

I. V. NIJENKOVSKA (<https://orcid.org/0000-0001-5065-3147>), д-р мед. наук, проф.,
O. V. BURMAKA (<https://orcid.org/0000-0001-6985-079X>), канд. фарм. наук,
O. V. MANCHENKO (<https://orcid.org/0000-0002-5461-6586>),
K. E. ZISKIND (<https://orcid.org/0000-0002-1668-0894>)

Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ

ВИЗНАЧЕННЯ АМБРОКСОЛУ ГІДРОХЛОРИДУ В СУБСТАНЦІЇ ТА ГОТОВИХ ЛІКАРСЬКИХ ФОРМАХ МЕТОДАМИ АБСОРБЦІЙНОЇ СПЕКТРОФОТОМЕТРІЇ В УЛЬТРАФІОЛЕТОВІЙ ОБЛАСТІ, ТОНКОШАРОВОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ ТА ВИСОКОЕФЕКТИВНОЇ РІДИННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ

Ключові слова: амброксолу гідрохлорид, абсорбційна спектрофотометрія, ТШХ, ВЕРХ, готові лікарські форми

I. V. NIGENCOVSKA (<https://orcid.org/0000-0001-5065-3147>),

O. V. BURMAKA (<https://orcid.org/0000-0001-6985-079X>),

O. V. MANCHENKO (<https://orcid.org/0000-0002-5461-6586>),

K. E. ZISKIND (<https://orcid.org/0000-0002-1668-0894>)

Bogomolets National Medical University, Kyiv

DETERMINATION AMBROXOLE HYDROCHLORIDE IN SUBSTANCE AMBROXOLE HYDROCHLORIDE AND FINISH MEDICAL PRODUCTS BY METHODS ADSORPTION SPECTROSCOPY IN ULTRAVIOLET AREA, THIN LAYER CHROMATOGRAPHY AND HEIGHT PERFORMERS LIQUID CHROMATOGRAPHY

Key words: ambroxole hydrochloride, adsorption spectroscopy, thin layer chromatography, height performers liquid chromatography, finish medical products

Захворювання дихальних шляхів наражають на небезпеку велику кількість людей по всьому світу, наприклад в Європейському союзі 7% випадків госпіталізації пов'язано з респіраторними захворюваннями, які є причиною близько 12% смертей від усіх причин.

Інфекції верхніх та нижніх дихальних шляхів є розповсюдженим станом, при якому регулярно звертаються за медичною допомогою, і їх лікування залежить від використання рецептурних та безрецептурних лікарських засобів [1].

Муколітичні лікарські засоби з амброксолом гідрохлоридом відзначаються ефективною відхаркувальною дією, є препаратами першого вибору у разі сухості слизової оболонки бронхів, в'язкому та густому секреті бронхіальних залоз із метою зменшення кашлю та представлені широким різноманіттям лікарських форм. Отже, визначення якісного та кількісного вмісту основної діючої речовини муколітичного лікарського засобу є необхідним для підтвердження його якості [2]. У ДФУ/ЄФ зазначено монографію на «Амброксолу гідрохлорид, субстанція», що містить методику виконання якісного визначення (ідентифікації) амброксолу гідрохлориду методом абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій області та тонкошарової хроматографії, що сформувались на основі наукових досягнень фармацевтичної хімії, фармацевтичного аналізу, його критеріїв, способів та методів. Також у ДФУ наявна монографія на «Амброксолу таблетки», що містить методики проведення якісного і кількісного визначення амброксолу гідрохлориду методом абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій області, якісного визначення методом тонкошарової хроматографії та домішок методом високоефективної рідинної хроматографії [3, 4]. Підвищення рівня вимог до якості лікарських засобів, вирішення труднощів із визначення діючої речовини потребують урізноманітнення та удосконалення методик аналізу лікарського засобу. Таким чином, перевірка

придатності наявних фармакопейних методик для окремих лікарських форм є актуальною щодо можливості їх використання для різних лікарських форм із тією самою діючою речовиною [5–8].

Мета роботи – перевірити придатність наявних методик, які зазначено в монографіях ДФУ для «Амброксолу гідрохлорид, субстанція» та «Амброксолу таблетки», для якісного та кількісного визначення амброксолу гідрохлориду в інших готових лікарських засобах, до складу яких входить амброксолу гідрохлорид, та визначити можливість використання альтернативного розчинника у окремих методиках.

Матеріали та методи дослідження

Для експериментального визначення було виконано ідентифікацію та кількісне визначення амброксолу гідрохлориду у різних лікарських формах методами абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій області та високоефективної рідинної хроматографії, а також ідентифікацію методом тонкошарової хроматографії.

Для проведення дослідження було обрано субстанцію амброксолу гідрохлориду та чотири готові лікарські форми з діючою речовиною амброксолу гідрохлоридом: розчин для ін'єкцій 7,5 мг/мл в ампулах, таблетки по 30 мг, сироп 15 мг/5 мл та комбінований лікарський засіб, що містить амброксолу гідрохлориду 30 мг та ацетилцистеїну 200 мг у формі порошку для оральної суспензії в саше.

1) Ідентифікацію амброксолу гідрохлориду в субстанції здійснювали методом абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій області (ДФУ/ЄФ 2.2.25). Згідно з вимогами монографії «Амброксолу гідрохлорид, субстанція» мають спостерігатися адсорбційні максимуми за довжин хвиль 245 нм і 310 нм, а також відношення оптичних густин A_{245}/A_{310} має становити від 3,2 до 3,4. Як розчинник використовують 0,05 М розчин сірчаної кислоти (H_2SO_4).

Нами було запропоновано перевірити можливість використання для ідентифікації амброксолу гідрохлориду в субстанції як альтернативного розчинника 0,1 М розчин кислоти хлористоводневої (HCl). А також перевірити можливість використання методики, вказаної в монографії «Амброксолу гідрохлорид, субстанція», та альтернативного розчинника для ідентифікації амброксолу гідрохлориду в вищенаведених готових лікарських формах.

Досліджувані розчини готували з концентрацією амброксолу гідрохлориду – 0,04 мг/мл. Записували спектр в області від 200 до 350 нм та вимірювали оптичну густину досліджуваних розчинів в максимумах за довжин хвиль 245 нм та 310 нм в кюветі з шаром завтовшки 10 мм, використовуючи як компенсаційний розчин відповідний розчинник (0,05 М розчин сірчаної кислоти або 0,1 М розчин хлористоводневої кислоти).

