	$\geq 0,9981$
Збіжність	ΔA_s	0,512	0,512	$\leq 1,6$
Правильність	δ	0,22	0,099	$\leq 0,51$

Результати дослідження збіжності, правильності та відтворюваності показали, що спектрофотометричне визначення фенілефрину гідрохлориду в аналітичній концентрації 50 мкг/мл у 0,1 М розчині кислоти хлористоводневої за довжині хвилі 273 нм дозволяє коректно здійснювати кількісне визначення діючої речовини в очних краплях ГЛЗ та ЕЛФ.

З урахуванням вищенаведеного, розроблену методику спектрофотометричного кількісного визначення ФГ застосовували для дослідження терміну придатності очних крапель аптечного виготовлення. На основі хімічних досліджень та показників біологічних випробувань «Стерильність» було встановлено, що лікарський засіб протягом 90 діб зберігання не втрачає своєї якості і повністю відповідає вимогам ДФУ, що може бути підставою для подовження терміну придатності екстемпоральних очних крапель.

Розділ 4. Розробка та валідація методик кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду в назальних краплях

Зазвичай назальні краплі з ФГ, на відміну від очних, містять інші активні інгредієнти і більшу кількість допоміжних речовин. Першим об'єктом дослідження стали назальні краплі «Назол Бебі», модельна суміш яких використовувалась при розробці і валідації методики методом прямої спектрофотометрії в 0,1 М розчині кислоти хлористоводневої за довжини хвилі 273 нм методом стандарту.

При вивченні специфічності встановлено, що вплив допоміжних речовин є незначущим, оскільки фонове поглинання складає 0,22 %, що не перевищує критеріїв для даного допуску вмісту.

При аналізі назальних крапель «Грипоцитрон РИНІС», в яких міститься окрім фенілефрину гідрохлориду ще одна діюча речовина – диметиндену малеат та допоміжні речовини – бензалконію хлорид, кислота лимонна, натрію гідрофосфат безводний, сорбіт, олія м'яти перцевої, для підвищення чутливості методики було запропоновано змінити умови визначення. Для цього були проаналізовані абсорбційні спектри поглинання АФІ у нейтральному, кислому та лужному середовищі. Встановлено, що у лужному середовищі спектр поглинання фенілефрину гідрохлориду характеризується

двома максимумами 239 нм і 296 нм, диметиндену малеату – максимумом при 263 нм, що відповідає мінімуму фенілефрину гідрохлориду (рис. 4).

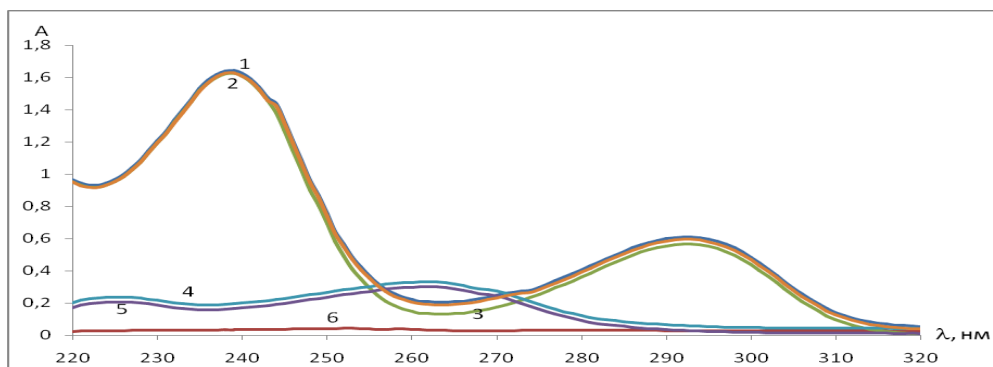


Рис. 4 УФ-спектри поглинання в 0,1 М розчині натрію гідроксиду: 1 – суміші фенілефрину гідрохлориду і диметиндену малеату 1:10; 2 – модельного розчину, який відповідає складу крапель «Грипоцитрон РИНІС»; 3 – 0,005% розчину СЗ фенілефрину гідрохлориду; 4 – плацебо; 5 – 0,0005% розчину диметиндену малеату; 6 – 0,008% розчину бензалконію хлориду

Експериментально доведено, що на максимум поглинання спектра впливає також бензалконію хлорид (рис. 4), який запропоновано осаджувати розчином калію дихромату (для повного осадження достатньо додати 0,25 мл 5% розчину). З огляду на попередні дослідження запропоновано методику кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду у назальних краплях «Грипоцитрон РИНІС» проводити методом спектрофотометрії в лужному середовищі за довжини хвилі 296 нм. Для підвищення специфічності методики вирішено під час пробопідготовки переводити диметиндену малеат в основу, зв'язувати допоміжну речовину бензалконію хлорид розчином калію дихромату та відокремлювати отриманий осад центрифугуванням реакційної суміші.

Визначено, що фонове поглинання за таких умов складає $\delta_{\text{noise}} 0,680\% \leq \max \delta 1,024\%$ й методика характеризується припустимою специфічністю. Прогноз максимально допустимої невизначеності результатів дорівнює $\Delta_{As} = 1,07 \leq \max \Delta_{As} = 3,2\%$. При перевірці стабільності аналітичних розчинів встановлено, що вони є стабільними впродовж 1 год ($\Delta t 0,39\% \leq \max \delta 1,024\%$). Відповідно до вимог ДФУ здійснено дослідження валідаційних характеристик у межах діапазону застосування методики 80,00-120,00% на модельних розчинах (рис. 5).

