

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ**

Фармацевтичний факультет
Кафедра фармацевтичної хімії

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувач кафедри
фармацевтичної хімії
_____ проф. Лілія Логойда
20 травня 2024 р.

Індекс УДК 615.074:543.422.3-76:615.22/27

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

На тему:

**«ОДНОЧАСНЕ КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ АЦЕТИЛСАЛЦИЛОВОЇ
КИСЛОТИ І РОЗУВАСТАТИНУ КАЛЬЦІУ В КОМБІНОВАНОМУ
ЛІКАРСЬКОМУ ПРЕПАРАТІ МЕТОДОМ УФ-СПЕКТРОФОТОМЕТРІЇ:
РОЗРОБКА ТА ВАЛІДАЦІЯ МЕТОДИКИ»**

Виконала здобувачка вищої освіти 5-го курсу
денної форми навчання
спеціальності 226 Фармація, промислова фармація
_____ Діана Луцик

Науковий керівник:
кандидат фармацевтичних наук, доцент,
доцент закладу вищої освіти кафедри фармацевтичної хімії
_____ Ольга Поляк

ТЕРНОПІЛЬ 2024

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	4
ВСТУП	5
РОЗДІЛ 1. ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОЗУВАСТАТИНУ І АЦЕТИЛСАЛІЦИЛОВОЇ КИСЛОТИ ТА МЕТОДИ ЇХ АНАЛІЗУ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	8
1.1. Фармакологічна дія розувастатину кальцію	8
1.2. Фармакологічна дія ацетилсаліцилової кислоти	11
1.3. Огляд методів аналізу розувастатину кальцію	14
1.4. Огляд методів аналізу ацетилсаліцилової кислоти	27
1.5. «Зелена хімія» в розробці нових аналітичних методик	36
Висновки до розділу 1	38
РОЗДІЛ 2. АНАЛІЗ ОБ'ЄКТІВ І МЕТОДІВ ДОСЛІДЖЕНЬ	39
2.1. Фізико-хімічні властивості досліджуваних об'єктів	40
2.2. Методики дослідження	41
2.3. УФ-спектрофотометрична методика одночасного визначення ацетилсаліцилової кислоти та розувастатину кальцію в капсулах Аспіроза	42
РОЗДІЛ 3. РОЗРОБКА ТА ВАЛІДАЦІЯ УФ-СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНОЇ МЕТОДИКИ ОДНОЧАСНОГО КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ АЦЕТИЛСАЛІЦИЛОВОЇ КИСЛОТИ І РОЗУВАСТАТИНУ КАЛЬЦІЮ В КАПСУЛАХ АСПІРОЗА	43
3.1. Розробка УФ-спектрофотометричної методики одночасного визначення ацетилсаліцилової кислоти і розувастатину кальцію в капсулах Аспіроза	43
3.2. Повна невизначеність методики	46
3.3. Проведення валідації спектрофотометричної методики одночасного кількісного визначення ацетилсаліцилової кислоти і розувастатину кальцію	47
3.3.1. Визначення валідаційного параметра «специфічність»	47

3.3.2. Визначення валідаційних параметрів «правильність та прецизійність»	48
3.3.3. Визначення валідаційних параметрів «лінійність та діапазон застосування»	52
3.3.4. Визначення валідаційного параметра «робасність»	56
3.4. Кількісне визначення розувастатину кальцію та ацетилсаліцилової кислоти в капсулах Аспіроза	57
3.5. Аналіз впливу розробленого методу на навколишнє середовище	57
Висновки до розділу 3	59
ВИСНОВКИ	60
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	61
ДОДАТКИ	73

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ЛПНЩ	–	ліпопротеїди низької щільності
ЛПВЩ	–	ліпопротеїди високої щільності
ВЕРХ	–	високоефективна рідинна хроматографія
УФ	–	ультрафіолетовий
ІЧ	–	інфрачервоний
ДФУ	–	Державна Фармакопея України
ЄФ	–	Європейська Фармакопея
ВЕРХ/УФ	–	високоефективна рідинна хроматографія з УФ-детектуванням
ICH	–	Міжнародна конференція з гармонізації технічних вимог до реєстрації лікарських препаратів для людини (International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use)
qNMR	–	кількісний ядерний магнітний резонанс
LOD	–	межа виявлення
LOQ	–	межа кількісного визначення
ZIC	–	цвіттеріонна хроматографія
RP-HPLC	–	обернено-фазова рідинна хроматографія
HILIC	–	хроматографія з гідрофільною взаємодією
ТФА	–	трифторацетатна кислота
АСН	–	ацетонітрил
ФСЗ	–	фармакопейний стандартний зразок
LRC	–	лінійна регресія

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження

Захворювання серцево-судинної системи ще з давніх-давен посідають перше місце серед хворіб, які викликають непрацездатність та смертність різних верств населення. Одним із важких та небезпечних захворювань цієї групи вважають атеросклероз. Дослідження науковців різних країн демонструють, що атеросклероз все частіше виявляють у людей молодого віку, жінок, а також у дітей. Вважається, що захворювання розвивається внаслідок утворення великої кількості холестерину, але це не можна вважати цілком достовірною інформацією. Холестерин буде прикріплюватися до стінок артерій і відкладатися там лише тоді, якщо вони вже будуть уражені запальним процесом внаслідок певних структурних або ж біохімічних трансформацій. Сприяти цим змінам можуть різні фактори, основними з яких є артеріальна гіпертензія, генетична схильність, цукровий діабет, надлишкова маса тіла, підвищення рівня ЛПНЩ. Для лікування даного захворювання використовують різні підходи, насамперед це зміна способу життя, харчової поведінки, вживання меншої кількості жирів, уникання вживання алкоголю та паління. Але залежно від загального стану хворого та важкості його захворювання вдаються до медикаментозної терапії, яка включає в себе застосування препаратів різних фармакологічних груп. Основною групою вважають статини, які застосовують як у вигляді монотерапії так і в різних комбінаціях. Поєднання розувастатину кальцію та ацетилсаліцилової кислоти в капсулах «Аспіроза» є дуже зручним для пацієнтів, оскільки, пацієнт отримує одразу два фармакологічні ефекти: гіполіпідемічний та антитромботичний, які сприяють підтримуючій терапії та усуненню симптоматики захворювання. Перед наукою постає важливе завдання, а саме створювати нові комбінації препаратів та лікарські форми, покращувати їхню взаємодію та ефективність для досягання основної мети – усунення симптомів захворювання, причини його виникнення та для підтримуючої терапії. Окрім

цього, необхідно завжди оновлювати й працювати над розробкою нових простих, швидких, безпечних та екологічних методів кількісного визначення субстанцій у моно- і комбінованих лікарських препаратах, які можуть бути застосовані у фармацевтичній промисловості для контролю якості даних ЛЗ.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Кваліфікаційна робота виконана в розрізі двох науково-дослідних робіт, запланованих на кафедрі фармхімії ТНМУ імені І. Я. Горбачевського МОЗ України: керівник першої, за номером державної реєстрації 0121U100062, – доц. Д. Коробко (2021-2023 р.), іншої, за номером державної реєстрації 0124U000057, – проф. Л. Логойда (2024-2026 р.).

Мета і завдання дослідження

Мета кваліфікаційної роботи – розробка та валідація УФ-спектрофотометричної методики одночасного кількісного визначення ацетилсаліцилової кислоти і розувастатину кальцію в комбінованих капсулах.

Щоб досягнути мети нам потрібно було вирішити наступні завдання:

- сформулювати основні цілі, завдання, можливості аналізу, різні варіанти перебігу процесу, екологічні фактори;
- провести аналіз наявних літературних джерел, виявити моменти, які потрібно опрацювати, скласти план досліджень;
- розробити УФ-спектрофотометричну методику одночасного кількісного визначення ацетилсаліцилової кислоти і розувастатину кальцію в комбінованій лікарській формі;
- провести валідацію розробленої методики;
- вивчити екологічність нової спектрофотометричної методики.

Об'єкт дослідження – розробка спектрофотометричної методики одночасного кількісного визначення ацетилсаліцилової кислоти і розувастатину кальцію в комбінованій лікарській формі.

Предмет дослідження – ФСЗ ацетилсаліцилової кислоти і розувастатину кальцію, комбіновані капсули «Аспіроза».

Методи дослідження

При виконанні кваліфікаційної роботи було використано метод спектрофотометрії в УФ- та видимій області. Методом моделювання здійснено процес планування досліджень, а методами валідаційного, регресійного, кореляційного аналізів – обробку результатів.

Наукова новизна отриманих результатів

Вперше розроблено та валідовано УФ-спектрофотометричні методики одночасного визначення розувастатину кальцію і ацетилсаліцилової кислоти в комбінованих лікарських формах.

За допомогою методу AGREE розраховано екологічну безпеку запропонованих спектрофотометричних методик, що свідчить про дотримання принципів «зеленої хімії».

Практичне значення одержаних результатів

Розроблені оригінальні спектрофотометричні методики одночасного кількісного визначення розувастатину кальцію і ацетилсаліцилової кислоти є придатними для простого, швидкого, дешевого аналізу якості їх комбінованих твердих ЛФ. Проведено валідацію розроблених методик для підтвердження відповідності результатів критеріям прийнятності.

Апробація результатів кваліфікаційної роботи

Результати кваліфікаційної роботи викладено на XXVIII Конгресі студентів та молодих учених (Тернопіль, 8–10 квітня 2024 р.).

Публікації

За темою досліджень опубліковано 1 тези доповідей на конгресі студентів та молодих учених.

Обсяг та структура кваліфікаційної роботи

Кваліфікаційна робота складається з вступу, трьох розділів, висновків, списку використаної літератури і додатків. Загальний обсяг роботи складає 73 сторінки. В роботі наведено 10 рисунків та 11 таблиці. Перелік використаних літературних джерел – 68 назв, з яких 57 іноземних.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОЗУВАСТАТИНУ І АЦЕТИЛСАЛЦИЛОВОЇ КИСЛОТИ ТА МЕТОДИ ЇХ АНАЛІЗУ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1. Фармакологічна дія розувастатину кальцію

Захворювання серцево-судинної системи посідають перше місце серед населення, які призводять до смертності. Одним із небезпечних захворювань цієї групи вважається атеросклероз. Атеросклероз – це хронічне захворювання запального характеру, яке уражає внутрішню стінку великих і середніх артерій. Це захворювання шкодило людям тисячоліттями, а отже, має давню історію. Термін «атеросклероз» ввів німецький лікар Фелікс Й. Маршан, який ретельно досліджував цю проблему ще в давнину. В 2003 році було проведено цікаве й доказове дослідження щодо атеросклерозу. Проводив дану роботу Вільям А. Мерфі на 5300-річній мумії, ім'я якої було Еці. Використавши комп'ютерну томографію, він помітив, що в аорті були кальцифіковані атероматозні ураження. З цих досліджень і зробили висновок, що атеросклероз – захворювання, яке призводило до смерті ще в стародавні часи [1-2].

Для лікування даної патології застосовують різні підходи, найпершим звісно ж є здорове харчування, зменшення вживання жирної їжі, фізична активність, внормування маси тіла, припинення паління та вживання алкоголю. Але обов'язково для якісного одужання та підтримки стану хворого використовують медикаментозну терапію, яка включає в себе застосування різних груп препаратів таких як статини, фібрати, омега-3, а також їх комбінації. Одні з найбільш вживаних препаратів є статини, які використовують в першу чергу. До даної групи належать такі засоби: розувастатин, флувастатин, аторвастатин та інші [3].

Розувастатин – це синтетичний лікарський засіб, який належить до нового покоління метансульфонамідпіримідину та *N*-метансульфонілпіролзаміщених 3,5-дигідроксигептеноатів. Він ефективно пригнічує фермент ГМГ-КоА-редуктазу. Дія його є подібною до інших статинів, але наявність в його структурі

полярної метансульфонамідної групи надає йому низьку ліпофільність та підсилену взаємодію з ферментом ГМГ-КоА-редуктазою, як наслідок, покращується його афінність зв'язування з ферментом [4].

Розувастатин, або ж іншими словами Крестор, був відкритий Шионогі в Японії. Його досить часто називають «супер статином», оскільки, він є ефективним засобом для лікування атеросклерозу. Порівняно з іншими статинами, він є новим на ринку, але на світовому рівні став надзвичайно успішним препаратом. Ще колись була велика конкуренція у відкриті статинів, але саме Шионогі досягнув великого успіху у відкриті нового засобу Розувастатину, допоміг йому в цьому досвід роботи в компанії, яка займалася хімічним синтезом, особливо з використанням сульфонамідів. Хороші характеристики розувастатину дозволяють підтримувати та збільшувати його продажі, не дивлячись на вихід генеричних препаратів після закінчення дії патенту. Оскільки вчений Шионогі відмовився від подальших клінічних досліджень та розробок засобу, фірма AstraZeneca відновила клінічні дослідження з метою глобального запуску виробництва препарату [5].