2) Визначення кількісного вмісту амброксолу гідрохлориду в таблетках та інших лікарських формах (розчин для ін'єкцій, сироп, порошок для орального розчину) здійснювали методом абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій області відповідно до вимог діючого видання ДФУ/ЄФ, 2.2.25 згідно з методикою, яка зазначена в монографії ДФУ «Амброксолу таблетки». Готували випробовувані та стандартні розчини з концентрацією амброксолу гідрохлориду – 0,06 мг/мл. Як розчинник та компенсаційний розчин використовували 0,1 М розчин кислоти хлористоводневої. Дослідження виконували з двома стандартними та двома випробовуваними зразками для кожної лікарської форми. Вимірювали оптичну густину випробовуваних та стандартних розчинів на спектрофотометрі за довжини хвилі 307 нм у кюветі з шаром завтовшки 10 мм відносно компенсаційного розчину.

Розраховували вміст амброксолу гідрохлориду в таблетках та інших лікарських формах, виходячи із оптичної густини випробовуваних та стандартних розчинів, мас наважок/об'єму проб, розведень розчинів, чистоти стандартного зразка, середньої маси таблетки тощо.

3) Окрім методики ідентифікації методом абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій області в монографії ДФУ «Амброксолу гідрохлорид, субстанція» також наявна методика ідентифікації методом тонкошарової хроматографії. Тому нами було перевірено можливість її використання для ідентифікації амброксолу гідрохлориду в готових лікарських формах.

Для постановки методу керувались загальними принципами та рекомендаціями, наведеними в ДФУ/ЄФ, 2.2.27. Оскільки концентрація амброксолу гідрохлориду у готових лікарських формах є набагато нижчою за рекомендовану у вищезазначеній монографії, концентрацію амброксолу гідрохлориду для випробовуваних розчинів підбирали експериментально, для одержання плям, які чітко виявляються на хроматограмі. Відповідно коригували об'єм проб для нанесення на пластинку. Для випробування використовували розчини в метанолі, концентрація амброксолу гідрохлориду у яких становила 2 мг/мл для кожної лікарської форми.

Хроматографування виконували методом вертикального елюювання у насиченій атмосфері [1, 5] у таких умовах: хроматографічна пластинка – TLC Silicagel 60 F₂₅₄; рухома фаза – розчин аміаку концентрований Р–пропанол Р–етилацетат Р–гексан Р (1:10:20:70 (об/об/об/об)); об'єм проб для нанесення – 25 мкл; відстань фронту рухомої фази – 2/3 довжини пластинки; виявлення – в УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм. Плями, одержані на хроматограмі для усіх випробовуваних розчинів, порівнювали візуально з відповідною плямою, одержаною на хроматограмі розчину порівняння, порівнюючи забарвлення, розмір і коефіцієнт утримування (R_f) усіх плям.

4) Оскільки наявна монографія ДФУ «Амброксолу таблетки» містить показник «Домішки», випробування за яким здійснюють із використанням методу високоефективної рідинної хроматографії, нами було досліджено можливість використання зазначених в методиці умов хроматографування для ідентифікації та визначення кількісного вмісту амброксолу гідрохлориду в готових лікарських формах.

Ідентифікацію та визначення кількісного вмісту амброксолу гідрохлориду в таблетках та інших лікарських формах здійснювали методом високоефективної рідинної хроматографії відповідно до вимог діючого видання ДФУ/ЄФ, 2.2.29. Для випробування використовували розчини, концентрація амброксолу гідрохлориду у яких становила 0,03 мг/мл для кожної лікарської форми. Готували основні розчини з концентрацією 0,3 мг/мл, використовуючи воду як розчинник, подальші розведення розчинів до необхідної концентрації робили рухомою фазою. Концентрацію амброксолу гідрохлориду підбирали експериментально, отримуючи коректну величину відгуку з урахуванням досягнення параметрів придатності хроматографічної системи. Детектування здійснювали за довжини хвилі 248 нм, оскільки за цієї довжини хвилі спостерігається максимальне поглинання амброксолу в УФ-області. Визначали час утримування та вимірювали площі піків амброксолу гідрохлориду на хроматограмах випробовуваних розчинів та розчину порівняння. Дослідження виконували з двома стандартними та двома випробовуваними зразками для кожної лікарської форми.

Для проведення розділення використовували рухому фазу – суміш ацетонітрилу та буферного розчину рН 7,0 у співвідношенні 50:50 (об/об), з метою досягнення необхідного часу утримування амброксолу гідрохлориду.

Визначення амброксолу гідрохлориду здійснювали на рідинному хроматографі «Agilent 1200» з діодно-матричним детектором.

Випробування робили у таких умовах хроматографування: хроматографічна колонка Inertsil ODS-3V, (250 × 4,6) мм, з розміром частинок 5 мкм; швидкість потоку рухомої фази – 1 мл/хв; детектування – спектрофотометрично за довжини хвилі 248 нм; об'єм інжекції – 20 мкл; температура колонки – 25 °С; час виходу піка амброксолу гідрохлориду ~ 12,8 хв.

Приготування буферного розчину рН 7,0. 1,32 г амонію фосфату вміщували в мірну колбу ємністю 1 000 мл, розчинили у 900 мл води та довели значення рН до 7,0 (потенціометрично) за допомогою кислоти фосфорної. Об'єм розчину довели до мітки водою та перемішали. Розчин використовували свіжоприготовленим.

З метою оцінки придатності хроматографічної системи інжектували по 20 мкл розчину порівняння та отримували 5 послідовних хроматограм.

Згідно з рекомендаціями ДФУ/ЄФ (2.2.29, 2.2.46) хроматографічна система вважається придатною, якщо:

1) коефіцієнт симетрії (Т) піка амброксолу гідрохлориду, розрахований із хроматограм розчину порівняння, становитиме 0,8–1,5;

2) ефективність хроматографічної колонки (N), розрахована за піком амброксолу гідрохлориду на хроматограмі розчину порівняння, становитиме не менше 5 000 теоретичних тарілок.

Після підтвердження придатності системи, в цих умовах інжектували бланк, випробовувані розчини та проводили розрахунки і оцінку одержаних результатів.