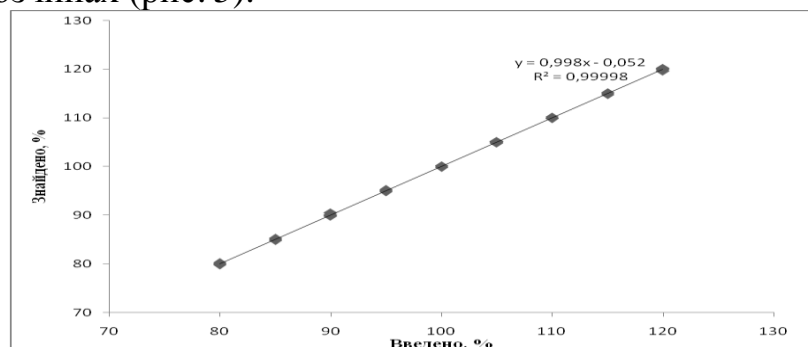


Рис. 5 Лінійна залежність оптичної густини від концентрації фенілефрину гідрохлориду в нормалізованих координатах

Розроблена методика дозволяє коректно здійснювати кількісне визначення фенілефрину гідрохлориду у назальних краплях «Грипоцитрон РІНІС», що було доведено вивченням таких валідаційних характеристик, як збіжність, правильність та відтворюваність (табл. 3).

Таблиця 3

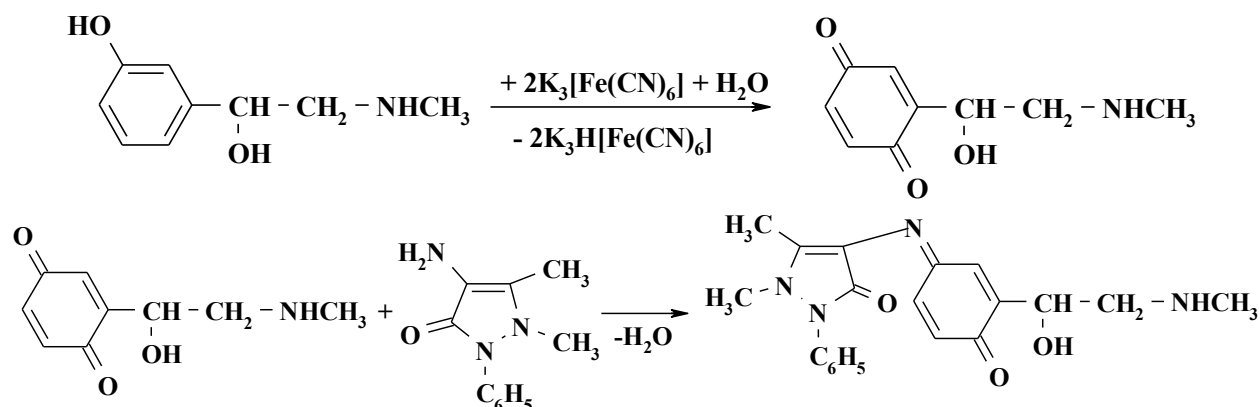
**Результати вивчення валідаційних параметрів
спектрофотометричної методики (правильність та прецизійність)**

Середнє $X\%$	99,79
Відносне стандартне відхилення, $S_x\%$	0,0963
Відносний довірчий інтервал $\Delta x\% = t(95\%, 8) \cdot S_x = 1,8595 \cdot S_x =$	0,1791
Критичне значення для збіжності результату $\Delta As\% = *$	3,2
Систематична похибка $\delta = X - 100 $	0,21
Критерій незначимості систематичної похибки	Витримується по другому критерію
1) $\delta \leq \Delta x / 3 = 0,1791 / 3 = 0,06$	
2) якщо не виконується 1), то $\delta \leq 1,024$	

У промисловому та аптечному виробництві завжди актуальним є застосування альтернативних методів кількісного визначення, що дозволяє урізноманітнювати умови та збільшувати специфічність аналізу АФІ, а також враховувати можливості аптечних закладів щодо фармацевтичного аналізу з огляду на наявність певного обладнання та реактивів. Було проаналізовано хімічні властивості ФГ, на основі чого розроблено фотометричну методику, яка ґрунтується на реакції взаємодії досліджуваної сполуки з 4-аміноантипірином і подальшому визначенню спектра поглинання забарвленого продукту за довжини хвилі 500 нм. Визначені оптимальні умови проведення реакції, які полягають у взаємодії з 0,1 % розчином 4-аміноантипірину в присутності калію феріціаніду у слаболужному середовищі. Відтворюваність методики була підтверджена на субстанції ФГ та модельній суміші, яка відповідає назальним краплям «Назол Бебі».

Вірогідний хімізм реакції наведено на схемі 1.

Схема 1



Установлено, що абсорбційний спектр поглинання отриманого забарвленого у червоний колір продукту реакції в області від 450 нм до

550 нм характеризується наявністю доволі пологого максимуму за довжини хвилі 500 нм (рис. 6).