За механізмом дії лікарський засіб є інгібітором 3-гідрокси-3-метил-глутарил коензиму А (ГМГ-КоА) редуктази. Він володіє низьким проникненням крізь позапечінкову тканину, а також має низький потенціал взаємодії CYP3A4 та хорошу властивість знижувати рівень ЛПНЩ. Важливим є те, що він володіє плейотропними властивостями і здатен знижувати агрегацію тромбоцитів, зменшує запалення в місці коронарної бляшки та значно покращує функціонування епітелію. Розглядаючи метаболізм препарату, варто підкреслити, що лише 10 % виділяється у вигляді метаболіту, тобто він не метаболізує значною мірою. Унікальність розувастатину проявляється в тому, що період його напіввидення становить 19 годин, його біодоступність 20 %, лише 10 % виводиться із сечею а 90 % із калом. Основним метаболітом є N-дезметиловий та лактоновий метаболіти [6-7].

Розувастатин використовується в поєднанні з дієтою для зниження «поганого» холестерину та підвищення ЛПВЩ та для запобігання серцевого

нападу та інсульту. Також його застосовують для людей, які не можуть контролювати рівень холестерину лише дієтою та фізичними навантаженнями. Даний засіб використовують тільки за призначенням лікаря [8].

Комерційно препарат є доступним у вигляді капсул та таблеток по 5 мг, 10 мг, 20 мг, 40 мг. Капсули вводять через назогастральний зонд або перорально. Перорально його можна застосовувати разом із їжею або без неї не залежно від часу доби. Капсулу не можна розжовувати чи подрібнювати. Дозування підбирається індивідуально лікарем відповідно до рівня ліпопротеїдів. Як в лікуванні інших захворювань, так і в лікуванні атеросклерозу важливим є комплаєнс, тобто готовність пацієнта виконувати вказівки лікаря та правильно використовувати препарат.

Протипоказанням для застосування цього препарату є грудне вигодовування, активне захворювання печінки, постійне підвищення сироваткових трансміназ.

Як і більшість лікарських засобів, розувастатин має певні побічні ефекти, такі як: цукровий діабет, тромбоцитопенія, реакції гіперчутливості, головний біль, запаморочення, запор та нудота. Тому вживання препарату обов'язково має обговорюватися з лікарем, задля запобігання негативних явищ [9].

Розувастатин кальцію відомий під різними торговими назвами: Розістер, Роксера, Озлекс, Ромазик, Розарт, Евойд, Ровамед, Роместін та інші. Цінова політика препаратів на ринку із діючою речовиною розувастатин кальцію досить відрізняється, але залишається доступною для населення. Також ефективним є поєднання ацетилсаліцилової кислоти 75 мг та розувастатину 2.5 мг в препараті під торговою назвою Роззор. Поєднання є ефективним, оскільки, лікарський засіб володіє не лише гіполіпідемічною дією, за рахунок наявності ацетилсаліцилової кислоти в дозі 75 мг він знижує агрегацію тромбоцитів, що запобігає розвитку серцево-судинних захворювань.

На ринку є відомим лікарський засіб під торговою назвою Розуліп Плюс, в склад якого входять дві діючі речовини – розувастатин цинку та езетиміб. Езетиміб є новим класом речовин, які володіють гіполіпідемічною дією. Він

відрізняється від статинів тим, що локалізується на щітковій смужці тонкої кишки й пригнічує абсорбцію холестерину, зменшуючи доставку інтестинального холестерину в печінку. Дане поєднання є ефективним у лікуванні пацієнтів [10].

1.2. Фармакологічна дія ацетилсаліцилової кислоти

Ацетилсаліцилова кислота, або ж іншими словами аспірин, належить до фармакологічної групи анальгетиків, антипіретиків та протизапальних лікарських засобів. За своїми хімічними властивостями та будовою є похідним саліцилової кислоти. Близько 117 років тому німецька фірма «F. Bayer & Company», створила й запатентувала всім відомий сьогодні препарат – Аспірин. У давні часи компанія була досить маленькою та невідомою і спеціалізувалася на виготовленні анілінових барвників, але з часом масштаби компанії зросли і вона активно почала розвивати свої потужності. Назва «Аспірин» була використана не просто так, оскільки, буква «а» походила від слова «acetyl», а частина «спірин» від латинського слова «*Spiraea ulmaria*» - це назва рослини, з якої була отримана саліцилова кислота.

У Фелікса Хоффмана, який працював на підприємстві «Байер», батько хворів на важке захворювання – артрит, а особливість була в тому, що він мав непереносимість до натрію саліцилату, оскільки, довго лікував захворювання шлунку. Відповідно до цього, син хотів допомогти батькові і розпочав пошуки інформації про речовини, які були похідними саліцилової кислоти, але з нижчою кислотністю. Він натрапив на ацетилсаліцилову кислоту, яку ще близько 30 років тому уже синтезували. Хоффман став першим хіміком, який синтезував дану сполуку стабільною та хімічно чистою. Відкриття аспірину стало великим проривом у медицині 20-го століття. Ацетилсаліцилова кислота відпускала лише за рецептом лікаря у формі порошку, далі їй надали форму таблеток. Уже з 1915 року препарат відпускався без рецепта [11-12].

Як зазначалося раніше, аспірин володіє багатьма фармакологічними ефектами: протизапальним, жарознижуючим та антитромботичним. Дані

властивості залежать від дози препарату. Аспірин у дозі від 30-325 мг володіє антитромботичним ефектом, за рахунок блокування синтезу тромбоксану А2 в тромбоцитах, в дозі 1.5-2 г – володіє анальгетичним та жарознижуючим ефектом, у дозі 4 г проявляє протизапальну дію, оскільки, інгібує фермент циклооксигеназу, у результаті знижується синтез медіаторів запалення: тромбоксану, простагландинів, простациклінів. Сфера застосування препарату є досить широкою, використовують для зняття болю різного походження (головного, зубного, м'язового, спинного), зниження температури при гарячках, профілактики тромбозів, інфаркту міокарда, судинної оклюзії, нестабільної стенокардії. Застосування препарату має певні протипоказання: захворювання шлунково-кишкового тракту, ниркова недостатність, останній триместр вагітності, непереносимість компонентів, астма, яка спричинена застосуванням похідних саліцилової кислоти.

З обережністю лікарський засіб потрібно використовувати вагітним жінкам. Під час першого та другого триместру вагітності доза підбирається якомога нижча та лише в разі клінічної необхідності. Проводилися дослідження на тваринах і вони показали, що застосування саліцилатів призводить до загибелі ембріона. Під час третього триместру саліцилати мають негативний вплив як на плід (порушення функцій нирок, спричиняють передчасне закриття артеріальної протоки і легеневою гіпертензією) так і на організм матері (збільшують час кровотеч, гальмують скорочення матки, що призводить до тривалих пологів) [13].

Активно аспірин поєднують з іншими лікарськими речовинами, для підсилення ефекту та ширшого застосування. Відомими є такі комбінації:

1. «Цитрамон» (в склад входять ацетилсаліцилова кислота 240 мг, кофеїн 30 мг, парацетамол 180 мг);
2. «Аскофен» (ацетилсаліцилова кислота 200 мг, парацетамол 200 мг, кофеїн 40 мг);
3. «Упсарин упса» (ацетилсаліцилова кислота 330 мг, аскорбінова кислота 200мг);
4. «Аскопар» (ацетилсаліцилова кислота 200 мг, парацетамол 200 мг, кофеїн 40 мг);
5. «Клівас дуо» (розувастатин 20 мг, ацетилсаліцилова кислота 100 мг);

б. «Аспіроза» – комбінований лікарський засіб, в склад якого входять розувастатин кальцію та ацетилсаліцилова кислота. Випускається він у вигляді капсули, яка містить дві таблетки різного дозування: 1 капсула по 5 мг/100 мг містить дві таблетки – 1 таблетку розувастатину 5 мг та 1 таблетку ацетилсаліцилової кислоти 100 мг; 1 капсула по 10 мг/100 мг містить дві таблетки – 1 таблетку розувастатину 10 мг та 1 таблетку ацетилсаліцилової кислоти 100 мг; 1 капсула по 20 мг/100 мг містить три таблетки – 2 таблетки розувастатину по 10 мг кожна та 1 таблетку ацетилсаліцилової кислоти 100 мг. Кожен із компонентів володіє певними фармакологічними властивостями, які дозволяють ефективно використовувати препарат для лікування гіперхолестеринемії. При захворюванні периферичних артерій важливе значення має антитромбоцитарна терапія, оскільки, вона знижує рівень небажаних реакцій з боку серцево-судинної системи. Комбінація препарату, яка містить кілька активних складових, стає все більше поширеною у лікуванні серцево-судинних захворювань та має свої переваги. Насамперед це зручність у дозуванні та використанні, адже в одній капсулі поєднуються дві діючі речовини і відповідно пацієнт отримує одразу два фармакологічні ефекти, які сприяють підтримуючій терапії та усуненню симптоматики захворювання [13].

Також ацетилсаліцилова кислота відома під різними торговими назвами як монопрепарат: «Акард», «АСК-Тева», «Ацекор Кардіо», «Карідомагніл 75 мг», «Лоспирин 75 мг», «Кардіо – дар 75 мг» [13].

Кожного року в наукових джерелах можна зустріти багато публікацій, присвячених «Лікам ХХ століття», вчені знаходять все ширші канали застосування ацетилсаліцилової кислоти. Із даних досліджень можна отримати інформацію, що при тривалому застосуванні препарату в низьких дозах аспірин скорочує можливість розвитку раку прямої кишки – на 40 %, раку стравоходу та гортані – на 60 %, раку легень – на 30 %. З останніх праць стало відомо, що аспірин здатен знижувати рівень цукру в крові. Науковці активно досліджують препарат та прагнуть створити такі лікарські форми, які могли б знизити непереносимість засобу [12].

1.3. Огляд методів аналізу розувастатину кальцію

Розувастатин є одним із найбільш вживаних препаратів серед статинів, який використовується для лікування атеросклерозу. Відповідно до цього, існує багато методів для ідентифікації та кількісного визначення цього статину. Використовують як титриметричні методи визначення, так і інструментальні методи, такі як ІЧ-спектрофотометрія, УФ-спектрофотометрія, ВЕРХ.

ДФУ не містить даних по визначенню розувастатину кальцію. Ці дані ми можемо знайти в Європейській Фармакопеї, яка пропонує нам проводити ідентифікацію розувастатину кальцію методом інфрачервоної абсорбційної спектрофотометрії, визначення енантімерної чистоти – методом рідинної хроматографії та виявлення іонів кальцію після його виділення. Розчинниками є ацетонітрил та вода в співвідношенні (25:75). Хроматографічна колонка мала розміри 0.15 м × 4.6 мм, а рухома фаза містила ацетонітрил та розчин трифтороцтової кислоти. Швидкість потоку була 0.5 мл/хв, а виявлення проводили за довжини хвилі 242 нм.

Для того, щоб кількісно визначити препарат, ЄФ представляє нам метод рідинної хроматографії. До складу рухомої фази А входили: ацетонітрил, вода та 1 % об'ємний розчин трифтороцтової кислоти у співвідношенні (1:29:70), рухомої фази В – вода, 1 % об'ємний розчин трифтороцтової кислоти та ацетонітрил (1:24:75). Як розчинник використали суміш ацетонітрилу та води у стехіометричних співвідношеннях (25:75). Довжина хроматографічної колонки становила 0.15м × 3.0. Швидкість рухомої фази 0.75 мл/хв, за довжини хвилі УФ-детекції 242 нм [14].

Монографія на дослідження розувастатину кальцію в таблетках також наявна в Фармакопеї Сполучених Штатів Америки. Ідентифікацію проводять за допомогою УФ-абсорбційної спектрофотометрії, а також вимірюванням часу утримування в методі ВЕРХ. Кількісне визначення проводять методом ВЕРХ-УФ, використовуючи хроматографічну колонку 2 мм х 25 см, рухома фаза - ацетонітрил, 1 % водний розчин трифтороцтової кислоти і вода (37:1:62). У ролі

розчинника використовують ацетонітрил та воду (25:75). Швидкість потоку становить – 0.75 мл/хв, а довжина УФ-хвилі 242 нм [15].

Індійським вченим було запропоновано одночасне визначення розувастатину та тенелігліптину за допомогою методу ВЕРХ оберненої фази. Аналіз проводили з використанням колонки Agilent Inertsil Octa Decyl Silane (ODS) C18 (250 × 4.6 мм, 5 мкм). Рухомою фазою стали метанол:вода у стехіометричному співвідношенні 70:30, швидкість потоку становила 0.8 мл/хв за довжини хвилі 244 нм. Основним показником дослідження став час утримування, який становив 7.41 хв для розувастатину та 4.35 хв для тенелігліптину. В умовах дослідження спостерігали, що розувастатин та тенелігліптин мали лінійність 5-15 мкг/мл і 10-30 мкг/мл відповідно. Коефіцієнт кореляції мав такі значення: 0.998 для розувастатину та 0.999 для тенелігліптину. Даний метод дослідження володіє важливими характеристиками: швидкість, точність, відповідно до цього він є валідованим та може бути використаним для дослідження розувастатину та тенелігліптину в їх суміші [16].