Під час виконання ідентифікації амброксолу гідрохлориду оцінювали відповідність часу утримування піка амброксолу гідрохлориду на хроматограмах випробовуваних розчинів готових лікарських форм із часом утримування відповідного піка на хроматограмах розчинів порівняння. Для позитивної ідентифікації мають виконуватися такі вимоги – на хроматограмі випробовуваного розчину час утримування піка амброксолу гідрохлориду має співпадати з часом утримування відповідного піка на хроматограмі розчину порівняння з точністю ± 2%.

Вимірювали площу піка амброксолу гідрохлориду на хроматограмах випробовуваних розчинів та розчинів порівняння.

Вміст амброксолу гідрохлориду в препаратах обчислювали за формулами, враховуючи площі піка амброксолу гідрохлориду на хроматограмах випробовуваних розчинів та розчинів порівняння, маси наважок/об'єми проб, розведення розчинів, чистоту стандартного зразка, середню масу таблетки тощо. Оцінювали відповідність вмісту діючої речовини в готових лікарських засобах протягом терміну придатності наступним межем: ± 10% від номінального вмісту.

Результати дослідження та обговорення

Під час проведення ідентифікації амброксолу гідрохлориду методом абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій області в субстанції з використанням як розчинника 0,05 М розчину кислоти сірчаної (H₂SO₄) та альтернативно – 0,1 М розчину кислоти хлористоводневої (HCl), а також у готових лікарських формах із використанням як розчинника 0,1 М розчину кислоти хлористоводневої одержано результати, наведені у табл. 1.

**Результати відповідності відношення оптичних густин вимогам монографії
«Амброксолу гідрохлорид, субстанція» методом абсорбційної спектрофотометрії
в ультрафіолетовій області**

Лікарська форма	Вимоги монографії A_{245}/A_{310}	Середнє значення відношення оптичних густин A_{245}/A_{310}	Відповідність вимогам монографії
Субстанція (0,05 М розчин H_2SO_4)	3,2–3,4	3,22	Відповідає
Субстанція (0,1 М розчин HCl)	3,2–3,4	3,29	Відповідає
Розчин для ін'єкцій	3,2–3,4	3,36	Відповідає
Таблетки	3,2–3,4	3,35	Відповідає
Сироп (фільтрований розчин)	3,2–3,4	6,84	Не відповідає
Сироп (не фільтрований розчин)	3,2–3,4	6,96	Не відповідає
Порошок для оральної суспензії у саше (фільтрований розчин)	3,2–3,4	2,66	Не відповідає
Порошок для оральної суспензії у саше (не фільтрований розчин)	3,2–3,4	2,64	Не відповідає

В результаті випробування підтверджена відповідність вимогам монографії «Амброксолу гідрохлорид, субстанція» щодо наявності на УФ-спектрах поглинання адсорбційних максимумів за довжин хвиль 245 нм і 310 нм, а також щодо відношення оптичних густин A_{245}/A_{310} встановленому діапазону для субстанції та готових лікарських форм у вигляді розчину для ін'єкцій та таблеток, спектри наведено на рис 1.

В результаті перевірки препаратів у формі сиропу та порошку для оральної суспензії одержано незадовільні результати, відповідно використання такої методики не є можливим для ідентифікації амброксолу гідрохлориду в цих готових лікарських формах, що може бути пов'язано з наявністю у лікарській формі у вигляді порошку для оральної суспензії другої діючої речовини ацетилцистеїну та великою кількістю допоміжних речовин в обох формах, УФ-спектри поглинання наведено на рис 2.

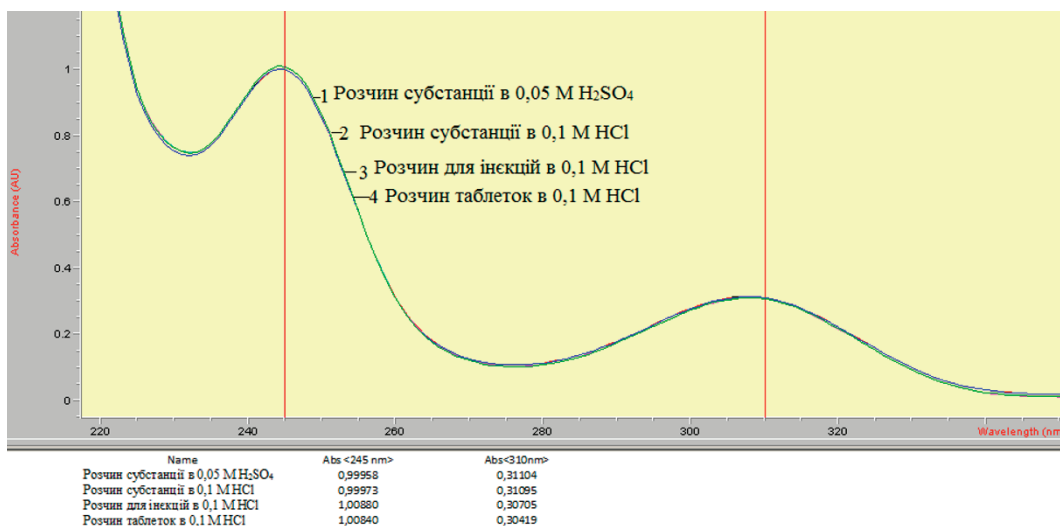


Рис. 1. УФ-спектри поглинання для розчинів субстанції амброксолу гідрохлориду та розчинів готових лікарських форм у вигляді розчину для ін'єкцій та таблеток