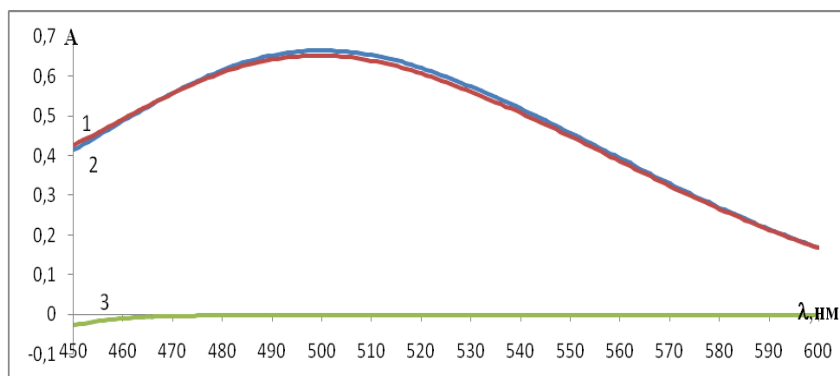


Рис. 6 Абсорбційні спектри поглинання продуктів реакції з 4-аміноантипірином: 1 – СЗ фенілефрину гідрохлориду, 2 – модельної суміші, що відповідає складу назальних крапель «Назол Бебі», 3 – розчину плацебо

Підпорядкування отриманих забарвлених розчинів закону Бугера-Ламберта-Бера спостерігається в межах концентрації діючої речовини від 0,0004 до 0,0048%. Валідаційні характеристики – специфічність, лінійність, правильність та прецизійність (табл. 4 і 5) підтверджують можливість використання запропонованої методики для кількісної оцінки фенілефрину гідрохлориду в назальних краплях «Назол Бебі».

Таблиця 4

Метрологічні характеристики лінійної залежності запропонованої методики

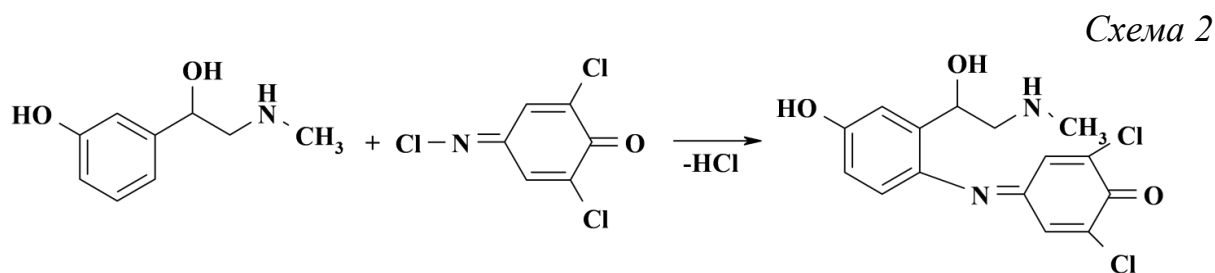
Величина	Значення	Критерії (для допусків 80-120%, число точок 9)	Висновок (відповідає, не відповідає)
b	0,9961	-	-
S_b	0,0018	-	-
a	0,3493	$\leq 5,1$	відповідає
S_a	0,1821		відповідає
S_Y	13,1559		відповідає
r	0,99996	$\geq 0,99810$	відповідає

Таблиця 5

Результати вивчення валідаційних параметрів спектрофотометричної методики (правильність та прецизійність)

Середнє $X\%$	99,98
Відносне стандартне відхилення, $S_x\%$	0,1511
Відносний довірчий інтервал $\Delta x\% = t(95\%, 8) \cdot S_x = 1,8595 \cdot S_x =$	0,2810
Критичне значення для збіжності результату $\Delta As\% =$	3,2
Систематична похибка $\delta = X - 100 $	0,02
Критерій незначимості систематичної похибки 1) $\delta \leq \Delta x / 3 = 0,2810 / 3 = 0,09$ 2) якщо не виконується 1), то $\delta \leq 1,024$	Витримується по першому критерію
Загальний висновок про методику	Коректна

В основу ще однієї альтернативної методики була покладена здатність ФГ вступати в реакцію з 2,6-дихлорхінонхлорімідом у слабколужному середовищі (схема 2).



Для дослідження впливу рН при вивченні робастності методики, реакцію проводили у розчині амоніаку, розчині натрію тетраборату, а також у суміші 0,5% розчин кислоти хлористоводневої : 2-пропанол : амоніачний буфер з рН 10,0 (7:5:2). Найбільш стійкий продукт реакції утворювався у випадку застосування суміші розчинників.

Абсорбційний спектр поглинання отриманого забарвленого у зеленувато-синій колір розчину характеризується максимумом поглинання при 615 нм (рис. 7).

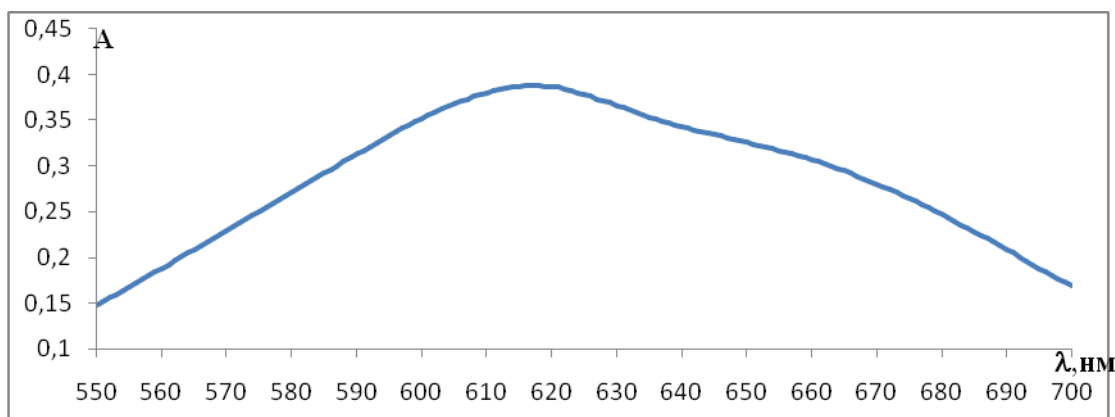


Рис. 7 Абсорбційний спектр поглинання продукту реакції фенілефрину гідрохлориду з 2,6-дихлорхінон-4-хлорімідом

Підпорядкування забарвлених продуктів реакції фенілефрину гідрохлориду з 2,6-дихлорхінон-4-хлорімідом закону Бугера-Ламберта-Бера спостерігається в межах концентрації діючої речовини від 0,0002 до 0,0020%.