Пратікшем Нагвенкаром та його колегами був розроблений новий УФ-спектрофотометричний метод для дослідження розувастатину та езетимібу в їх комбінованій лікарській формі. Дослідження базувалося на методі одночасних рівнянь. Для кожної із речовин були підібрані індивідуальні довжини хвиль поглинання: для розувастатину – 242 нм, а для езетимібу – 231.2 нм. Діапазон концентрацій становив для розувастатину та езетимібу 2-40 мкг/мл відповідно до закону Бера. Коефіцієнт кореляції мав значення більше 0.990. Даний метод є валідованим та служить якісним інструментом для одночасного аналізу ліків в суміші двох речовин: розувастатину та езетимібу [17].

Швидка в часі, ефективна, надійна аналітична розробка хроматографічного методу була проведена індійськими вченими для розділення розувастатину та холекальциферолу в таблетованій лікарській формі. Вилучення було здійснено за допомогою колонки C18 thermo, 250 x 4.6 мм, швидкість потоку 1.5 мл та розмір частин 5 мкм. В якості рухомої фази використовували метанол:ацетонітрил:триетаноламін у співвідношенні 55:45:0.4 за довжини хвилі

265 нм. Час утримування становив 1.336 та 6.031 хвилини, а загальний час хроматографії – 20 хв. Точність методу коливається в межах 94.34 – 103.51 % і 100.82 – 102.46 % для розувастатину кальцію та холекальциферолу відповідно. Методика є стабільною, точною та може використовуватися для кількісної оцінки препаратів розувастатину кальцію та холекальциферолу [18].

Mohan Krishna та його команда приділили увагу розробці методу обернено фазової ВЕРХ для визначення розувастатину хемометричним методом. Для розділення використовували симетричну колонку c18 (150 мм x 4.6, 3.5 мкм). В якості рухомої фази використали воду та аценонітрил у співвідношенні 40:60. Дослідження проводили за довжини хвилі 247 нм. В умовах дослідження спостерігали лінійність розувастатину, яку виявили в діапазоні концентрацій 10-200 мкг/мл. Показник кореляції 0.999 для препарату. Поєднання хемометричного методу та ВЕРХ значно знижують помилки хроматографічного аналізу, як результат, дану комбінацію можна використовувати для кількісного визначення розувастатину [19].

УФ-спектрофотометричний метод із застосуванням «зеленого» розчинника для дослідження розувастатину в фармацевтичних та нерозфасованих лікарських формах запропонували дослідники Арпана Патіл, Міаксі М.Масте, Шайлендра Скуявіші, Микита Патіл. Основною метою роботи була оцінка якості розувастатину із застосуванням «зеленого» розчинника 2 % розчину лауринсульфату натрію. Результати дослідження мали такі значення: максимальна довжина хвилі поглинання для розувастатину 242 нм. При дослідженні в діапазоні концентрацій 5-25 мкг/мл дотримувалися закону Бера. Кількісне визначення та виявлення було в межах 1.58 мкг/мл та 4.79 мкг/мл. Отримали результати, де вихід розувастатину кальцію в таблетках становив від 97 до 102 %. Згідно з рекомендаціями ІСН, методика перевірялася на точність, лінійність, повторюваність. Як висновок, метод виявився простим в застосуванні, економічним та головне – екологічно безпечним. Відповідно, дану методику можна використовувати для рутинного аналізу розувастатину кальцію в лікарській формі та субстанції [20].

В турецькому журналі хімії Гекхман Дікмен опублікував статтю на тему: «Застосування qNMR для визначення розувастатину у формі таблеток». Метою дослідження було використання методу кількісного ядерного магнітного резонансу (qNMR) для оцінки вмісту розувастатину в таблетках. Під час дослідження були вивчені такі показники: лінійність, точність, діапазон та межа виявлення. Окрім цього, провели дослідження розувастатину методом високоефективної рідинної хроматографії. Лінійність методів qNMR та HPLC спостерігали в діапазонах 0.10–5.00 мг/мл та 0.001–0.0995 мг/мл відповідно. За допомогою методу qNMR значення LOD і LOQ відповідали 0.25 мг/мл і 0.80 мг/мл. За допомогою методу високоефективної рідинної хроматографії ці значення були 0.00051 мкг/мл і 0.001695 мкг/мл. Метод qNMR є надійним, простим, ефективним та корисним для перевірки та оптимізації вмісту розувастатину в таблетках [21].

Для одночасного визначення двох статинів – розувастатину та аторвастатину був запропонований валідований метод на основі цвіттерійонної хроматографії (ZIC). Дослідженнями займалися вчені: Алі Мохаммед Махір, Фахад Ашраф Саад, Алі Хусьєн. У дослідженні проводили визначення впливу хроматографічних умов, беручи до уваги відсоток органічного модифікатора, іонну силу ацетатного буфера, значення рН та визначення часу утримування. Поділ проводився двома цвіттерійонними нерухомими фазами (100 мм × 4.6 мм внутр., 3.5 мкм). Для забезпечення оптимальних умов хроматографії використовували рухому фазу та дві цвіттерійонні нерухомі фази. Фази склалися з ацетонітрилу та ацетату у співвідношенні 80:20 об'єм/об'єм, (рН = 4.75, 40 мМ). Кількісне визначення провели за допомогою УФ-детектування при 240 нм, діапазон концентрацій 0.1-7.0 мкг/мл для аторвастатину та розувастатину. Метод перевірявся на точність та лінійність, відповідно дійшли висновку, що метод цвіттерійонної хроматографії (ZIC) є прийнятним для визначення аторвастатину та розувастатину [22].

Автори наступної методики приділили увагу розробці нового, точного, стресоселективного методу визначення розувастатину кальцію з використанням

вдосконаленого підходу. За допомогою методу можна визначити енантіомер у присутності інших споріднених сполук. Хроматографічне розділення науковці проводили із використанням колонки, в якості нерухомої фази стала іммобілізована целюлоза, розмір частинок становив $250 \text{ мм} \times 4.6 \text{ мм} \times 5.0 \text{ мкм}$, з рухомою фазою, яка складається із суміші н-гексану, дихлорметану, 2-пропанолу та трифтороцтової кислоти у співвідношенні 82:10:8:0.2. Контроль елюйованих сполук здійснювали за довжини хвилі 243 нм, час становив 18 хв. Також досліджували показник стабільності, шляхом піддавання розувастатину кальцію різним стресовим умовам, таким як: окисній, основній, кислотній, вологій, термічній та фотолітичній деградації. Ефективність методу доводить те, що продукти деградації були виявлені та добре відділені від піку енантіомерів. Дослідження показало стабільне та високоякісне відновлення ($100 \pm 10 \%$) із високою точністю для енантіомеру. Метод показує свою достатню чутливість, щоб визначити кількісно енантіомер понад 0.04 %, а також виявити енантіомер більше 0.015 % в розувастатині кальцію [23].

Ще одним показовим дослідженням стало вивчення індійських вчених розувастатину кальцію та його лактонової домішки методом ВЕРХ з оберненою фазою. Дослідження припали саме на цей препарат, оскільки, він був на четвертому місці в США по реалізації для лікування гіперхолеристенимії. Саме з коефіцієнтами роздільної здатності більше 10,0, роздільна здатність між розувастатином та лактоною домішкою була найкращою. На колонці C18 ($250 \times 4.6 \text{ мм}$, 5 мкм) проводили хроматографічне розділення, рухома фаза містила градієнтну суміш двох розчинників: А (10 мм амонію ацетату) та В (ацетонітрил:метанол (50:50 об./об.)). Час роботи становив 15 хв, а елюйовані сполуки досліджували при 242 нм. В процесі досліду встановили, що межа кількісного визначення та виявлення мають значення 0.01 мгк/мл та 0.4 мгк/мл. Стабільність розчину та зразка спостерігалася впродовж 48 годин. Запропонована методика може використовуватися науковцями для лактоної домішки розувастатину, а також і його самого в препараті та субстанції [24].

Грецьким вченим Джорджем Махайрасем та його колективом був розроблений метод рідинної хроматографії гідрофільної взаємодії, задля кількісного визначення домішок у таблетках з фіксованою дозою, які містили комбінацію розувастатину та метформіну. Аналітики проводили хроматографічне розділення за допомогою аналітичної колонки XBridge-HILIC при ізократичному елююванні. Калібрувальні криві показали певну лінійність для метформіну, розувастатину та їх семи домішок ($r > 0.994$) у достовірних діапазонах калібрування. Стабільність перевіряли шляхом створення стресових умов, включаючи гідроліз, нагрівання та окиснення. Час роботи становив менше 25 хв для кожного із зразків. Методика стала першою серед інших досліджень, за допомогою якої, використовуючи HILIC, змогли провести аналіз домішок у комбінованій лікарській формі (таблетках) з фіксованою дозою, що містила розувастатин та метформін. Відповідно до цього, методика може ефективно використовуватися для контролю якості даних препаратів [25].

В 2019 році у «Всесвітньому журналі фармацевтичних досліджень» була опублікована стаття, автори якої займалися кількісним визначенням слідів домішок у розувастатині кальцію та ідентифікацією деградаційних домішок за допомогою методу масо-спектроскопії. Хроматографічне розділення досягнули шляхом використання колонки Acquity VEN C-18 100 мм x 2.1 мм, 1.7 мкм, із використанням 0.1 % ТФА: метанол із швидкістю потоку 0.3 мл/хв. Деградацію вивчали в стресових умовах, шляхом дії основ, вологи, пероксиду водню, високої температури та фітолітичних процесів. Основну деградацію виявили при дії кислот, а домішку, яку виявили під час деградації, ідентифікували за допомогою водного Q-tof мас-спектрометра. Аналітична методика була валідована щодо специфічності, LOD, LOQ, лінійності, точності, прецизійності та надійності відповідно до рекомендацій ICH [26].

Ще одним цікавим дослідженням поділилися індійські вчені Навін Паладугу Венката та Ганapatі Серу. Для аналізу використали метод надшвидкісної рідинної хроматографії (RP-UFLC). Рухомою фазою служила суміш ацетату натрію та ацетонітрилу у співвідношенні 28:72 об'єм/об'єм із УФ-

детектором при 254 нм та швидкістю потоку 1.2 мл/хв. На розувастатин діяли стресовими умовами, такими як: окислювальна, термічна, кислотна, лужна деградація. В ході дослідження спостерігали лінійність, яка була в межах концентрацій 0.5–200 мкг/мл, рівняння лінійної регресії мало значення $y = 32548x - 16862$ ($r^2 = 0.9999$). Також визначили, що LOQ дорівнює 0.04291 мкг/мл, а LOD – 0.01502 мкг/мл. Застосування методу можливе як в фармацевтичному аналізі, так і в фармакокінетичних та біоаналітичних дослідженнях [27].

Дослідник А. V. Yegorova та його колеги опублікували статтю в «Журналі аналітичної хімії», в якій вони описували визначення залишкової кількості розувастатину кальцію на поверхнях фармацевтичного обладнання, використовуючи методи ВЕРХ та люмінесценції. Розроблені методики провалідовані за такими показниками: лінійність, специфічність, точність, межі виявлення та кількісного визначення. У ході досліджень визначили, що лінійність спостерігалася в діапазоні концентрацій 0.01-1.0 мкг/мл (ВЕРХ) і 0.1-10.0 мкг/мл (люмінесценція), межі виявлення спостерігали 0.005 і 0.032 мкг/мл відповідно. Важливим є той факт, що ефективність методу відбору проб становить більше 90 %. Встановили незначну різницю в результатах аналізу двох методів. Два методи є досить ефективні, але зробили висновок, що люмінесцентна процедура, порівнюючи з ВЕРХ, має все таки більше переваг: значно менша витрата реагентів, менша трудомісткість, більша швидкість, хоча ВЕРХ володіє дуже важливою властивістю – високою чутливістю [28].

Цікавою стала праця індійських вчених щодо кількісного визначення енантіомеру в розувастатині кальцію з використанням хіральної ВЕРХ. Для енантіомерного розділення розувастатину дослідники розробили швидкий, точний, високоефективний та енантіоселективний метод рідинної хроматографії з нормальною фазою. Розділення лактонної домішки та енантіомеру розувастатину проводили на колонці CHIRALPAK IB (250 x 4.6 мм, 5 мкм), в якості рухомої фази використали n-гептан, 2-пропанол та трифтороцтову кислоту (85:15:01 об./об.). Відповідно до значень коефіцієнтів розділення (2.0 і 4.0), можна зробити висновок, що розділення між енантіомером і лактонною

домішкою було задовільним. У процесі проведення дослідів встановили, що межа виявлення та межа кількісного визначення для енантіомеру відповідали таким значенням: 0.07 мкг/мл та 0.2 мкг/мл, обсяг впорскування становив 10 мкл. Стабільність для розчину зразка та рухомої фази спостерігалася впродовж 48 годин. Представлений метод є точним та відтворювальним та може використовуватися для кількісного визначення енантіомеру розувастатину кальцію в лікарській формі [29].

Колумбійський журнал фармацевтичної хімії опублікував статтю, автором якої є Альварез Більбао та Абеймар. Вчені досліджували можливість застосування методу рідинної хроматографії для визначення гідролітичної поведінки розувастатину із застосуванням різних значень рН і температури. Для хроматографічного розділення використали колонку C18 50 × 4.6 мм і 3.5 мкм. Рухомою фазою стала суміш метанол: вода-1% ТФА. Визначення проводили за таких умов: температура колонки становила 25°C, а швидкість потоку 1 мл/хв. У методі спостерігали лінійність в діапазоні концентрацій від 10 до 150 ppm. Провівши дослідження в кислих умовах, дослідили три продукти розпаду: лактон розувастатину, антиізомер розувастатину та антиізомер лактону розувастатину, за допомогою УФ-світла ідентифікували два основні продукти [30].