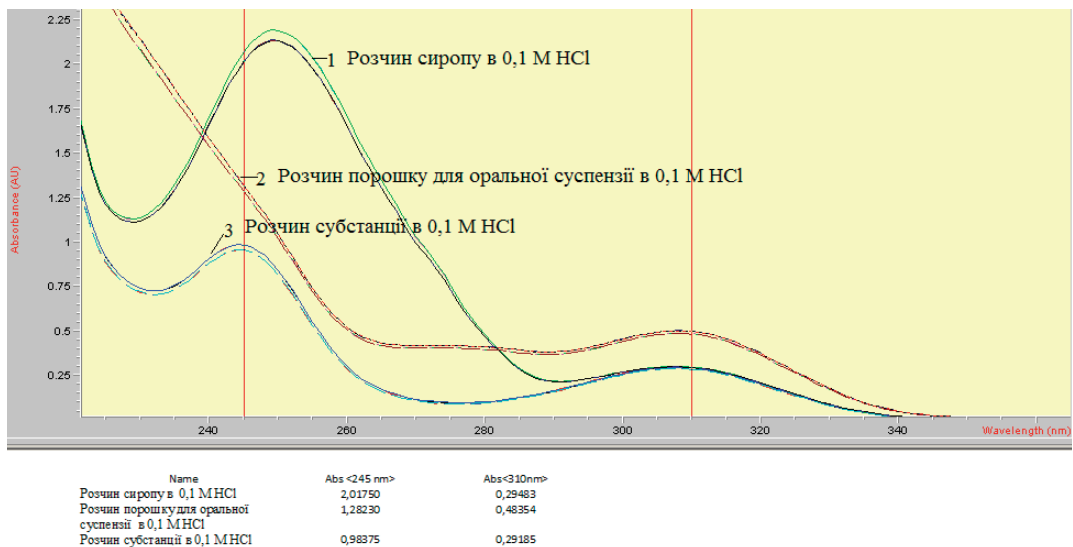


Рис. 2. УФ-спектри поглинання для розчинів готових лікарських форм у вигляді сиропу та порошку для оральної суспензії

Під час проведенні кількісного визначення амброксолу гідрохлориду методом абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій області в результаті математичних розрахунків встановлено, що кількісний вміст амброксолу гідрохлориду становить:

- в 1 таблетці – 29,81 мг та відповідає вимогам монографії;
- в 1 мл розчину для ін'єкцій – 7,32 мг та відповідає вимогам « $\pm 10\%$ від номінальної кількості»;
- в 5 мл сиропу – 15,69 мг та відповідає вимогам « $\pm 10\%$ від номінальної кількості»;
- в одному саше – 51,2 мг, що значно перевищує допустимий вміст та не відповідає вимогам « $\pm 10\%$ від номінальної кількості».

Результати ідентифікації амброксолу гідрохлориду методом тонкошарової хроматографії подано на рис. 3. Згідно з наведеними даними плями, одержані на хроматограмі випробовуваних розчинів для лікарських форм – розчин для ін'єкцій та таблетки, відповідають відповідній плямі, одержаній на хроматограмі розчину СЗ амброксолу гідрохлориду за забарвленням, розміром і коефіцієнтом утримування (R_f).

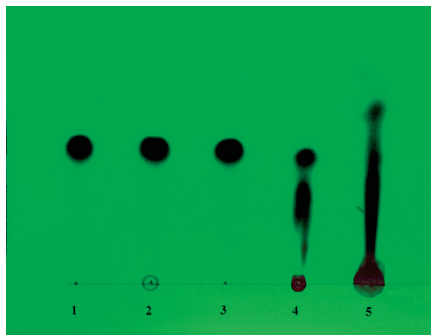


Рис. 3. Результати ідентифікації амброксолу гідрохлориду в готових лікарських формах методом тонкошарової хроматографії:

- 1 – розчин СЗ амброксолу гідрохлориду; 2 – випробовуваний розчин для лікарської форми – розчин для ін'єкцій; 3 – випробовуваний розчин для лікарської форми – таблетки; 4 – випробовуваний розчин для лікарської форми – порошок для оральної суспензії; 5 – випробовуваний розчин для лікарської форми – сироп

У разі ідентифікації амброксолу гідрохлориду методом високоефективної рідинної хроматографії одержано результати, які наведено у табл. 2.

Т а б л и ц я 2

Час утримування піка амброксолу гідрохлориду методом ВЕРХ

Лікарська форма	Час утримування піка амброксолу гідрохлориду, хв
	Розчин 1/Розчин 2
Таблетки	12,814/12,816
Розчин для ін'єкцій	12,813/12,816
Сироп	12,814/12,814
Порошок для оральної суспензії	12,804/12,807
Стандартний зразок	12,812/12,822

Згідно з отриманими даними можна зробити висновок, що час утримування піка амброксолу гідрохлориду на хроматограмах всіх випробовуваних розчинів співпадає з часом утримування цього піка на хроматограмах розчину порівняння з точністю $\pm 2\%$. Тобто, ця методика дає змогу ідентифікувати амброксолу гідрохлорид у лікарських засобах, які обрано для дослідження.

Також на хроматограмах випробовуваних розчинів, приготуваних із таких лікарських форм як сироп та порошок для оральної суспензії, спостерігається наявність додаткових піків, які підтверджують наявність у складі зазначених лікарських форм інших компонентів (діючих або допоміжних речовин), що, ймовірно, мали вплив на хід попередніх досліджень, наведено на рис 4.