Установлено, що отримані розчини є стабільними протягом 60 хв (Δt 0,75% \leq max δ 1,024%). Досліджувані валідаційні характеристики дозволяють рекомендувати метод для рутинного аналізу – методика лінійна у діапазоні концентрацій від 80% до 120% ($a=0,27\% \leq 5,12$; $r=0,99996 \geq 0,99810$), коректна і правильна ($\delta=0,12\% \leq 1,024$, $\Delta_{As} = 1,73 \leq \max \Delta_{As} = 3,2\%$).

Розділ 5. Розробка та валідація методик кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду в твердих дозованих лікарських формах

ФГ традиційно є одним з АФІ великої кількості комбінованих лікарських засобів у формі таблеток або порошків для лікування застуди. Як об'єкт дослідження обрано таблетки «Антифлу», які містять парацетамолу 325 мг, фенілефрину гідрохлориду 5 мг, хлорфеніраміну малеату 2 мг та допоміжні речовини, а саме: целюлозу мікроскопічну, натрію кроскармелозу, кремнію діоксид колоїдний безводний, кислоту стеаринову, магнію силікат, магнію стеарат, гіпромелозу, поліетиленгліколь, олію мінеральну, барвник D&C жовтий №10 лаковий (E 104).

Досліджено можливість використання для кількісної оцінки діючої речовини ФГ в твердих лікарських формах розробленим раніше фотометричним методом, який базується на реакції з 2,6-дихлорхінон-4-хлорімідом, яка характеризується високою специфічністю. Для розробки методики кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду методом фотометрії, було досліджено абсорбційні спектри поглинання після проведення реакції з 2,6-дихлорхінонхлорімідом розчинів фенілефрину гідрохлориду, парацетамолу, хлорфеніраміну малеату та модельного розчину, який відповідав складу таблеток «Антифлу» в діапазоні довжин хвиль від 550 нм до 650 нм (рис. 8). Максимум поглинання реакційної суміші з фенілефрину гідрохлоридом (крива 1) спостерігається при довжині хвилі 615 нм. Спектр поглинання модельної суміші, що відповідає складу таблеток «Антифлу» (крива 2), після проведення реакції з 2,6-дихлорхінон-4-хлорімідом практично співпадає зі спектром поглинання розчину порівняння. Оптична густина плацебо (крива 5) становить близько 3%, і незначно впливає на результати кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду при допусках вмісту $\pm 10\%$ (рис. 8).

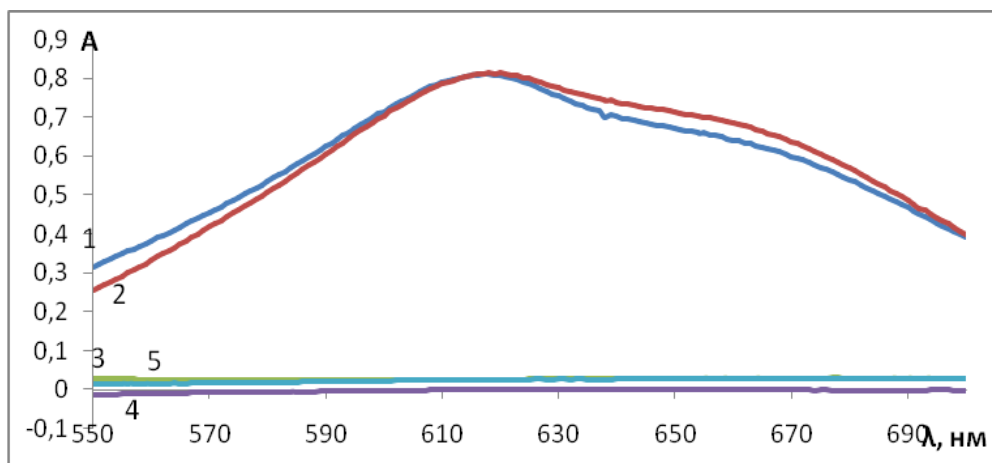


Рис. 8 Абсорбційні спектри поглинання після проведення реакції з розчином 2,6-дихлорхінон-4-хлорімідом: 1 – модельної суміші таблеток «Антифлу», 2 – СЗ фенілефрину гідрохлориду, 3 – парацетамолу, 4 – хлорфеніраміну малеату, 5 – плацебо

Результати оцінки валідаційних характеристик дозволяють зробити висновок, що методика характеризується прийнятною специфічністю, робасністю, лінійністю та правильністю (табл. 6).