Малайзійські вчені на 2-у конгресі з енергетичної безпеки та хімічної інженерії представили своє дослідження, яке базувалося на застосуванні простого електрохімічного методу для визначення розувастатину кальцію в гіполіпідемічних лікарських засобах. Роботу проводили із застосуванням скловугільного електрода з диференціальною імпульсною вольтамперограмою. У процесі дослідження були визначені параметри, які включали рН, час накопичення та підтримуючий електроліт, для того щоб кількісно визначити розувастатин. При обробці результатів спостерігали лінійний діапазон від 0.15 мг/л до 2.5 мг/л. Такі показники як межа виявлення (LOD) та межа кількісного визначення (LOQ) мали значення 0.035 мг/л та 0.12 мг/л відповідно. Після отримання даних зробили висновок, що різниця концентрацій розувастатину, визначених електрохімічним методом та опублікованих виробником, становила

0.10 %-1.10 %, відповідно вихід був в межах 98.6%-101.1%. Також даний метод вирішили порівняти із ВЕРХ-УФ, різниця була в межах 0.10 %-1.10 %. Дана методика володіє рядом переваг, а саме відносно низька вартість, порівняно із хроматографією, простота, менші затрати часу. Даний метод можна використовувати для контролю кількості розувастатину кальцію як в процесі виготовлення, так і в таблетованих лікарських формах [31].

Індійські дослідники працювали над розробкою та валідацією чутливого ОФ-ВЕРХ методу для того, щоб мати змогу одночасно оцінити розувастатин та фенофібрат у таблетках. Використовуючи КПК-детектор, у градієнтному режимі. Розділення проводили на XTerra C18 (4.6 X 150 мм, 5 мкм, марка: Thermosil). В якості рухомої фази став фосфатний буферний розчин, його рН довели до 3.0, додавши ортофосфатну кислоту та метанол (75 %). Для проведення детектування підібрали довжину хвилі 254 нм. Час роботи зайняв 7 хв, а час утримування для розувастатину та фенофібрату становив 1.997 хв і 4.042 хв відповідно. Також встановили, що % вміст для розувастатину мав значення 98.46 %-101.79 %, а для фенофібрату – 98.04 %-101.79 %. Також для кожної речовини була встановлена лінійність, яка для розувастатину спостерігалася в діапазоні концентрацій від 80 до 120 ppm та для фенофібрату від 2.4 до 3.6 ppm. Межа виявлення (LOD) мала наступні показники 0.07 мкг/мл і 0.006 мкг/мл, а також межа кількісного визначення (LOQ) становила 0.23 мкг/мл і 0.02 мкг/мл відповідно. Метод провалідовано згідно рекомендацій ІСН. Встановили, що метод є відтворювальним, точним та специфічним і з легкістю може бути використаним для точного кількісного визначення розувастатину та фенофібрату в таблетованій лікарській формі [32].

У Словенії вчені розробили ультраефективний рідинний метод хроматографії для того, щоб мати змогу одночасно визначити розувастатин та продукти його розпаду, використовуючи дробовий факторний експериментальний дизайн. Метод дозволяє чітко визначити усі можливі продукти розпаду розувастатину. Під час проведення дослідів, оцінювався вплив чотирьох обраних хроматографічних факторів. Розрахункова область методики

моделювалася за допомогою програмного забезпечення Umetrics MODDE. Результати дослідження показали, що основними факторами, які впливають на розділення, є рН буферного розчину та кількість ACN і THF у рухомій фазі. Для двох відомих домішок були визначені межі виявлення та межі кількісного визначення. Важливим є те, що розробку методу проводили без додаткових експериментів, лише враховували відгуки та змінювали статистичну модель. Даний метод є економічно вигідним [33].

Бангладешські науковці працювали над розробкою та валідацією методу обернено-фазової ВЕРХ для визначення стабільності та оцінки якості розувастатину та глібенкламіду. Розділення цих препаратів проводила на C18 (ZORBAX Eclipse Plus 4.6 мм×150 мм, 5 мкм), використовуючи ізократичну рухому фазу, яка складалася з метанолу:ацетонітрилу:0.02 М фосфатного буферного розчину, рН становило 3.0, у співвідношенні (60:20:20об/об/об), також встановили швидкість потоку 1.0 мл/хв з діодним детектором, підібравши довжину хвилі 237 нм. Під час одночасного визначення розувастатину та глібенкламіду спостерігали лінійність в діапазоні концентрацій 5-22 мкг/мл з $r^2=0.999$ та 0.998 . Опираючись на рекомендації ІСН, були застосовані стресові умови, такі як: дія кислот, перекису водню, температура, які вказували на стабільність. Даний метод був використаний для фармацевтичної рецептури (99.29 ± 1.03 % для розувастатину та 99.30 ± 0.13 % для глібенкламіду), а також використовувався для аналізу плазми кроликів, яка була змішана з глібенкламідом та розувастатином (для розувастатину 96.97 ± 0.69 % та 97.68 ± 0.05 % для глібенкламіду). Як висновок, варто зазначити, що даний метод обернено-фазової ВЕРХ є достатньо ефективним та точним і може бути використаним для кількісного визначення як розувастатину так і глібенкламіду або в комбінованому лікарському засобі, або ж в біологічному матеріалі [34].

Вчені Sushma Palvai, Sharath Chandra Seelam, Dhanalakshmi K, Nagarjuna Reddy займалися розробкою та валідацією аналітичного методу для визначення кальцій-споріднених речовин розувастатину, використовуючи обернено-фазову хроматографію. Хроматографічне розділення було досягнуто за допомогою

колонки kromosil C18 250x4.6 мм (5 мкм). Рухома фаза містила суміш розчинників вода:ацетонітрил:метанол:триетиламін, співвідношення яких складало 450:250:350:1. Контроль виділених сполук проводили за довжини хвилі 248 нм, час роботи склав 60 хв. Розроблений метод відокремив дві невідомі домішки та розувастатин кальцію один від одного. В діапазоні між 50-200 % спостерігали лінійність калібрувальної кривої, коефіцієнт кореляції мав значення 0.996 та 0.999, також у ході дослідження визначали % вилучення, який для першої та другої домішки був встановлений на рівні 99.8 та 99.6. Методику провалідовано та вона може використовуватися для ідентифікації виділених невідомих домішок розувастатину кальцію [35].

Сучасне наукове дослідження представили науковці Мехта, Бінні; Джоші, Хірак; Шах, Уяш; Патель, Пінак. Основної метою даної роботи було створення ефективної, швидкої та точної системи ОФ-ВЕРХ, для того, що мати змогу одночасно визначити амлодипін безилат, телмісартан і розувастатин кальцію в суміші. Розділення препаратів проводили на колонці Hiber ODS C18 (150 x 4.6 мм), використали в ролі елюента суміш ацетонітрилу: 0.05 М фосфатного буфера: метилового спирту (40:30:30 об./об.) з 1 мл триетиламіну з рН 3.0, елюент контролювали при 254 нм задля кількісного визначення, швидкість потоку становила 1 мл/хв. В ході дослідження виділені сполуки ідентифіковано на 1.639, 3.064 та 4.213 хвилинах для амлодипіну, телмісартану та розувастатину відповідно. Також визначили лінійність, яка спостерігалася в діапазоні концентрацій 2-10 мкг/мл ($r^2=0.999$), 16-80 мкг/мл ($r^2=0.9972$) і 4-20 мкг/мл ($r^2=0.9976$) для амлодипіну безилату, телмісартану, і розувастатину кальцію відповідно. Результати розробки показали точність в межах від 98.6 до 99.84 %. Методика успішно може використовуватися для кількісного аналізу суміші амлодипіну безилату, телмісартану та розувастатину кальцію, оскільки, довела свою ефективність, точність та селективність [36].

Колективом кафедри неорганічної та аналітичної хімії медичного коледжу Ягеллонського університету була представлена дослідницька робота, яка стосувалася визначення кандесартану, гідрохлортіазиду та розувастатину в

політаблетці, використовуючи хроматографічно-денситометричний метод. В ролі нерухомої фази стали пластини для ТШХ F254, а для рухомої фази використали суміш гексан - етилацетат - метанол - вода – 99.5 % оцтова кислота (8.4:8:3:0.4:0.2 об/об). Хроматограми, які отримали в процесі роботи, володіють задовільним розділенням речовин, що дає змогу оцінити результати в якісному та кількісному аспектах. Лінійність спостерігали в діапазонах концентрацій від 0.048 до 1.824 мг/пляма для кандесартану, від 0.058 до 1.102 мг/пляма для гідрохлортіазиду та від 0.032 до 1.216 мг/пляма для розувастатину, також в межах від 0.9985 до 0.9990 знаходився коефіцієнт кореляції, в залежності від досліджуваної речовини. Точність методу становила від 96.8 % до 101.12 %. Метод довів свою ефективність, високу селективність та чутливість щодо аналізу [37].

Франческа Романа Мамоне, Паола Ротундо та співавтори приділили увагу розробці методу хіміо- та енантіоселективної обернено-фазової ВЕРХ для аналізу розувастатину кальцію, шляхом використання хіральної стаціонарної фази, основу якої складала целюлоза в режимі градієнтного елюювання. Енантіорозділення проводили на колонці Lux Cellulose-2, також використали бінарний лінійний градієнт ацетонітрилу та трифтороцтової кислоти 0.05 % у водному розчині. В процесі дослідження, встановлювали температуру колонки та швидкість потоку рухомих фаз, рівень яких становив 1.0 мл/хв і 40 °С. Якщо порівняти метод градієнтного елюювання та метод ізократичної ВЕРХ, який наявний в Європейській Фармакопеї, можна дійти до висновку, що метод, представлений італійськими науковцями, продемонстрував покращену хіміо- та енантіоселективність, а також значно зменшив час дослідження. Для енантіомерної домішки визначали межі кількісного визначення та виявлення, які мали значення 0.15 та 0.05 мкг/мл [38].

Валідацією та розробкою нового вдосконаленого методу ВЕРХ займалися індійські вчені Джана Каллол та Маханті Бедуїн. Хроматографічне розділення проводили на колонці hermo science C8, 250 x 4.6 мм, розмір частинок становив 5 мкм, а швидкість потоку 1.0 мл/хв. Обов'язково проводили детектування за довжини хвилі 248 нм. В ролі рухомої фази була суміш метанолу: ацетонітрилу: води

(40:40:20, об./об.). Весь час аналізу – 5 хвилин, а час утримування для розувастатину кальцію склав 3.427. Лінійність спостерігали в діапазоні концентрацій 140–260 мкг/мл ($r^2 = 0.999$). Визначення розувастатину становило від 100.18 % до 102.81 %. Метод, запропонований індійськими вченими, є швидким, точним, ефективним, простим, отже, його можна використовувати для оцінки контролю якості розувастатину кальцію в таблетованій лікарській формі [39].

Іспанськими вченими із кафедри аналітичної хімії був розроблений метод міцелярної хроматографії для кількісного визначення трьох статинів: розувастатину, ловастатину та симвастатину у пероральних твердих лікарських формах. Розчинення зразків проводили в рухомій фазі до цільової концентрації, також проводили фільтрування та вводили. Час розчинення усіх трьох статинів склав 30 хв. В якості рухомої фази використали водний розчин 0.10 М додецилсульфату натрію – 7.0 % 1-бутанолу, який забуферели при рН 3 з 0.01М фосфатною сіллю, при ізократичному режимі зі швидкістю 1 мл/хв через C_{18} колонку. Виявлення статинів проводили за довжини хвилі 240 нм. В ході дослідження зробили висновок, що вплив додецилсульфату натрію на силу елюювання мав більше значення, ніж вплив розчинника. Дана методика була успішно провалідована згідно специфічності, лінійності ($r^2 > 0.990$), діапазон калібрування (1.5–15 мг/л для розувастатину, 0.5–10 мг/л для ловастатину та симвастатину), межі виявлення (0.4, 0.2 та 0.15 мг/л для розувастатину, ловастатину та симвастатину). Правильність становила 98.8–101.7 %. Дана методика може використовуватися для кількісного визначення розувастатину, ловастатину та симвастатину в твердих лікарських формах [40].

У Тернопільському національному медичному університеті дослідники займалися розробкою спектрофотометричної методики кількісного визначення розувастатину кальцію в таблетках, із застосуванням бромкрезолового зеленого в ролі сульфоталеїнового барвника. Для розробки методики використовували УФ-видимий спектрофотометр Shimadzu model -UV 1800 (Японія). У ролі розчинника використовували етилацетат, оскільки дотримувалися принципів «зеленої хімії». Максимум поглинання спостерігали за довжини хвилі 405 нм.

Методика була лінійною в діапазоні концентрацій 2.51-20.05 мкмоль/л. Розроблена «зелена» спектрофотометрична методика для кількісного визначення розувастатину кальцію в таблетованій ЛФ, із використанням реакції з бромкрезоловим зеленим, відповідає принципам «зеленої хімії», є екологічною та може бути використаною для аналізу лікарського засобу [41-42].