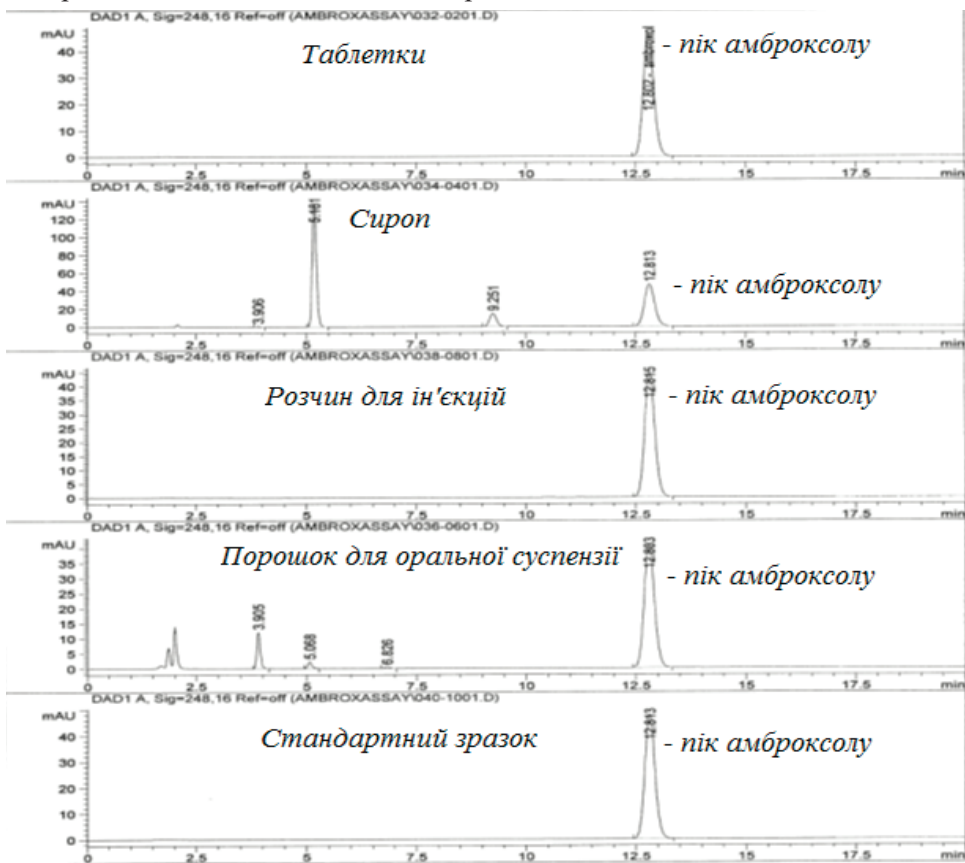


Рис. 4. Типові хроматограми випробовуваних розчинів та розчину порівняння

В результаті оцінки придатності хроматографічної системи при кількісному визначенні амброксолу гідрохлориду методом вискоєфективної рідинної хроматографії, при хроматографуванні розчину порівняння отримали значення, що відповідають встановленим вимогам.

Отримані значення наведено у табл. 3.

Т а б л и ц я 3

Результати оцінки придатності хроматографічної системи у разі кількісного визначення амброксолу гідрохлориду методом ВЕРХ

Розчин порівняння	Результати перевірки придатності хроматографічної системи		
	<i>T</i>	<i>RSD</i> , %	<i>N</i>
1	1,11	0,05	13782
2	1,12	0,01	14244

Первинні дані та результати кількісного вмісту амброксолу гідрохлориду в готових лікарських засобах при випробуванні методом вискоєфективної рідинної хроматографії подано у табл. 4.

Т а б л и ц я 4

Результати визначення кількісного вмісту амброксолу гідрохлориду в готових лікарських засобах методом ВЕРХ

Таблетки						
Вимоги: 27,75–32,25 мг/табл						
	<i>S</i> _{зр}	<i>S</i> _{ст}	<i>m</i> _{ст} , мг	<i>m</i> _{зр} , мг	<i>P</i> , %	<i>X</i> ₁ , мг/табл
RSO 1	719,48529	778,94082	15,15	234,76	99,5	28,47 ± 0,18
	738,57865	778,94082	15,15	242,98	99,5	28,24 ± 0,18
RSO 2	719,48529	761,16339	14,89	234,76	99,5	28,63 ± 0,18
	738,57865	761,16339	14,89	242,98	99,5	28,40 ± 0,18
Середнє 28,43 ± 0,18						
Сироп						
Вимоги: 13,5–16,5 мг/5 мл						
	<i>S</i> _{зр}	<i>S</i> _{ст}	<i>m</i> _{ст} , мг	<i>m</i> _{зр} , мг	<i>P</i> , %	<i>X</i> ₂ , мг/5 мл
RSO 1	752,73049	778,94082	15,15	5620,0	99,5	14,77 ± 0,11
	754,3487	778,94082	15,15	5670,0	99,5	14,68 ± 0,11
RSO 2	752,73049	761,16339	14,89	5620,0	99,5	14,86 ± 0,10
	754,3487	761,16339	14,89	5670,0	99,5	14,76 ± 0,10
Середнє 14,77 ± 0,10						
Розчин для ін'єкцій						
Вимоги: 6,75–8,25 мг/мл						
	<i>S</i> _{зр}	<i>S</i> _{ст}	<i>m</i> _{ст} , мг	<i>V</i> ₁ , мл	<i>P</i> , %	<i>X</i> ₃ , мг/мл
RSO 1	773,29226	778,94082	15,15	1,0	99,5	7,48 ± 0,09
	786,18953	778,94082	15,15	1,0	99,5	7,61 ± 0,10
RSO 2	773,29226	761,16339	14,89	1,0	99,5	7,53 ± 0,10
	786,18953	761,16339	14,89	1,0	99,5	7,65 ± 0,10
Середнє 7,57 ± 0,10						
Порошок для оральної суспензії						
Вимоги: 27,0–33,0 мг/саше						
	<i>S</i> _{зр}	<i>S</i> _{ст}	<i>m</i> _{ст} , мг	<i>m</i> _{зр} , мг	<i>P</i> , %	<i>X</i> ₄ , мг/саше
RSO 1	674,58128	778,94082	15,15	1928,5	99,5	27,84 ± 0,20
	773,54924	778,94082	15,15	2166,0	99,5	28,42 ± 0,20
RSO 2	674,58128	761,16339	14,89	1928,5	99,5	28,00 ± 0,21
	773,54924	761,16339	14,89	2166,0	99,5	28,58 ± 0,21
Середнє 28,21 ± 0,20						

Розрахунки здійснювали за такими формулами:

$$X_1 = \frac{S_{\text{зр}} \times m_{\text{ст}} \times 5 \times 100 \times 50 \times P \times b}{S_{\text{ст}} \times 50 \times 50 \times m_{\text{зр}} \times 5 \times 100},$$

$$X_2 = \frac{S_{\text{зр}} \times m_{\text{ст}} \times 5 \times 50 \times 50 \times 1000 \times \rho \times P \times 5}{S_{\text{ст}} \times 50 \times 50 \times m_{\text{зр}} \times 5 \times 100},$$

$$X_3 = \frac{S_{\text{зр}} \times m_{\text{ст}} \times 5 \times 25 \times 50 \times P}{S_{\text{ст}} \times 50 \times 50 \times V_1 \times 5 \times 100},$$

$$X_4 = \frac{S_{\text{зр}} \times m_{\text{ст}} \times 5 \times 100 \times 50 \times P \times b}{S_{\text{ст}} \times 50 \times 50 \times m_{\text{зр}} \times 5 \times 100},$$

де $S_{\text{зр}}$ – середнє значення площі піка амброксолу гідрохлориду, розраховане з хроматограм випробовуваного розчину;

$S_{\text{ст}}$ – середнє значення площі піка амброксолу гідрохлориду, розраховане з хроматограм розчину порівняння;

$m_{\text{ст}}$ – маса наважки стандартного зразка амброксолу гідрохлориду, мг;

$m_{\text{зр}}$ – маса наважки випробовуваного препарату, мг;

V_1 – об'єм зразка випробовуваного препарату, мл;

b – середня маса таблетки/вмісту саше, мг;

ρ – густина сиропу, (1,140) г/см³;

P – вміст основної речовини у стандартному зразку амброксолу гідрохлориду, %.