Таблиця 6

Правильність та збіжність результатів при визначенні фенілефрину гідрохлориду в таблетках «Антифлу»

Середнє X%	100,06
Відносне стандартне відхилення, S _x %	0,0872
Відносний довірчий інтервал $\Delta x\% = t(95\%, 8) \cdot S_x = 1,8595 \cdot S_x =$	0,1622
Критичне значення для збіжності результату $\Delta As\% =$	3,2
Систематична похибка $\delta = X - 100 $	0,06
Критерій незначимості систематичної похибки 1) $\delta \leq \Delta x / 3 = 0,1622 / 3 = 0,05$ 2) якщо не виконується 1), то $\delta \leq 1,024$	Витримується по другому критерію
Загальний висновок про методику	Коректна

Наступним об'єктом дослідження обрано порошки аптечного виготовлення, до складу яких входять фенілефрину гідрохлорид, рутин, кислота аскорбінова, парацетамол і глюкоза, для яких розроблено методики контролю якості АФІ. Наявність в ЕЛФ інших діючих компонентів перешкоджає визначенню кількісного вмісту фенілефрину гідрохлориду методом абсорбційної спектрофотометрії як в ультрафіолетовій, так і в видимій області. Кількісно визначити ФГ вдалось методом аргентометрії в оцтовокислому середовищі з індикатором бромфеноловим синім.

Рутин у складі порошоків кількісно визначали описаним в літературі фотометричним методом, що базується на реакції з лугом. Розрахунок вмісту рутину проводили методом стандарту. Для підвищення специфічності реакції до розчину стандартного зразку вносили ту ж саму кількість кислоти аскорбінової, що й зазначена у прописі.

Для кількісної оцінки кислоти аскорбінової використовували редокс-метод, а саме титрування розчином йоду з фіксацією кінцевої точки титрування індикаторним способом (розчин крохмалю).

Кількісне визначення парацетамолу проводили методом УФ-спектрофотометрії у 0,1 М розчині кислоти хлористоводневої за довжини хвилі 244 нм. Встановлено, що за цих умов з усіх АФІ ЕЛФ лише кислота аскорбінова суттєво впливає на характер спектра поглинання. Для усунення її впливу доцільно до розчину стандартного зразка (СЗ) парацетамолу додавати ту ж саму кількість кислоти аскорбінової, що й зазначена у прописі.

Вивчено валідаційні характеристики усіх запропонованих методик, доведено, що вони відповідають вимогам ДФУ і можуть бути використанні в аналізі екстемпоральних порошоків (табл. 7 та 8).

Розроблені методики контролю якості АФІ у досліджуваній лікарській формі аптечного виготовлення паралельно з визначенням мікробіологічної чистоти використовували під час дослідження терміну придатності ЕЛФ. Отримані результати свідчать, що досліджувана лікарська форма стабільна

протягом 90 діб, що є підставою для подовження терміну застосування даного лікарського засобу.

Таблиця 7

Результати вивчення валідаційних характеристик кількісного визначення діючих речовин в порошках аптечного виготовлення

Валідаційні характеристики	Величина	Аргентометрія ФГ	Фотоколориметрія рутину	Критерії прийнятності%
Лінійність	a	0,1394	1,1587	$\leq 7,7$
	S_o	0,3582	0,2029	$\leq 2,5$
	r	0,9997	0,9999	$\geq 0,9827$
Збіжність	ΔA_s	0,62	0,81	$\leq 4,8$
Правильність	δ	0,205	0,189	$\leq 1,54$

Таблиця 8

Результати вивчення валідаційних характеристик кількісного визначення діючих речовин в порошках аптечного виготовлення

Валідаційні характеристики	Величина	Йодометрія кислоти аскорбінової	Спектрофотометрія парацетамолу	Критерії прийнятності%
Лінійність	a	2,1586	-0,0125	$\leq 5,1$
	S_o	0,5058	0,2771	$\leq 1,69$
	r	0,9994	0,9998	$\geq 0,9924$
Збіжність	ΔA_s	0,809	2,3876	$\leq 3,2$
Правильність	δ	0,269	0,79	$\leq 1,02$

ВИСНОВКИ

У роботі наведено експериментальне вирішення наукової задачі, що виявляється у розробці, оптимізації та валідації методик кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду у складі ГЛЗ та ЕЛФ відповідно до вимог ДФУ.

1. На основі аналізу структури ринку лікарських засобів з фенілефрину гідрохлоридом визначено, що промисловістю, зокрема, випускаються розчини для парентерального застосування, очні краплі, назальні форми, таблетки, аптеками виготовляються порошки, очні та назальні краплі.
2. Проведено верифікацію тестів «Ідентифікація» та «Випробування на чистоту» за методикою Британської фармакопеї. Розроблено та валідовано спектрофотометричну методику кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду в розчині для парентерального застосування. За результатами проведеної роботи розроблена монографія ДФУ «Фенілефрину гідрохлорид, розчин для ін'єкцій» (ДФУ 2.0).