1.4. Огляд методів аналізу ацетилсаліцилової кислоти

Ацетилсаліцилова кислота є великим відкриттям ХХ століття, вона володіє багатьма властивостями, завдяки яким успішно використовується в сучасному світі для лікування різних захворювань. Саме тому, завжди було зацікавлення до розробки методів ідентифікації та кількісного визначення сполуки. ДФУ містить монографію на субстанцію ацетилсаліцилової кислоти, в якій пропонується визначення субстанції методом абсорбційної спектрофотометрії в інфрачервоній області. Відповідність: ІЧ-спектру ФСЗ ацетилсаліцилової кислоти. Також проведення хімічних реакцій з: 1. натрій гідроксидом та сірчаною кислотою розведеною – кристалічний осад, який пізніше визначають за температурою плавлення від 100 °С до 105 °С; 2. кальцій гідроксидом та фільтрувальним папером, просоченим розчином нітробензальдегідом – зеленувато-блакитне або зеленувато-жовте забарвлення паперу, додавши розведену хлористоводневу кислоту – блакитне забарвлення паперу. Для кількісного виявлення препарату ДФУ пропонує метод рідинної хроматографії. У склад рухомої фази входять фосфатна кислота Р - ацетонітрил Р для хроматографії - вода Р (2:400:600). Нерухома фаза складається з силікагелю для хроматографії октадецилісного Р (5 мкм). Довжина хроматографічної колони 0.25 м × 4.6 мм, швидкість рухомої фази 1 мл/хв. Детектування проводять спектрофотометрично за довжини хвилі 237 нм [43].

Також ДФУ пропонує кількісне визначення ацетилсаліцилової кислоти в таблетках методом абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій області (2.2.25, метод стандарту). Готують випробуваний розчин та розчин порівняння (ФСЗ ацетилсаліцилової кислоти). У ролі компенсаційного розчину

використовують етанол 96 %. Вимірюють оптичну густину випробовуваного розчину та розчину порівняння за довжини хвилі 275 нм відповідно до компенсаційного розчину. Вміст ацетилсаліцилової кислоти в таблетках розраховують у перерахунку на середню масу таблетки, виходячи із заявленого вмісту ацетилсаліцилової кислоти в ФСЗ ацетилсаліцилової кислоти [44].

Європейська фармакопея регламентує таку ж саму методику ідентифікації та кількісного визначення ацетилсаліцилової кислоти як і ДФУ, адже ДФУ є повністю гармонізована з Європейською фармакопеєю.

Фармакопея США також містить монографію на визначення аспірину в таблетках. Для ідентифікації використовують ВЕРХ з УФ-детектуванням. Для кількісного визначення використовують хроматографічну колонку 4.0-мм × 30-см; packing L1, рухома фаза - 2 г/л 1-гептансульфонату натрію в суміші ацетонітрилу та води (15:85). Як розчинник використовують ацетонітрil і мурашину кислоту (99:1). Швидкість потоку рухомої фази – 2 мл/хв. Довжина хвилі - УФ 280 нм [45].

Єгипетські вчені з Мансури Ель-Масрі, Амаль А. Зейд, Абдалла працювали над дослідженням одночасного визначення аспірину та вонопрозану з використанням реакції нуклеофільного заміщення та оцінкою «зеленості» й «білизни». Основною метою проведення дослідження було створити екологічний, безпечний та чутливий метод аналізу нанограм аспірину та вонопрозану. Використовували дві комбіновані методики. Перша спеціалізувалася на визначенні нативної флуоресценції аспірину за довжини хвилі 405 нм після збудження 295 нм. Друга базувалася на дериватизації вонопрозану з використанням NBD-Cl (4-хлоро-7-нітробензофуран), використовуючи нуклеофільне заміщення електроактивного хлориду у флуорогенному реагенті (NBD-Cl) вторинним аміном у вонопрозані (VPZ) для того, щоб в подальшому отримати NBD-VPZ (високофлуоресцентного) флуора, який можна було б визначити за довжини хвилі 537 нм після збудження за довжини хвилі 465 нм без жодної дії аспірину. Запропонований метод показав лінійність у таких діапазонах концентрацій: 5.0–200.0 нг/мл для вонопрозану

(ВПЗ) та 2.0–100.0 нг/мл для аспірину(ASP). Зеленість та білизна оцінювалися з використанням моделей AGREE ,GAPI та RGB12. Опіраючись на результати досліджень, дійшли висновку, що метод аналізу є прийнятним та може бути використаним у аналітичних лабораторіях для оцінки та контролю якості [46].

Науковці з Університету короля Халіда займалися розробкою «зеленої» спектрофлуориметричної кількісної оцінки аспірину, олмесартану та метопрололу в плазмі людини. Аспірин, олмесартан, метопролол мали такі довжини хвиль збудження 404 нм/290 нм, 372 нм/250 нм та 302 нм/230 нм. У ході дослідження фіксували результати, нативні спектри флуоресценції аспірину та олмесартану збігаються, а ось спектри метопрололу не збігаються зі спектрами аспірину або олмесартану. Метопролол виміряли в суміші за довжини хвилі 302 нм після збудження при 230 нм. Для визначення олмесартану при 364 нм без впливу аспірину та метопрололу застосували синхронну флуоресцентну спектрометрію при $\Delta\lambda = 110$. Внаслідок поєднання синхронної флуоресцентної спектрометрії з похідною другого порядку визначили аспірин за довжини хвилі 426 нм без втручань з боку олмесартану та метопрололу. Методика була провалідована та може бути використана для кількісного визначення досліджених ліків у плазмі людини з достатньою точністю. Важливим є те, що за допомогою використання Green Analytical Procedure Index та Analytical GREENness встановили, що методика має високу оцінку зеленості [47].

В Олександріївському університеті науковці кафедри фармацевтичної хімії, доклали великих зусиль для розробки шести точних, швидких й простих спектрофотометричних і хроматографічних методик для одночасного визначення аспірину та омепразолу. Перша методика представляє використання методу одночасних рівнянь Вієрорда. Друга методика використовує першу похідну спектрофотометрію, використовуючи техніку переходу через нуль. Для третього методу застосували похідну спектрофотометрію співвідношення спектрів, аспірин та омепразол визначали за допомогою вимірювання амплітуд за 285.5 і 265 нм. У четвертому методі опиралися на принципі співвідношення-різниці, використовуючи вимірювання амплітуд від піку до мінімуму між 275 і 254.5 нм і

між 255 і 275 нм для того, щоб визначити аспірин та омепразол. Методика п'ята базувалася на використанні методу високоефективної тонкошарової хроматографії із застосуванням пластини із силікагелю 60 F 254, рухома фаза представлена сумішшю хлороформ: метанол (93:7, за об'ємом). В останньому, шостому методі, використали метод високоефективної рідинної хроматографії з діодним детектуванням. За допомогою колонки C18 і рухомої фази, яка складається із суміші 0.05 М динатрію гідрофосфату (рН 3) і ацетонітрилу (60:40, за об'ємом), було проведено хроматографічне розділення. Усі шість методик мали схвалення й були підтвержені міжнародною радою з гармонізації технічних вимог до фармацевтичних препаратів для людини. Методики можуть використовуватися для одночасного визначення досліджуваних лікарських засобів у синтетичних сумішах і лабораторних таблетках [48].

У журналі «Хроматографічні науки» вчені Фатхалла Ф. Белал, Мохі К. Шараф Ель-Дін, Манар М. Толба, Геба Ельмансі опублікували дослідження, яке стосувалося застосування похідних спектрофотометричних та рідино-хроматографічних методів для одночасного визначення метоклопраміду гідрохлориду та аспірину в препаратах. Розробили два методи, перший – залежить від амплітуд першої похідної за довжини хвилі 257 нм для метоклопраміду (MET) та 310 нм для аспірину (ASP). Лінійність калібрувальних графіків спостерігалася в діапазоні концентрацій 0.25–20.0 мкг/мл для MET і 10.0–200.0 мкг/мл для ASP. При використанні другого методу хроматографічне дослідження проводили з використанням колонки Promosil C 18 (250 × 4.6 мм внутр., розмір частинок 5 мкм). У склад рухомої фази входили: метанол та 0.02 М фосфатний буфер у співвідношенні 60:40 (об'єм/об'єм) при рН 4,0, її подавали зі швидкістю потоку 1 мл/хв з УФ-детектуванням за довжини хвилі 260 нм. Індапамід був у ролі внутрішнього стандарту. Метод продемонстрував хорошу лінійність у діапазонах концентрацій 0.20–10.0 та 10.0–200.0 мкг/мл з межами виявлення 0.06, 1.81 мкг/мл та межами кількісного визначення 0.17, 5.46 мкг/мл для MET та ASP відповідно. Результати двох методів порівняли з результатами, які були отримані за допомогою методу Фармакопеї США, відповідно виявили

несуттєві відмінності щодо їх точності та прецизійності. Методики успішно використовували для дослідження бінарних сумішей метоклопраміду і аспірину у таблетках [49].

Індійські вчені опублікували статтю в «Індійському фармацевтичному журналі» присвячену розробці альтернативного УФ-спектрофотометричного аналітичного методу для визначення стабільності для аспірину в таблетках. Дослідження проводили за допомогою алгоритму часткового калібрування за методом найменших квадратів. Метод володіє специфічністю щодо визначення аспірину, а також його основного продукту метаболізму – саліцилової кислоти в таблетках методом ультрафіолетової спектрофотометрії. Використовуючи калібрувальну матрицю, необхідно мати 13 бінарних розчинів. У першому методі спостерігали лінійність від 30 до 70 мкг/мл для аспірину та від 0 до 40 мкг/мл для саліцилової кислоти. Метод пройшов валідацію відповідно до рекомендацій Міжнародної ради з гармонізації. Метод є точним, надійним та може бути використаний для контролю якості нової продукції [50].

Наукова спільнота кафедри фармацевтичної хімії в Індії займалася розробкою одночасного спектрофотометричного визначення синтетичної суміші аспірину та езомепразолу магнію, використовуючи метод коефіційної похідної. Метод має залежність від першої похідної відношення спектрів шляхом вимірювання амплітуд при 221 нм для ацетилсаліцилової кислоти та 291 нм для езомепразолу магнію. У даній методиці аналітичні сигнали фіксували на довжинах хвиль, що відповідають або мінімумам, або максимумам препаратів. Як розчинник використали метанол. Лінійність спостерігалася в межах концентрацій: для аспірину 20-50 мкг/мл та 5-30 мкг/мл для езомепразолу магнію. Метод має великі перспективи щодо застосування, з метою одночасного визначення речовин в фармацевтичних препаратах [51].

Саху Суканья, Кумарі Хусбу, Мудулі Ніхар Ранджан, Мохарана Алок Кумар працювали над розробкою УФ-спектрофотометричної методики для визначення куркуміну та аспірину з суміші. У методі максимальна довжина хвилі становила 227 нм та 427 нм відповідно для аспірину та куркуміну з етанолом.

Лінійність спостерігали в діапазоні концентрацій 2–12 мкг/мл для аспірину та 1–6 мкг/мл для куркуміну. Для аспірину та куркуміну коефіцієнт кореляції мав однакове значення – 0.999. Встановили, що вміст речовин був вище 95 %. Внутрішньоденна та міжденна точність були в межах норми для двох речовин (RSD <2). Метод показав свою точність, простоту та ефективність, тому може бути використаним для аналізу даних речовин [52].

Кожного року в Індії проводиться близько двох тисяч операцій на серцево-судинні захворювання, кількість хворих становить приблизно 30 мільйонів. Був створений препарат «YOSPRALA», в склад якого входять аспірин та омепразол. Вчені з Індії займалися розробкою аналітичного методу з використанням УФ-спектрофотометрії для одночасного визначення цих двох діючих речовин, як розчинник використовували метанол. Максимальне поглинання аспірину спостерігали за довжини хвилі 224 нм та 251.8 нм для омепразолу. Діапазон лінійності становив для аспірину 5-25 мкг/мл з коефіцієнтом регресії 0.99, та 1-8 мкг/мл з коефіцієнтом регресії 0.992 для омепразолу. Методика перевірялася на точність, % RSD був менше 15 % для аспірину та омепразолу. Результати стандартного відхилення, коефіцієнта дисперсії, відносного стандартного відхилення були в межах норми. Встановили, що метод є економічно вигідним та точним і може використовуватися для аналізу сполук у фармацевтичних засобах [53].

Українські науковці Криськів Л.С. та Блажеєвський М. Є. працювали над розробкою кінетичного спектрофотометричного визначення ацетилсаліцилової кислоти (ASA) у модельних розчинах та в препараті «АЦЕЛІЗИН-КМП». Суть методики полягала в індикаторній реакції каталітичного окиснення п-фенетидину пероксидом водню, використовуючи слабколужне середовище. Продукти гідролізу та наявні компоненти не впливали на визначення ацетилсаліцилової кислоти. Лінійну залежність на калібрувальному графіку для аспірину спостерігали в діапазоні 12 - 180 мкмоль/л. Значення межі кількісного визначення дорівнювала 12 мкмоль/л. Для п'яти визначень 44 мкмоль/л, 88 мкмоль/л і 130 мкмоль/л ASA відтворюваність має RSD 1.18, 1.06 і 0.76 %.