Згідно з поданими вище результатами встановлено, що кількісний вміст амброксолу гідрохлориду в препаратах відповідає вимогам « $\pm 10\%$ від номінальної кількості».

У результаті досліджень експериментально підтверджено, що методика зі застосуванням методу високоефективної рідинної хроматографії придатна для ідентифікації та кількісного визначення амброксолу гідрохлориду в готових лікарських засобах, які обрано для цієї роботи.

Висновки

1. Підтверджено придатність застосування альтернативного розчинника 0,1 М розчину кислоти хлористоводневої для ідентифікації амброксолу гідрохлориду в субстанції методом УФ-спектрофотометрії, як зазначено в монографії ДФУ «*Амброксолу гідрохлорид, субстанція*».

2. За результатами дослідження щодо можливості використання методики ідентифікації методом УФ-спектрофотометрії, вказаної в монографії «*Амброксолу гідрохлорид, субстанція*», та альтернативного розчинника 0,1 М розчину кислоти хлористоводневої для готових лікарських форм встановлено, що ідентифікація амброксолу гідрохлориду є можливою тільки для розчину для ін'єкцій та таблеток. Для сиропу та порошку для оральної суспензії встановлено, що використання такої методики для ідентифікації амброксолу гідрохлориду не є можливим, що може бути пов'язано з наявністю великої кількості допоміжних речовин.

3. Згідно з наведеними результатами кількісного визначення амброксолу гідрохлориду за методикою монографії ДФУ «*Амброксолу таблетки*» в різних лікарських формах можна зробити висновок, що ця методика придатна для таких готових лікарських форм як розчин для ін'єкцій та сироп. Для кількісного визначення амброксолу гідрохлориду в готовій лікарській формі у вигляді порошку

для орального розчину ця методика непридатна у зв'язку зі впливом другої діючої речовини ацетицистеїну та інших компонентів препарату.

4. За результатами перевірки можливості використання методики ідентифікації методом тонкошарової хроматографії, зазначеної в монографії «Амброксолу гідрохлорид, субстанція», встановлено, що ідентифікація амброксолу гідрохлориду можлива для таких лікарських форм як таблетки та розчин для ін'єкцій. Однак встановлено непридатність цієї методики для таких форм як порошок для оральної суспензії та сироп, оскільки на хроматограмі випробовуваних розчинів спостерігається наявність тяжу від лінії старту, що зумовлено наявністю допоміжних речовин у складі лікарських засобів, та відсутність плями, що знаходиться на одному рівні з плямою амброксолу гідрохлориду, одержаній на хроматограмі розчину порівняння.

5. Підтверджено, що експериментально підібрана методика зі застосуванням методу вискоефективної рідинної хроматографії придатна для ідентифікації та кількісного визначення амброксолу гідрохлориду в готових лікарських засобах, які обрано для цієї роботи, та може бути використана для випробувань готових лікарських засобів з аналогічним вмістом діючих та допоміжних речовин.

6. Встановлено, що з використанням методу вискоефективної рідинної хроматографії можливо не тільки ідентифікувати й кількісно визначити амброксолу гідрохлорид, а також встановити наявність та визначити вміст деяких допоміжних речовин.

7. Отже, отримані результати досліджень вказують на перспективність застосування зазначених методів для розроблення методик ідентифікації та кількісного визначення речовин у лікарських засобах та подальшої їх валідації.

Список використаної літератури

1. Scaglione F., Petrini O. Mucoactive Agents in the Therapy of Upper Respiratory Airways Infections: Fair to Describe Them Just as Mucoactive? // Clin. Med. Insights: Ear, Nose and Throat. – 2019. – V. 12, Iss. 1–9. <https://doi.org/10.1177/1179550618821930>
2. Suma B. V., Kannan K., Madhavan V., Chandini R. Nayar. Spectrophotometric estimation of ambroxol hydrochloride in bulk and tablet formulation // World J. Pharm. Pharmac. Sci. – 2014. – V. 3, Iss. 2. – P. 2090–2097.
3. Державна Фармакопея України / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». Діюче вид. – Харків: ДП «Науково-експертний фармакопейний центр», 2015.
4. Нормативно-директивні документи МОЗ України [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://mozdocs.kiev.ua/>
5. Ткаченко І. В., Тарасенко Г. В., Ренський С. О. Розробка складу та технології комбінованого муколітичного засобу // Modern achievements of pharmaceutical technology and biotechnology. 36. наук. праць. – Харків, 2016. – С. 614–618.
6. European Pharmacopoeia 7.0 Vol. 1 [Електронний ресурс]. – Режим доступу: www.uarph.com.ua
7. Губський Ю. І., Вельчинська О. В. Синтез та дослідження біологічної активності нових N-заміщених [(фосфіногіадиазоліл)аміно] сукцинімідів // Мед. хімія. – 2008. – Т. 10, № 4. – С. 5–11.
8. Welchinskaya H. V., Kuzmenko I. I., Kudryavtseva I. G. et al. New molecular complexes of heterocyclic bis-adducts with bacterial lectins: synthesis and structure-activity relationship studies. Inter. J. Biol. Macromol. – 1999. – V. 26. – P. 243–248.

References

1. Scaglione F., Petrini O. Mucoactive Agents in the Therapy of Upper Respiratory Airways Infections: Fair to Describe Them Just as Mucoactive? // Clin. Med. Insights: Ear, Nose and Throat. – 2019. – V. 12, Iss. 1–9. <https://doi.org/10.1177/1179550618821930>
2. Suma B. V., Kannan K., Madhavan V., Chandini R. Nayar. Spectrophotometric estimation of ambroxol hydrochloride in bulk and tablet formulation // World J. Pharm. Pharmac. Sci. – 2014. – V. 3, Iss. 2. – P. 2090–2097.
3. Derzhavna Farmakopeya Ukraini / DP «Naukovo-ekspertniy farmakopeyniy tsentr». Diyuचे vid. – Harkiv: DP «Naukovo-ekspertniy farmakopeyniy tsentr», 2015.