3. Розроблено та валідовано методику спектрофотометричного в УФ-області кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду в лікарських формах «Мезатон, краплі очні 25 мг/мл», екстемпоральних очних краплях з концентрацією діючої речовини 1% та назальних краплях «Назол Бебі», яка полягає у проведенні випробування при концентрації діючої речовини 50 мкг/мл у середовищі 0,1 М розчину кислоти хлористоводневої за довжини хвилі 273 нм. За результатами досліджень розроблено проект монографії ДФУ «Мезатон, очні краплі, виготовлені в аптеці», який подано до подальшого включення до Державної Фармакопеї України.
4. Розроблено методику кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду в назальних краплях «Грипоцитрон РИНІС» методом абсорбційної спектрофотометрії в УФ-області в присутності диметиндену малеату та допоміжних речовин. Для підвищення специфічності визначення, запропоновано випробування проводити у лужному середовищі в присутності розчину калію дихромату. Результати дослідження підтверджено патентом на корисну модель та оформлено у вигляді інформаційного листа.
5. Розроблено методику кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду у назальних краплях «Назол Бебі» методом фотоколориметрії, яка ґрунтується на реакції з 4-аміноантипірином в присутності калію феріціаніду. Отримані валідаційні характеристики методики дозволяють зробити висновок, що метод відповідає всім вимогам ДФУ (лінійність, прецизійність, правильність, точність, відтворюваність) і може бути використаний для аналізу фенілефрину гідрохлориду у назальних краплях.
6. Уперше реагент 2,6-дихлорхінон-4-хлорімід використано для фотометричного кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду у присутності інших АФІ та допоміжних речовин у ГЛЗ. Методика апробована на модельних сумішах, які відповідають складу назальних крапель «Назол Бебі» та таблеток «Антифлу». Отримані результати свідчать про можливість застосування методики для рутинного аналізу цих лікарських форм.
7. Уперше розроблено методики контролю якості фенілефрину гідрохлориду та інших активних фармацевтичних інгредієнтів – кислоти аскорбінової, рутину та парацетамолу у складі порошків аптечного виготовлення. Проаналізовані валідаційні характеристики показали прийнятність запропонованих методик для цілей фармацевтичного аналізу даної лікарської форми.
8. На основі хімічних досліджень та показників біологічних випробувань для очних крапель «Стерильність», для порошків – «Мікробіологічна чистота» було встановлено, що досліджувані ЕЛФ протягом 90 діб зберігання повністю відповідають вимогам ДФУ, що може бути використано в аптечній практиці для подовження терміну придатності.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Бевз, Н. Ю. Валідація методики кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду в назальних краплях / Н. Ю. Бевз, О. В. Криванич, В. А. Георгіянц // Фармацевтичний часопис. – 2013. – № 2. – С. 57–67. *(Особистий внесок – здійснення експериментальних досліджень, статистичний аналіз результатів, узагальнення результатів)*.
2. Бевз, Н. Ю. Валідація методики кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду в очних краплях / Н. Ю. Бевз, О. В. Криванич, П. О. Безуглий // Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П.Л. Шупика. – 2013. – Вип. 22 (4). – С. 347–354. *(Особистий внесок – здійснення експериментальних досліджень, участь в обговоренні результатів, статистична обробка результатів)*.
3. Kryvanych, A. V. Verification of the Quantitative Determination Method for Phenylephrine Hydrochloride in Solution for Injections / A. V. Kryvanych, N. Y. Bevz, V. A. Georgiyants // Acta Chim. Pharm. Indica. – 2014. – № 4 (1). – P. 1–6. *(Особистий внесок – здійснення експериментальних досліджень, статистичний аналіз результатів, написання статті)*.
4. Бевз, Н. Ю. Разработка методики количественного определения фенилэфрина гидрохлорида в таблетках / Н. Ю. Бевз, А. В. Криванич, В. А. Георгіянц // Вестник ЮКГФА. – 2014. – № 3 (68). – С. 11–13. *(Особистий внесок – виготовлення модельних зразків, проведення експериментальних досліджень, участь у написанні статті)*.
5. Kryvanych, A. V. Development of the method for quantitative determination of phenylephrine hydrochloride in the combined drops / A. V. Kryvanych, N. Y. Bevz, V. A. Georgiyants // News of pharmacy. – 2014. – № 4 (80). – С. 17–21. *(Особистий внесок – здійснення експериментальних досліджень, узагальнення отриманих результатів, участь у написанні статті)*.
6. The use of 2,6-dichloroquinone-4-chlorimide for quantitative determination of phenylephrine hydrochloride in combined tablets with paracetamol and chlorpheniramine maleate / O. Kryvanych, N. Bevz, N. Harna, O. Bevz // Ceska and slovenska farmacie journal. – 2015. – № 64. – P. 202–227. *(Особистий внесок – здійснення експериментальних досліджень, статистична обробка результатів, участь у написанні статті)*.
7. Пат. на корисну модель 95908 U Україна, МПК G 01 J 3/42. Спосіб кількісного спектрофотометричного визначення фенілефрину гідрохлориду або тимолову малеату у присутності бензалконію хлориду / Криванич О. В., Віслоус О. О., Бевз Н. Ю., Георгіянц В. А.; заявник і патентовласник Національний фармацевтичний університет. – № u 201408264; заявл. 21.07.2014; опубл. 12.01.2015, Бюл. № 1. *(Особистий внесок – виготовлення експериментальних зразків, проведення експериментальних досліджень, проведення аналізу результатів)*.

8. Визначення кількісного вмісту фенілефрину гідрохлориду в комбінованих назальних краплях методом абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій та видимій області : інформ. лист про нововведення в сфері охорони здоров'я № 420–2014/ О. В. Криванич, Н. Ю. Бевз, В. А. Георгіянц. – К., 2014. – Вип. 47. – 8 с. з проблеми “Фармація”.

9. Криванич, О. В. Розробка та валідація методик кількісного визначення діючих інгредієнтів у лікарських засобах з фенілефрину гідрохлоридом / О. В. Криванич, Н. Ю. Бевз // Сучасні досягнення фармацевтичної технології: матеріали III наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 21-23 листоп. 2012р. – Х. : Вид-во НФаУ, 2012. – С. 89–90.