Відповідно до цього, представлений метод є більш простим та чутливим відносно відомих. Вихід для лікарської форми «АЦЕЛІЗИН-КМП» становив $98.95 \pm 1.32\%$ АСК. Методика є прийнятною для використання в аналітичних лабораторіях та підприємствах [54].

Вченими із Малазії розроблено метод високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ), для одночасного визначення аспірину та клопідогрелю. Для досліду використовували колонку 5 мкм А Phenomenex Gemini C-18, з внутрішнім діаметром 250 мм x 4.6 мм. в ізократичному режимі. Джерелом рухомої фази був буферний розчин 0.3 % ортофосфорна кислота: ацетонітрил (65:35, об./об.). Швидкість потоку становила 1 мл/хв, а контроль ефлюентів здійснювали при 266 нм. Для визначення лінійності отримали криву, яка складалася з семи точок, лінійність спостерігали в діапазоні концентрацій від 0.030 до 0.120 мг/мл для аспірину та 0.015 – 0.060 мг/мл для клопідогрелю з коефіцієнтом кореляції 0.9999. У методиці, методом ВЕРХ, було перевірено стабільність для комбінації речовин, шляхом спільного розкладання ліків за різних несприятливих умов, основними з яких є кислотний гідроліз, окислення, основний гідроліз та термічний стрес, що рекомендовано настановою ІСН [55].

Індійськими вченими були розроблені три методи УФ-спектроскопії для одночасного визначення ралоксифену та аспірину у лікарській формі та оцінка «білизни» й «зеленості» трьома методами: ComplexGAPI, AGREE та RGB. У першій методиці застосували методологію одночасного рівняння для ралоксифену за довжини хвилі 285 нм і аспірину – 222 нм. Другий метод містив площу під кривою, що працює за довжини хвилі (280–290) нм для ралоксифену та (217–227) нм для аспірину. Метод третій базувався на методі першої похідної для ралоксифену за довжини хвилі 269 нм і аспірину за довжині хвилі 216 нм. Методика була лінійною в діапазоні концентрацій 2–14 мкг/мл для кожного із трьох методів. Опрацьовані методи були валідовані згідно з рекомендаціями ІСН. Представлені методи мали практичне застосування в аналізі для одночасного визначення ралоксифену та аспірину без попередньої екстракції [56].

Науковцями з Єгипту запропоновано чутливий метод RP-HPLC для визначення метокарбамолу (MET) і аспірину(ASP), а також їх споріднених речовин (гвайфенезин (GUA) і саліцилову кислоту (SAL)). На дослідження взяли порошки, виготовлені у лабораторії, в сумішах та комбінованих таблетках MET-ASP. Уже за 9 хв досягнули хроматографічного розділення на колонці C 18 із використанням ізократичної системи елюювання, в склад якої входили розбавлена оцтова кислота (рН 3.2): ацетонітрил у співвідношенні 79:21, об./об, при швидкості потоку 1 мл/хв. Виявлення досягнули, використовуючи матрицю фотодіодів при 233 нм для MET, GUA та SAL і при 273 нм для ASP. Відповідно до рекомендацій ІСН, метод було провалідовано, а лінійність спостерігали в діапазоні концентрацій 2–150, 0.4–30, 25–450 та 0.2–27 мкг/мл для метокарбамолу, гвайфенезину, саліцилової кислоти, аспірину відповідно. Метод є достатньо точним для контролю якості досліджуваних речовин у фармацевтичних препаратах, щоб пересвідчитись, що споріднені сполуки даних речовин не переважають меж, зазначених у фармакопеї [57].

Родріго Сенс да Сілва і Ендлер Марсель Борхес запропонували кількісне визначення аспірину в таблетках, використовуючи планшетний сканер. За допомогою колориметричного методу визначали масу ацетилсаліцилової кислоти у таблетках. Відомо, що саліцилова кислота, ацетилсаліцилова кислота та саліцилат не поглинають видиме світло. Під час проведення гідролізу в лужному середовищі аспірин прогідролізував до саліцилату, пізніше він вступив в реакцію з кислим розчином Fe(III) хлориду і утворився фіолетовий комплекс. Кількісне визначення проводили із застосуванням абсорбції, яку вимірювали за довжини хвилі 535 нм (стандартний метод) та цифрових зображень, які були отримані завдяки планшетному сканеру (пропонований метод). Результати обох методів порівняли за допомогою F-критерію та t-тесту. Два методи демонстрували еквівалентну точність. Також односторонній дисперсійний аналіз показав, що маси аспірину, які знайшли, використавши два вище описані методи, є еквівалентними на рівні достовірності 95 %. В даному методі зразки поміщали в 96-мікролунковий планшет, а значення RGB отримали автоматично з усіх

використаних лунок, використавши плагін ImageJ «ReadPlate», менше ніж за 5 хв. Дані дослідження систематизували за допомогою електронної таблиці. Методика є зручною та ефективною і з легкістю може використовуватися в будь-якій лабораторії [58].

Вченими з Туреччини був запропонований метод одночасного визначення аскорбінової кислоти, парацетамолу, ацетилсаліцилової кислоти в таблетках ультрависокопродуктивною рідинною хроматографією UPLC. Дані методики оброблялися за допомогою алгоритмів PCR і PLS для сумісного визначення аскорбінової кислоти, парацетамолу та аспірину. Найменші часткові квадрати PLS та регресія основного компонента ПЛР були використані до співвідношення площі піку аналітів/внутрішнього стандарту при відповідях багатохвильового детектора PDA. Комбінація методів UPLC і хемометричного калібрування позначалася як UPLC-PCR і UPLC-PLS. Використавши колонку Waters ACQUITY UPLC BEH Phenyl 100 мм x 1.0 мм із внутрішнім діаметром 1.7 мкм, досягнули хроматографічне розділення між речовинами. У склад рухомої фази входили 0.1 М розчин оцтової кислоти і метанолу 75:25, об./об. Багатохвильове визначення PDA для аскорбінової кислоти, парацетамолу, аспірину виконували шляхом вимірювання площі піку на довжині хвилі, що відповідає таким довжинам хвиль 245, 250, 255,0, 260,0, 265, 270, 275 і 280 нм. Представлені методи UPLC-PCR та UPLC-PLS отримали підтвердження за допомогою синтетичних сумішей, а також міжденних і внутрішньоденних експериментів. Методики були використані для дослідження представлених речовин у наявних препаратах [59].

Дослідники з Індії займалися розробкою УФ-спектрофотометричного методу та застосуванням хемометричної конструкції до розробленого методу, щоб одночасно кількісного визначити аторвастатину кальцію (ATR) та аспірин (ASP) в інтактній капсулі без подальшої екстракції. Для аторвастатину та аспірину в ролі розчинника використали метанол. Дані, які отримали із спектрів поглинання, одержали за допомогою двох хемометричних моделей, які опиралися на принципах методу аналізу лінійної регресії (LRC) і методу матриці

Краммера (CRM). Обрані для аналізу довжини хвиль мали значення 245 нм (довжина хвилі максимального поглинання λ_{\max} ATR) і 275 нм (довжина хвилі максимального поглинання λ_{\max} ASP). Отримавши результати, зробили висновок, що кожен із двох методів проявляв хорошу лінійність для ATR в діапазоні 4-20 мкг/мл і для ASP в діапазоні 20-120 мкг/мл зі значеннями коефіцієнта регресії 0.9999 та 0.9991 відповідно. Внутрішньоденна та міжденна точність становила менше 2 % RSD, а відсоток вмісту був в межах 100.1-102.65 для аторвастатину кальцію та 99.95-101.15 для аспірину для обох методів. Досліджені методи не вимагають масових процедур розділення та складних процедур дериватизації для дослідження двох сполук й можуть бути використані для аналізу аторвастатину та аспірину в препаратах [60].

1.5. «Зелена хімія» в розробці нових аналітичних методик

У сучасних реаліях життя хімічні науки й промисловість досягнули великого розвитку, завдяки їм людство отримує ліки, продукти промислового виробництва та покращення умов життя. Але, на жаль, як із позитивними внесками вони принесли і негативні. Ще з 1940-х років почали виникати серйозні проблеми з екологією. Техногенні катастрофи в Чорнобилі, Бхопалі, великі витрати на ліквідацію забруднень довкілля стали пусковим механізмом для розробки підходів щодо мінімізації проблем від хімії. В 1949 році на Науковій конференції Організації Об'єднаних Націй зі збереження та використання ресурсів (UNSCCURE) у США почали активно обговорювати проблеми екології, уже в 1968 році проблеми екології вивчалися на Біосферній конференції. В 60-х роках 20-го століття вийшла книга «Тиха весна», яка наділила населення інформацією про ставлення до екології, донесла її цінність та важливість. У сучасній історії хімії відкривається новий етап, який стосується напрямку «зеленої» або «екологічної» хімії. Вперше поняття «зелена хімія» представив Кеткарт в 1990 році в назві статті. Але лише публікація Анастаса і Вільямсона в 1996 році підійшла до принципів «зеленої хімії», які мали раціональне підґрунтя до розвитку цієї ідеї. «Зелена хімія» - це науковий напрямок, який охоплює

рішення щодо запобігання забруднення навколишнього середовища. Основною метою впровадження «зеленої хімії» є вибір таких матеріалів та технологій, для яких не використовують токсичні речовини та забезпечується безпека довкіллю. Перший посібник із «зеленої хімії» видали в 1998 році Пол Анастас і Джон Уорнер, в якому вони запропонували 12 принципів «зеленої хімії»:

1. Краще запобігти утворенню відходів, аніж працювати над переробкою їх після утворення.

2. Потрібно вибирати в роботі методи синтезу такі, в яких вихідні матеріали максимально переходили б у кінцевий продукт.

3. Обирати такі методи синтезу, щоб і вихідні речовини, і кінцеві продукти мали якомога менш шкідливий вплив на екологію та здоров'я людини.

4. Дизайн безпечних хімічних речовин і продуктів.

5. Потрібно використовувати нетоксичні розчинники.

6. Хімічні реакції проводити при кімнатній температурі.

7. У роботі потрібно використовувати сировину, яка відновлюється, щоб не виснажувати природу.

8. Потрібно уникати хімічних похідних.

9. Краще використовувати каталізатори для мінімізації відходів, ніж стехіометричні реагенти.

10. Дизайн хімічних речовин повинен запобігати їх шкідливому розкладанню та накопиченню в довкіллі.

11. Необхідно розвивати методики так, щоб була можливість відстежувати в реальному часі за утворенням токсичних сполук.

12. Обираючи хімічні речовини, обов'язково потрібно звертати увагу на те, щоб ризик виникнення хімічних небезпек був мінімальним.

Опрацювавши інформацію варто зробити висновок, що нарешті у людства з'явилися хороші перспективи щодо екологічної, «зеленої хімії», оскільки вона – це наше майбутнє, це безпека для людей та довкілля. Якщо люди будуть робити так, як звикли, то й будуть отримувати те, що завжди отримують [61-65].

Висновки до розділу 1

1. Одночасне поєднання розувастатину та ацетилсаліцилової кислоти в одній лікарській формі призводить до синергетичного ефекту, підсилюючи дію один одного у профілактиці атеросклерозу та його ускладнень, а також у зниженні ризику серцево-судинних захворювань, таких як інфаркт міокарда та інсульт. Комбінована терапія розувастатином та ацетилсаліциловою кислотою є зручною для пацієнтів, оскільки, вони можуть приймати обидва препарати одночасно, що спрощує режим лікування.

2. Провівши аналіз методик розроблених різними науковцями щодо визначення розувастатину кальцію та ацетилсаліцилової кислоти, ми прийшли до висновку, що найчастіше в аналізі даних речовин дослідники використовують методи хроматографії та спектрофотометрії.

3. Оскільки широкого використання набувають комбіновані лікарські форми, то актуальним на сьогодні є пошук і розробка нових і удосконалення існуючих методів визначення окремих інгредієнтів в даних препаратах.

РОЗДІЛ 2

АНАЛІЗ ОБ'ЄКТІВ І МЕТОДІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Для того щоб кількісно дослідити ацетилсаліцилову кислоту та розувастатин кальцію в капсулах перевагу надали методу УФ-спектрофотометрії, оскільки спектрофотометрія характеризується багатьма перевагами стосовно інших методів кількісного визначення речовин. Практичне підтвердження та валідація процедури є необхідними для перевірки теоретичних аспектів розробки спектрофотометричної методики. Для регулювання та чіткого здійснення робочих операцій створили дизайн експерименту, який представлено на рис. 2.1. У відповідності з ним дослідження включає в себе перегляд та вивчення наукової літератури, в результаті чого проводили підбір оптимальних умов дослідження, розробку та проведення методів спектрофотометричного визначення, валідацію розробленого методу та демонстрацію, що методи відповідають принципам «зеленої хімії».