4. Normativno-direktivni dokumenti MOZ Ukraini [Elektronniy resurs]. – Rezhim dostupu: <http://mozdoks.kiev.ua/>

5. Tkachenko I. V., Tarasenko G. V., Renskiy S. O. Rozrobka skladu ta tehnologiyi kombinovanogo mukolitichnogo zasobu / Modern achievements of pharmaceutical technology and biotechnology. Zb. nauk. prats. – Harkiv, 2016. – S. 614–618.

6. European Pharmacopoeia 7.0 Vol. 1 [Elektronniy resurs]. – Rezhim dostupu: www.uapf.com.ua

7. Gubskiy Yu. I., Velchinska O. V. Sintez ta doslidzhennya biologichnoyi aktivnosti novih N-zamischenih [(fosfinotiadiazoli)amino] suksinimidiv // Med. Him. – 2008. – T. 10, № 4. – S. 5–11.

8. Welchinskaya H. V., Kuzmenko I. I., Kudryavtseva I. G. et al. New molecular complexes of heterocyclic bis-adducts with bacterial lectins: synthesis and structure-activity relationship studies. Inter. J. Biol. Macromol. – 1999. – V. 26. – P. 243–248.

Надійшла до редакції 24 лютого 2020 р.

Прийнято до друку 18 березня 2020 р.

I. В. Ніженковська (<https://orcid.org/0000-0001-5065-3147>),

О. В. Бурмака (<https://orcid.org/0000-0001-6985-079X>),

О. В. Манченко (<https://orcid.org/0000-0002-5461-6586>),

К. С. Зіскінд (<https://orcid.org/0000-0002-1668-0894>)

Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ

ВИЗНАЧЕННЯ АМБРОКСОЛУ ГІДРОХЛОРИДУ В СУБСТАНЦІЇ ТА ГОТОВИХ ЛІКАРСЬКИХ ФОРМАХ МЕТОДАМИ АБСОРБЦІЙНОЇ СПЕКТРОФОТОМЕТРІЇ В УЛЬТРАФІОЛЕТОВІЙ ОБЛАСТІ, ТОНКОШАРОВОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ ТА ВИСОКОЕФЕКТИВНОЇ РІДИННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ

Ключові слова: амброксолу гідрохлорид, абсорбційна спектрофотометрія, ТШХ, ВЕРХ, готові лікарські форми

А Н О Т А Ц І Я

Визначення якісного та кількісного вмісту основної діючої речовини муколітичного лікарського засобу є необхідним для підтвердження його доброякісності.

Мета наукового дослідження – перевірка придатності наявних методик якісного та кількісного визначення амброксолу гідрохлориду, які зазначено в монографіях ДФУ «Амброксолу гідрохлорид, субстанція» та «Амброксолу таблетки», для можливості якісного та кількісного визначення амброксолу гідрохлориду в різних готових лікарських засобах та визначення можливості використання альтернативного розчинника у окремих методиках.

Використано субстанцію амброксолу гідрохлориду та чотири готові лікарські форми з діючою речовиною амброксолу гідрохлоридом: розчин для ін'єкцій 7,5 мг/мл в ампулах, таблетки по 30 мг, сироп 15 мг/5 мл та комбінований лікарський засіб, що містить амброксолу гідрохлориду 30 мг та ацетилцистеїну 200 мг у формі порошку для оральної суспензії в саше. Дослідження здійснено зі застосуванням УФ-спектрофотометра, рідинного хроматографа «Agilent 1200» із діодно-матричним детектором (хроматографічна колонка – Inertsil ODS-3V, 250×4,6 мм, із розміром частинок 5 мкм), тонкошарової хроматографії (хроматографічна пластинка – TLC Silica gel 60 F254).

Підтверджено придатність застосування альтернативного розчинника 0,1 М розчину хлористоводневої кислоти для ідентифікації субстанції амброксолу гідрохлориду методом УФ-спектрофотометрії, як зазначено в монографії ДФУ для «Амброксолу гідрохлорид, субстанція». Встановлено, що ідентифікація амброксолу гідрохлориду з 0,1 М розчином хлористоводневої кислоти є можливою тільки для розчину для ін'єкцій та таблеток. Для сиропу та порошку для оральної суспензії встановлено, що використання такої методики для ідентифікації амброксолу гідрохлориду не є можливим.

Методика монографії ДФУ «Амброксолу таблетки» придатна для таких форм як розчин для ін'єкцій та сироп. Для кількісного визначення амброксолу гідрохлориду в препараті у формі порошку для орального розчину ця методика непридатна.

Із використанням методу тонкошарової хроматографії можлива ідентифікація амброксолу гідрохлориду для таких форм як таблетки та розчин для ін'єкцій. Однак встановлено непридатність цієї методики для таких форм як порошок для оральної суспензії та сироп.

Підтверджено, що експериментально підібрана методика зі застосуванням методу високоефективної рідинної хроматографії придатна для ідентифікації та кількісного визначення амброксолу гідрохлориду та може бути використана для випробувань готових лікарських засобів з аналогічним вмістом діючих та допоміжних речовин. Встановлено, що метод високоефективної рідинної хроматографії дає змогу не тільки ідентифікувати й кількісно визначити амброксолу гідрохлорид, а також встановити наявність та визначити деякі допоміжні речовини.

И. В. Ниженковская (<https://orcid.org/0000-0001-5065-3147>),

А. В. Бурмака (<https://orcid.org/0000-0001-6985-079X>),

О. В. Манченко (<https://orcid.org/0000-0002-5461-6586>),

К. Е. Зискинд (<https://orcid.org/0000-0002-1668-0894>)

Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, г. Киев

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АМБРОКСОЛА ГИДРОХЛОРИДА В СУБСТАНЦИИ И ГОТОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМАХ МЕТОДАМИ АБСОРБЦИОННОЙ СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ В УЛЬТРАФИОЛЕТОВОЙ ОБЛАСТИ, ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ И ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Ключевые слова: амброксола гидрохлорид, абсорбционная спектрофотометрия, ТСХ, ВЭЖХ, готовые лекарственные формы

А Н Н О Т А Ц И Я

Определение качественного и количественного содержания основного действующего вещества муколитического лекарственного средства необходимо для подтверждения его доброкачественности.