10. Верифікація методик кількісного визначення готових лікарських засобів / В. А. Георгіянц, Н. Ю. Бевз, С. О. Аніщенко, О. О. Віслоус, І. Л. Комарицький, Ю. А. Комарова, О. В. Криванич // Управління якістю в фармації: матеріали VII наук.-практ. конф., м. Харків, 17 трав. 2013 р. / М-во охорони здоров'я України; Нац. фармац. ун-т. – Х. : НФаУ, 2013. – С. 27.

11. Верифікація методик як необхідний етап для введення монографій на ГЛЗ до ДФУ / В. А. Георгіянц, Н. Ю. Бевз, О. В. Криванич, О. О. Віслоус, С. О. Аніщенко, І. Л. Комарицький, М. В. Росада, В. О. Вракін, К. О. Умінська, Ю. А. Комарова // Косметологія: сьогодення та майбутнє: матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 15 листоп. 2013 р. / М-во охорони здоров'я України; Нац. фармац. ун-т. – Х., 2013. – С. 91–92.

12. Бевз, Н. Ю. Використання реакції з 4-аміноантипірином для кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду в комбінованих лікарських формах / Н. Ю. Бевз, О. В. Криванич, В. А. Георгіянц // Сучасні досягнення фармацевтичної технології: матеріали IV наук.-практ. конф. з між нар. участю, м. Харків, 16-17 жовт. 2014р. – Х., 2014. – С. 40–41.

13. The use of 2,6-dichloroquinone-4-chlorimide for quantitative determination of phenylephrine hydrochloride in combined tablets with paracetamol and chlorpheniramine maleate / О. Kryvanych, N. Bevez, N. Harna, O. Bevez // 44th Conference drug synthesis and analysis 2015 (2nd – 4th September 2015) – Brno, 2015. – P. 79.

14. Development of method quantitative determination for phenylephrine hydrochloride in nasal drops / О. V. Kryvanych, M. S. Yaremenko, N. Y. Bevez, V. V. Grinenko // Topical issues of new drugs development : abstracts of international scientific and practical conference of young scientists and student, April 23, 2015. – Kh. : Publishing Office NUPh, 2015. –P. 132.

Криванич О. В. Розробка та валідація методик кількісного визначення фенілефрину гідрохлориду в лікарських засобах. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія. – Національний фармацевтичний університет МОЗ України, Харків, 2016.

Проведено розробку та валідацію аналітичних методик контролю якості фенілефрину гідрохлориду у складі 4 ГЛЗ та 2 ЕЛФ відповідно до вимог ДФУ. Вперше розроблено та проведено валідацію спектрофотометричної методики кількісного визначення ФГ в розчині для ін'єкцій, очних та назальних краплях промислового і аптечного виготовлення методом стандарту в 0,1 М розчині кислоти хлористоводневої за довжини хвилі 273 нм.

Уперше розроблено специфічну методику кількісного визначення ФГ у назальних краплях «Грипоцитрон РИНС» методом УФ-спектрофотометрії у лужному середовищі; оптимізовано та валідовано методику фотометричного кількісного визначення ФГ в назальних краплях «Назол Бебі», яка ґрунтується на вимірюванні оптичної густини продукту реакції діючої речовини з 4-аміноантипірином; розроблено методику кількісного спектрофотометричного визначення ФГ в назальних краплях «Назол Бебі» і таблетках «Антифлу» після реакції з 2,6-дихлорхінон-4-хлорідом.

Розроблено монографію «Фенілефрину гідрохлорид, розчин для ін'єкцій», яка увійшла до другого видання ДФУ та проект монографії «Мезатон, очні краплі, виготовлені в аптеці», який подано до Фармакопейного центру до розглядання.

Ключові слова: фенілефрину гідрохлорид, спектрофотометрія, титриметричні методи, валідація, контроль якості, лікарські засоби, термін придатності.

Криванич А. В. Разработка и валидация методик количественного определения фенилэфрина гидрохлорида в лекарственных средствах. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия. – Национальный фармацевтический университет МЗ Украины, Харьков, 2016.

Диссертационная работа посвящена усовершенствованию контроля качества лекарственных средств заводского и аптечного производства, содержащих фенилэфрина гидрохлорид с помощью оптимизации, верификации и валидации аналитических методик, которые экспериментально доказывают их пригодность для решения поставленной задачи.

Теоретически обоснован выбор методик для контроля качества фенилэфрина гидрохлорида и других активных фармацевтических ингредиентов экстемпоральных лекарственных форм. С целью уменьшения систематической погрешности, для разработанных и оптимизированных методик была осуществлена соответствующая пробоподготовка. В процессе выполнения диссертационной работы впервые проведена верификация тестов «идентификация» и «испытания на чистоту» и валидация методики количественного определения фенилэфрина гидрохлорида в растворе для

инъекций в соответствии с требованиями ГФУ. В процессе верификации и валидации методик была сформирована фармакопейная статья, которая вошла во второе издание ГФУ (ГФУ 2.0).

Валидированную спектрофотометрическую методику количественного определения фенилэфрина гидрохлорида в растворе для инъекций использовали для оценки качества действующего вещества в других лекарственных формах, таких как глазные капли аптечного (раствор фенилэфрина гидрохлорида 1%, глазные капли) и заводского изготовления «Мезатон, капли глазные 2,5%» и назальной лекарственной форме «Назол Беби». Валидационные характеристики методики не превышают критического значения погрешности (1,6%) и характеризуются правильными и корректными аналитическими показателями. По результатам исследований разработан проект монографии ГФУ «Мезатон, глазные капли, изготовленные в аптеке», который подан для дальнейшего включения в Государственную Фармакопею Украины.