Рисунок 2.1 – Дизайн експерименту

2.1. Фізико-хімічні властивості досліджуваних об'єктів

Монографії на розувастатин кальцію містяться у фармакопеях Європейській та Сполучених Штатів Америки. Відповідно до хімічної будови розувастатин кальцію – це кальцію біс-(Е,3R,5S)-7-[4-(4-фторфеніл)-2-[метил-(метилсульфоніл)аміно]-6-пропан-2-ілпіримідин-5-іл]-3,5-дигідроксигепт-6-еноат. Структурна формула його зображена на рис. 2.2. У молекулі даної лікарської речовини співвідношення аніонів розувастатину до катіонів кальцію становить один до двох [14]. Хімічна структура представленого гіполіпідемічного засобу складається з карбоксильної і сульфамідної груп, органічно зв'язаного атому фтору, двох вторинних спиртових гідроксилів, бензенового та піримідинового циклів, іону кальцію і ненасиченого зв'язку. Приналежність даного препарату до другого типу статинів пояснюється наявністю фторфенільного радикалу в його хімічній структурі, який сприяє утворенню стійких зв'язків з ГМК-Коа-редуктазою. За рахунок наявності в розувастатині фрагменту гептанової кислоти пришвидшується гіполіпідемічний ефект лікарського засобу [7-8].

За фізико-хімічними властивостями розувастатин кальцію – майже білий або білий кристалічний, гігроскопічний порошок. Розчинність: слабозчинний у воді, легкорозчинний у метиленхлориді, практично нерозчинний у безводному етанолі [14].

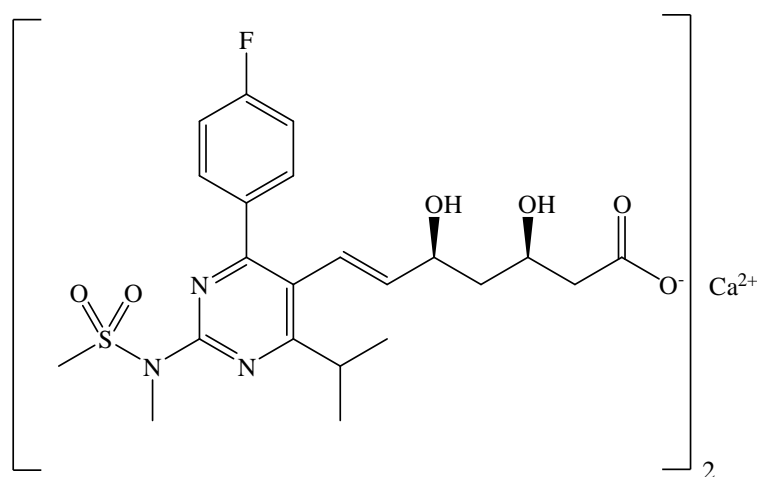


Рисунок 2.2 – Хімічна формула розувастатину кальцію



$$\text{pK}_a = 4.6; \text{LogP} = 4.3$$

Ацетилсаліцилова кислота за хімічною будовою є 2-(ацетилокси)-бензойною кислотою. За фізико-хімічними властивостями це – білий або майже білий кристалічний порошок або безбарвні кристали (рис. 2.3). Легко розчинна в етанолі 96 %, мало розчинна у воді. Плавиться за температури 143°C [43].

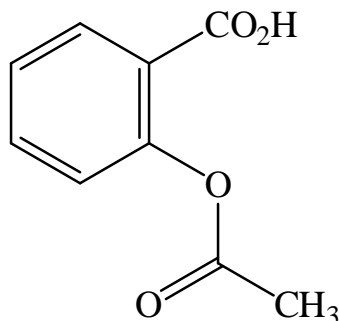
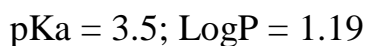


Рисунок 2.3 – Хімічна формула ацетилсаліцилової кислоти



Для здійснення кількісного спектрофотометричного дослідження використали капсули Аспіроза по 10мг/100мг (розувастатин/ацетилсаліцилова кислота) («Адамед Фарма С.А.», Польща) серія № 13024505, а також фармакопейні стандартні зразки ацетилсаліцилової кислоти («Sigma Aldrich», $\geq 98\%$, HPLC), розувастатину кальцію («Sigma Aldrich», $\geq 98\%$, HPLC).

2.2. Методики дослідження

Проаналізувавши різні літературні джерела щодо вибору оптимальних аналітичних методів ідентифікації та кількісного визначення ацетилсаліцилової кислоти та розувастатину кальцію разом у капсулі, обрано методи спектрофотометрії в УФ-ділянці та видимій ділянці спектра.

Для реалізації обраних методів дослідження визначуваних речовин обрали такі обладнання та реактиви:

- електронні лабораторні ваги “RAD WAG AS 200/C”;
- японський спектрофотометр двопробеневий “ Shimadzu UV-1800”;
- орбітальний шейкер “ IKA KS4000i”;
- кювети кварцові товщиною 1 см;
- посуд мірний класу А;

- UV-Probe 2.62-програмне забезпечення, щоб аналізувати спектри поглинання;
- метанол Р («Honeywell Riedel-de Haen», 99.9 %).

Реактиви, які використовували в ході експерименту, відносяться до групи аналітичних реагентів. Обробку статистичних даних, а також оцінку валідаційних характеристик здійснювали відповідно до вимог ДФУ [66].

2.3. УФ-спектрофотометрична методика одночасного визначення ацетилсаліцилової кислоти і розувастатину кальцію в капсулах Аспіроза

Приготування випробовуваного розчину вмісту капсул для кількісного визначення ацетилсаліцилової кислоти і розувастатину кальцію. Точну наважку капсульної маси еквівалентну 10.40 мг ацетилсаліцилової кислоти і 37.75 мг розувастатину кальцію вносять у мірну колбу об'ємом 100.00 мл і розчиняють у 60 мл метанолу Р та доводять розчинником до мітки, перемішують і фільтрують. Беруть мірну колбу об'ємом 10.00 мл та відбирають аліквоту 1.00 мл, доводять метанолом Р до мітки і перемішують.

Приготування випробовуваного розчину ФСЗ розувастатину кальцію. Точну наважку субстанції розувастатину кальцію еквівалентну 37.75 мг переносять у колбу на 100.00 мл і розчиняють у 60 мл метанолу Р та доводять до мітки розчином метанолу Р, перемішують і фільтрують. Відбирають аліквоту 1.00 мл у колбу на 10.00 мл, доводять метанолом Р до мітки та перемішують.

Приготування випробовуваного розчину ФСЗ ацетилсаліцилової кислоти. Точну наважку субстанції ацетилсаліцилової кислоти еквівалентну 20.8 мг переносять в колбу на 100.00 мл і розчиняють у 60 мл метанолу Р та доводять до мітки розчином метанолу Р, перемішують і фільтрують. Відбирають аліквоту 0.50 мл у колбу на 10.00 мл, доводять метанолом Р до мітки та перемішують.

Проводять реєстрацію поглинання одержаних розчинів, застосовуючи як компенсаційний розчин метанол Р, за довжини хвилі 227 нм – для ацетилсаліцилової кислоти та 251 нм – для розувастатину кальцію.

РОЗДІЛ 3

РОЗРОБКА ТА ВАЛІДАЦІЯ УФ-СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНОЇ МЕТОДИКИ ОДНОЧАСНОГО КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ АЦЕТИЛСАЛІЦИЛОВОЇ КИСЛОТИ І РОЗУВАСТАТИНУ КАЛЬЦІЮ В КАПСУЛАХ АСПІРОЗА

3.1. Розробка УФ-спектрофотометричної методики одночасного визначення ацетилсаліцилової кислоти і розувастатину кальцію в капсулах Аспіроза

У ході експерименту, було розроблено УФ-спектрофотометричну методику одночасного кількісного визначення ацетилсаліцилової кислоти і розувастатину кальцію в лікарському засобі. Відповідно до методики, для здійснення аналізу застосували капсули Аспіроза та розчин матанолу Р, який виступав у ролі компенсаційного розчину.

Під час розробки методики був отриманий УФ-спектр поглинання метанольного випробовуваного розчину капсул Аспіроза ($C(\text{розувастатину}) = 37.75$ мкг/мл, $C(\text{ацетилсаліцилової кислоти}) = 10.4$ мкг/мл), зображений на рис. 3.1. Максимальна довжина хвилі поглинання для розувастатину кальцію – 251 нм, для ацетилсаліцилової кислоти – 227 нм, які співпадали з максимумами поглинання ФСЗ ацетилсаліцилової кислоти та ФСЗ розувастатину кальцію відповідно, що також представлені на рис. 3.1.

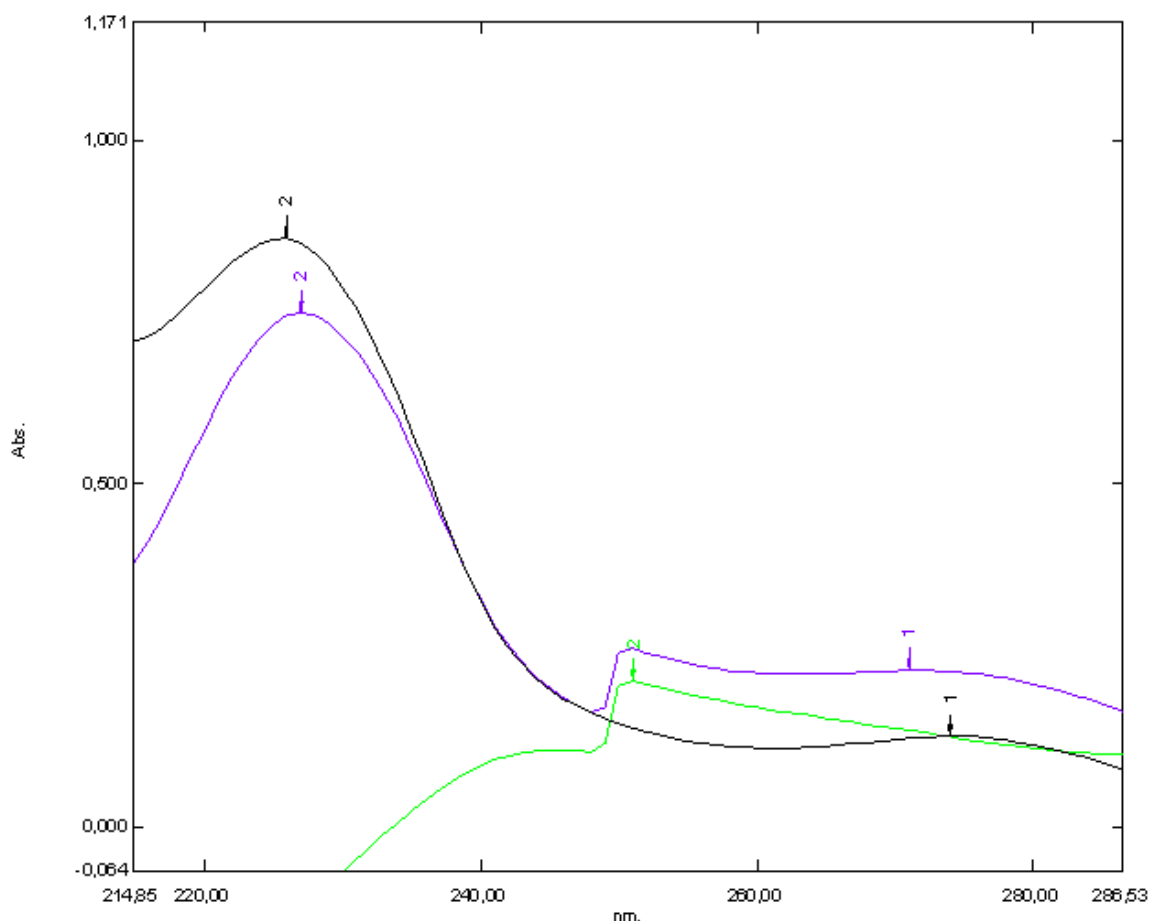


Рисунок 3.1 – Абсорбційні спектри поглинання: ФСЗ ацетилсаліцилової кислоти (чорний), ФСЗ розувастатину кальцію (салатовий), випробовуваного метанольного розчину капсул Аспіроза (синій).

Під час одночасного спектрофотометричного визначення лікарського засобу Аспіроза ми зауважили, що важливим параметром досліджуваних розчинів є стабільність у часі. Даний параметр дозволяє підтвердити, чи буде методика підходящою для тривалого експерименту. У разі виявлення нестабільності досліджуваних речовин робота над розробкою методики стане неможливою, тому для досягнення стабільності варто буде додати стабілізатори.

Вивчали стабільність досліджуваних розчинів упродовж 120 хв. Згідно з отриманими результатами, дійшли до висновку, що стабільність розчинів зберігалася протягом виділеного часу. Залежність оптичної густини від часу для розувастатину кальцію і ацетилсаліцилової кислоти зображено на графіках представлених відповідно на рис. 3.2. і 3.3.