Цель научного исследования – проверить пригодность существующих методик качественного и количественного определения амброксола гидрохлорида, указанных в монографиях ГФУ «Амброксола гидрохлорид, субстанция» и «Амброксола таблетки», для качественного и количественного определения амброксола гидрохлорида в разных готовых лекарственных средствах и определить возможность использования альтернативного растворителя в отдельных методиках.

Использованы субстанция амброксола гидрохлорида и четыре готовые лекарственные формы с действующим веществом амброксола гидрохлоридом: раствор для инъекций 7,5 мг/мл в ампулах, таблетки по 30 мг, сироп 15 мг/5 мл и комбинированное лекарственное средство, которое содержит амброксола гидрохлорид 30 мг и ацетилцистеина 200 мг в форме порошка для оральной суспензии в саше. Исследование осуществлено с использованием УФ-спектрофотометра, жидкостного хроматографа «Agilent 1200» с диодно-матричным детектором (хроматографическая колонка – Inertsil ODS-3V, 250×4,6 мм, с размером частиц 5 мкм), тонкослойной хроматографии (хроматографическая пластинка – TLC Silica gel 60 F254).

Подтверждена пригодность использования альтернативного растворителя 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты для идентификации субстанции амброксола гидрохлорида методом УФ-спектрофотометрии, указанным в монографии ГФУ для «Амброксола гидрохлорида, субстанция». Определено, что идентификация амброксола гидрохлорида с 0,1 М раствором хлористоводородной кислоты возможна только для раствора для инъекций и таблеток. Для сиропа и порошка для оральной суспензии использование такой методики для идентификации амброксола гидрохлорида невозможно.

Методика монографии ГФУ «Амброксола таблетки» пригодна для таких лекарственных форм как раствор для инъекций и сироп. Для количественного определения амброксола гидрохлорида в препарате в форме порошка для орального раствора эта методика непригодна.

С использованием метода тонкослойной хроматографии возможна идентификация амброксола гидрохлорида в таких формах, как таблетки и раствор для инъекций. Однако определена непригодность этой методики для таких форм как порошок для оральной суспензии и сироп.

Подтверждено, что экспериментально подобранная методика с использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии пригодна для качественного и количественного определения амброксола гидрохлорида в готовых лекарственных средствах, которые выбраны для этой работы, и может быть использована для испытаний готовых лекарственных средств с аналогичным составом действующих и вспомогательных веществ. Установлено, что метод высокоэффективной жидкостной хроматографии дает возможность не только идентифицировать и количественно определять амброксола гидрохлорид, а также определять наличие некоторых вспомогательных веществ.

I. V. Nigencovska (<https://orcid.org/0000-0001-5065-3147>),
O. V. Burmaka (<https://orcid.org/0000-0001-6985-079X>),
O. V. Manchenko (<https://orcid.org/0000-0002-5461-6586>),
K. E. Ziskind (<https://orcid.org/0000-0002-1668-0894>)

Bogomolets National Medical University, Kyiv

DETERMINATION AMBROXOLE HYDROCHLORIDE IN SUBSTANCE AMBROXOLE
HYDROCHLORIDE AND FINISH MEDICAL PRODUCTS BY METHODS ADSORPTION
SPECTROSCOPY IN ULTRAVIOLET AREA, THIN LAYER CHROMATOGRAPHY AND HEIGHT
PERFORMERS LIQUID CHROMATOGRAPHY

Key words: ambroxole hydrochloride, adsorption spectroscopy, thin layer chromatography, height performers liquid chromatography, finish medical products

ABSTRACT

The determination of the qualitative and quantitative content of the main active substance of a microlitic medicinal product is necessary to confirm its good quality.

The purpose of scientific research: check the suitability of existing methods for the qualitative and quantitative determination of ambroxol hydrochloride, as indicated in the monographs of the SPU «*Ambroxol hydrochloride, substance*» and «*Ambroxol tablets*», for the possibility of qualitative and quantitative determination of ambroxol hydrochloride in various finished medicines and to determine the possibility of using an alternative solvent in individual methods.

The substance of Ambroxol hydrochloride and four finished dosage forms with the active substance Ambroxol hydrochloride were used: injection solution 7.5 mg/ml in ampoules, 30 mg tablets, syrup 15 mg/5 ml and a combined drug that contains 30 mg Ambroxol hydrochloride and acetylcysteine 200 mg in powder form for oral suspension in sachet. The study was carried out using a UV spectrophotometer, an Agilent 1200 liquid chromatograph with a diode array detector (chromatographic column – Inertsil ODS-3V, 250×4.6 mm, particle size 5 μm), thin-layer chromatography (chromatographic plate – TLC Silicagel 60 F254).

The suitability of using an alternative solvent with a 0.1 M hydrochloric acid solution to identify the substance of ambroxol hydrochloride by UV spectrophotometry, as indicated in the SPU monograph for Ambroxol hydrochloride, substance, has been confirmed. As a result of the study of finished dosage forms, it was determined that the identification of ambroxol hydrochloride with a 0.1 M hydrochloric acid solution is possible only for injection and tablets. For syrup and powder for oral suspension, it was determined that the use of such a technique for the identification of ambroxol hydrochloride is impossible.

According to the results of the quantitative determination of ambroxol hydrochloride according to the methodology of the SFU «*Ambroxol tablets*» monograph in different dosage forms, it is possible to conclude that this technique is suitable for such forms as injection and syrup. For the quantitative determination of ambroxol hydrochloride in a preparation in the form of a powder for oral solution, this technique is unsuitable.

Using thin layer chromatography, it is possible to identify Ambroxol hydrochloride for such forms as tablets and injection. However, the unsuitability of this methodology for such forms of as powder for oral suspension and syrup.

It was confirmed that the experimentally selected technique using the method of high performance liquid chromatography is suitable for the qualitative and quantitative determination of ambroxol hydrochloride in the finished drugs that are selected for this work, and can be used to test finished drugs with the same composition of active and excipients. It was found that the method of high performance liquid chromatography allows not only to identify and quantify ambroxol hydrochloride, but also to determine the presence of some excipients.

Електронна адреса для листування з авторами: sashavbfc@gmail.com

(Бурмака О. В.)