Впервые разработана специфическая методика количественного определения фенилэфрина гидрохлорида в назальных каплях «Гриппоцитрон РИНИС» в присутствии других АФИ методом УФ-спектрофотометрии в концентрации $5,0 \times 10^{-5}$ г/мл в 0,1 М растворе натрия гидроксида при длине волны 296 нм. Научная новизна исследований подтверждена патентом Украины на полезную модель № 95908.

Результаты изучения валидационных характеристик фотометрического метода, основанного на образовании окрашенного продукта с реагентом 4-аминоантипирином, позволили предложить оптимизированную методику количественного определения фенилэфрина гидрохлорида в назальных каплях «Назол Беби». Определение проводили методом стандарта при аналитической длине волны 500 нм, в концентрации $1,0 \times 10^{-5}$ г/мл с добавлением в качестве реагента 2,0 мл 0,1 % раствора 4-аминоантипирина в присутствии 0,1 мл раствора калия феррицианида в слабощелочной среде.

Впервые в качестве реагента для количественного спектрофотометрического определения фенилэфрина гидрохлорида в многокомпонентных лекарственных формах заводского изготовления использован 2,6-дихлорхинон-4-хлоримид. Методика фотометрического количественного определения валидирована на модельных смесях, соответствующим составу назальных капель «Назол Беби» и таблеткам «Антифлу» методом стандарта по продукту реакции с 2,6-дихлорхинон-4-хлоримидом в смеси растворителей 0,5% раствор кислоты хлористоводородной – 2-пропанол – аммиачный буферный раствор с рН 10,0 (7:5:2) при длине волны 615 нм.

Впервые разработаны методики контроля качества фенилэфрина гидрохлорида, рутина, кислоты аскорбиновой и парацетамола в составе порошков аптечного изготовления, которые вошли в проект монографии ГФУ и использованы для установления сроков годности экстенпоральной

лекарственной формы. Для количественной оценки фенилэфрина гидрохлорида в составе сложных порошков предложено использовать метод аргентометрии, аскорбиновой кислоты – метод йодометрии, рутина – фотоколориметрии, основанный на реакции вещества с натрия гидроксида, и парацетамола – метод прямой спектрофотометрии в 0,1 М растворе кислоты хлористоводородной.

По результатам исследований оформлен 1 патент на полезную модель, монография на готовую лекарственную форму «Фенилэфрина гидрохлорид, раствор для инъекций», проект монографии «Мезатон, глазные капли, изготовленные в аптеке» и 1 информационное письмо о нововведении в системе здравоохранения для обеспечения контроля качества готовых лекарственных средств. Полученные результаты внедрены в работу лабораторий по контролю качества лекарственных средств территориальных органов Гослекслужбы Украины, в научно-педагогический процесс высших медицинских (фармацевтических) учебных учреждений МОЗ Украины.

Ключевые слова: фенилэфрина гидрохлорид, спектрофотометрия, титриметрические методы, валидация, контроль качества, лекарственные средства, срок годности.

Kryvanych O. V. Development and validation of methods for quantitative determination of phenylephrine hydrochloride in medicines. – Manuscript.

The thesis for Candidate Degree in Pharmacy, Speciality 15.00.02 – Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy. – National University of Pharmacy, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2016.

Development and validation of analytical methods for quality control of phenylephrine hydrochloride in 4 finished medicinal products and 2 extemporaneous medicines have been performed in accordance with the SPhU. For the first time the spectrophotometric method for quantitative determination of phenylephrine hydrochloride in the solution for injection, eye and nasal drops of industrial and pharmacy production has been developed and validated using the standard method in 0.1 M solution of hydrochloric acid at the wavelength of 273 nm.

For the first time a specific method for quantitative determination of phenylephrine hydrochloride in “Grippocitronum Rinos” nasal drops has been developed by UV spectrophotometry in the alkaline medium. The spectrophotometric method for quantitative determination of phenylephrine hydrochloride in “Nazol Baby” nasal drops has been optimized and validated; it is based on measuring the optical density of the reaction product of the active substance with 4-aminoantipyrine. The method of quantitative photometric determination of phenylephrine hydrochloride “Nazol Baby” nasal drops and “Antiflu” tablets after the reaction with 2,6-dichloroquinone-4-chloroimide has been developed.

The monograph "Phenylephrine hydrochloride solution for injections" included into the SPhU, the second edition, and the project for the monograph

"Mesaton eye drops prepared in pharmacy conditions" submitted to the Pharmacopoeial Centre have been developed.

Keywords: phenylephrine hydrochloride, spectrophotometry, titrimetric methods, validation, quality control, medicines, expiration date.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ВР –	Британська фармакопея
АФІ –	Активний фармацевтичний інгредієнт
ГЛЗ –	Готовий лікарський засіб
ДФУ –	Державна фармакопея України
ЕЛЗ –	Екстемпоральний лікарський засіб
ЕЛФ –	Екстемпоральна лікарська форма
ЛЗ –	Лікарський засіб
МКЯ –	Методики контролю якості
НФаУ –	Національний фармацевтичний університет
СЗ –	Стандартний зразок
СФ –	Абсорбційна спектрофотометрія
ТШХ –	Тонкошарова хроматографія
УФ-спектр –	Ультрафіолетовий спектр
ФГ –	Фенілефрину гідрохлорид
ФСЗ –	Фармакопейний стандартний зразок