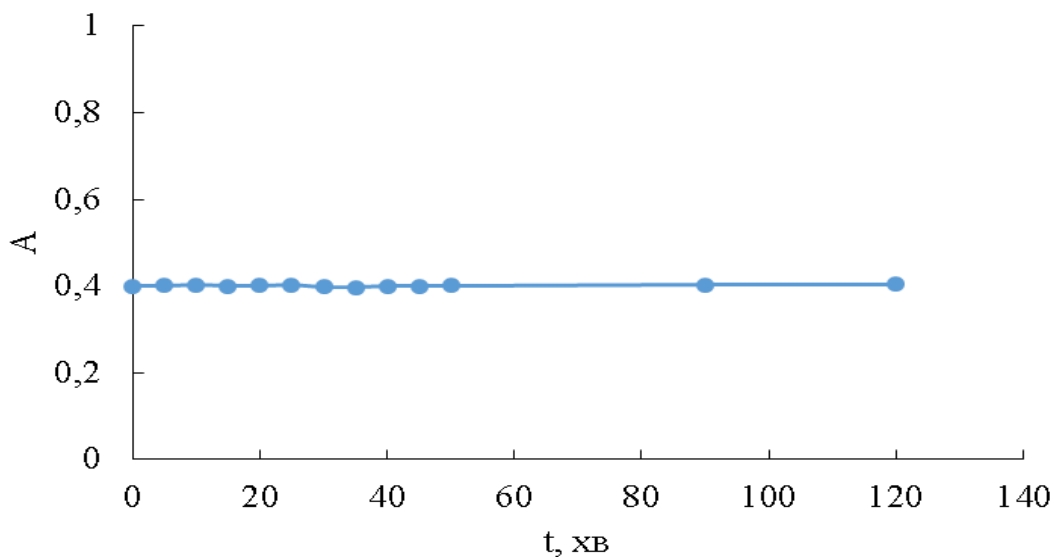


Рисунок 3.2 – Залежність оптичної густини від часу для розувастатину кальцію

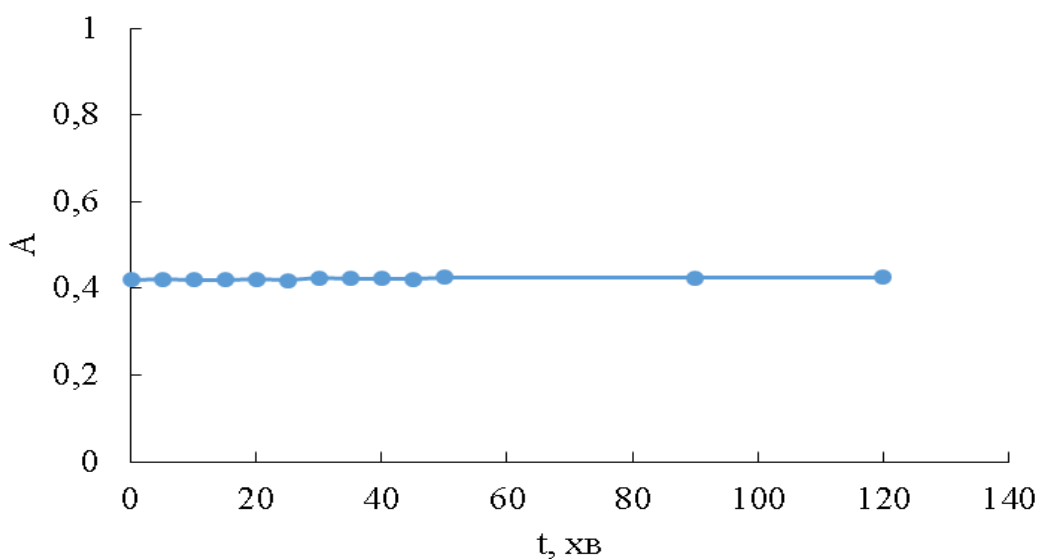


Рисунок 3.3 – Залежність оптичної густини від часу для ацетилсаліцилової кислоти

Представлена методика дозволяє проводити одночасне кількісне визначення визначуваних речовин у лікарських комбінаціях, а втім вона є безпечною, точною, зручною та простою у проведенні, швидкою та економічно вигідною. Важливим плюсом методики є те, що для неї не потрібно застосовувати регуляторів рН, реагентів, а також буферних розчинів.

3.2. Повна невизначеність методики

Для підтвердження коректності аналізу розраховують невизначеність пробопідготовки. Показник $\Delta_{FAO} = 0.7 \%$, але при врахуванні значення 0.7% Δ_{SP} дорівнюватиме 1.069% . Відповідно до цього не будуть задовільнятися межі невизначеності. Використовуючи спектрофотометр «Shimadzu UV-1800» варто зазначити, що невизначеність становитиме 0.4 . Враховуючи $\Delta_{FAO} = 0.4 \%$, Δ_{As} (повна невизначеність методики) має значення 2.57% , яке входить в рамки невизначеності – 3.2% .

Саме в 1 і 5 операціях, при взятті аліквоти, реєструється найбільша невизначеність. Результати наведено у таблиці 3.1.

Таблиця 3.1

Невизначеність пробопідготовки для кількісного визначення ацетилсаліцилової кислоти і розувастатину кальцію в капсулах Аспіроза

Певна операція пробопідготовки	Параметр формули розрахунку	Невизначеність, %
Розчин порівняння ацетилсаліцилової кислоти		
1) взяття наважки ФСЗ ацетилсаліцилової кислоти	m_0	$0.2 \text{ мг}/20.8 \text{ мг} \times 100 \% = 0.96$
2) доведення до мітки в мірній колбі на 100.00 мл	100.00	0.17
3) взяття аліквоти піпеткою 1.00 мл	1.00	0.57
4) доведення до мітки в мірній колбі на 10.00 мл	10.00	0.23
Розчин порівняння розувастатину кальцію		
5) взяття наважки ФСЗ розувастатину кальцію	m_1	$0.2 \text{ мг}/10.4 \text{ мг} \times 100 \% = 1.92$
6) доведення до мітки в мірній колбі на 100.00 мл	500.00	0.17
7) взяття аліквоти піпеткою 1.00 мл	1.00	0.57
8) доведення до мітки в мірній колбі на 10.00 мл	10.00	0.23

Випробовуваний розчин препарату Аспіроза		
9) взяття наважки ФСЗ препарату Аспіроза	m_2	$0.2 \text{ мг}/40.0 \text{ мг} \times 100 \% = 0.52$
10) доведення до мітки в мірній колбі на 100.00 мл	100.00	0.17
11) взяття аліквоти піпеткою 1.0 мл	1.00	0.57
12) доведення до мітки в мірній колбі на 10.00 мл	10.00	0.23

Підсумовуючи вищевикладене, повна невизначеність розробленої методики входить в межі встановлених критеріїв: $\Delta_{As} = 1.27 \% \leq \max \Delta_{As} = 1.6 \%$. Отже, розроблена УФ-спектрофотометрична методика – коректна.

3.3. Проведення валідації спектрофотометричної методики одночасного кількісного визначення ацетилсаліцилової кислоти і розувастатину кальцію

Розроблена УФ-спектрофотометрична методика була провалідована відповідно до вимог ДФУ [66-67] і ІСН Q2 [68] згідно таких валідаційних параметрів як правильність, прецизійність, лінійність, діапазон застосування, специфічність, робасність.

3.3.1. Визначення валідаційного параметра «специфічність»

Аналіз валідаційного параметру – специфічності спектрофотометричної методики одночасного визначення ацетилсаліцилової кислоти і розувастатину кальцію в комбінованому лікарському засобі проводили використовавши метод «плацебо», суть якого полягала у використанні розчину допоміжних речовин. Згідно з отриманими результатами, значення δ_{noise} становить 0.23 % і 0.47 % відповідно, а критерії прийнятності входять в допустимі норми (не більше 0.5 %) (табл. 3.2). Тому, на кількісне визначення капсул Аспіроза, допоміжні речовини мають вплив, але він є незначний, що й свідчить про специфічність аналітичної методики.

Таблиця 3.2

**Вивчення специфічності УФ-спектрофотометричної методики
одночасного визначення ацетилсаліцилової кислоти і розувастатину
кальцію в комбінованому ЛЗ**

АФІ	Абсорбція плацебо (А плацебо)	Абсорбція розчину домішок ЛФ (А домішок)	Абсорбція розчину порівняння (Ast)	Знайдене значення δ_{noise} , %	Критерій прийнятності
Розувастатин кальцію	0.001	-	0.420	0.23	не більше 0.5%
Аспірин	0.002	-	0.420	0.47	не більше 0.5%

3.3.2. Визначення валідаційних параметрів «правильність та прецизійність»

Для того щоб підтвердити правильність та прецизійність методики спектрофотометричного визначення ацетилсаліцилової кислоти і розувастатину кальцію в капсулах Аспіроза, займалися приготуванням модельних розчинів, в яких була відома точна концентрація, а також вміст АФІ – 70-130 %. Для того щоб оцінити правильність встановлювали систематичну похибку (δ)%, для перевірки прецизійності – відносний довірчий інтервал (Δz) окремо для кожного АФІ.

Одержані результати щодо правильності та прецизійності аналітичної методики виявлення ацетилсаліцилової кислоти і розувастатину кальцію в капсулах Аспіроза представлені в табл. 3.3. і 3.4 відповідно.

Таблиця 3.3

**Аналіз модельних сумішей та їх статистична
обробка для кількісного визначення ацетилсаліцилової кислоти
в капсулах Аспіроза**

Модельні розчини	Вміст ацетилсаліцилової кислоти, %		Відношення знайденого до введеного, $Z_i = (Y_i/X_i) \cdot 100 \%$
	введено, $X_i = (C_i / C_{rs}) 100 \%$	знайдено, $Y_i = (A_i / A_{rs}) 100 \%$	
1	2	3	4

Продовження табл. 3.3

<i>I</i>	2	3	4
M ₁	69.97	69.95	99.97
M ₂	80.55	80.52	99.96
M ₃	90.03	90.09	100.06
M ₄	95.91	95.90	99.98
M ₅	100.11	100.13	100.01
M ₆	106.08	106.10	100.01
M ₇	109.93	109.98	100.04
M ₈	120.94	120.87	99.94
M ₉	129.83	129.76	99.94
Середнє значення, Z , %			100.00
Стандартне відхилення, S_z , %			0.04
Відносний довірчий інтервал $\Delta z = t(95\%, 8) \cdot S_z = 2.3060 S_z$, %			0.09
Критичне значення для збіжності результатів $\Delta z \leq \max \Delta_{As} = 1.6$ %			Виконується (0.09 < 3.2)
Систематична похибка $\delta = Z - 100 $, %			0.16
Критерій невизначеності систематичної похибки $\delta \leq \max \delta\%$			Виконується (0.16 < 0.51)
Загальний висновок про методику			Коректна

Таблиця 3.4

**Аналіз модельних сумішей та їх статистична
обробка для кількісного визначення розувастатину кальцію
в капсулах Аспіроза**

Модельні розчини	Вміст розувастатину кальцію, %		Відношення знайденого до введеного, $Z_i = (Y_i/X_i) \cdot 100$ %
	введено, $X_i = (C_i/C_{rs}) \cdot 100$ %	знайдено, $Y_i = (A_i/A_{rs}) \cdot 100$ %	
<i>I</i>	2	3	4

Продовження табл. 3.4

1	2	3	4
M ₁	70.22	70.30	100.11
M ₂	78.11	77.88	90.70
M ₃	90.55	91.30	100.82
M ₄	95.60	95.18	99.56
M ₅	99.90	99.75	99.84
M ₆	105.80	105.10	99.33
M ₇	109.65	109.75	100.09
M ₈	123.10	123.80	100.56
M ₉	129.80	129.95	100.11
Середнє значення, Z, %			100.01
Стандартне відхилення, S _z , %			0.47
Відносний довірчий інтервал $\Delta z = t(95\%, 8) \cdot S_z = 2.3060 S_z, \%$			1.08
Критичне значення для збіжності результатів $\Delta z \leq \max \Delta_{As} = 1.6 \%$			Виконується (1.08 < 3.2)
Систематична похибка $\delta = Z - 100 , \%$			0.1
Критерій невизначеності систематичної похибки $\delta \leq \max \delta \%$			Виконується (0.1 < 0.51)
Загальний висновок про методику			Коректна

Відповідно до результатів дослідження стандартне відхилення (S_z) для ацетилсаліцилової кислоти становить 0.04, а систематична похибка (δ) дорівнює 0.16 %, для розувастатину кальцію 0.47 та 0.1 відповідно.

Для доведення прецизійності ацетилсаліцилової кислоти і розувастатину кальцію досліджували шість зразків тієї самої серії капсул, при виконанні експерименту використовували мірний посуд різних об'ємів, дослідження проводили в різні дні. Враховуючи вищепераховане, число відносного

довірчого інтервалу має бути меншим максимальної припустимої невизначеності результатів аналізу: $\Delta z \leq 1.6$ (табл. 3.5 і 3.6).

Таблиця 3.5

**Перевірка внутрішньолабораторної прецизійності для
ацетилсаліцилової кислоти**

№ розчину	Величина Z_i , %		
	1 дослід	2 дослід	3 дослід
1	100.07	99.91	100.02
2	100.09	99.99	100.16
3	99.85	99.81	100.09
4	100.30	100.08	99.85
5	100.12	100.04	100.33
6	100.18	100.20	100.45
Середнє Z (%)	100.10	100.00	100.15
RSD_x , %	0.14	0.13	0.21
Відносне стандартне відхилення, RSD_z (%)	0.16		
Відносний довірчий інтервал, Δz	$0.16 \leq 3.2$		
Критичне значення збіжності результатів Δ_{As} , %	3.2		

Таблиця 3.6

**Перевірка внутрішньолабораторної прецизійності для
розувастатину кальцію**

№ розчину	Величина Z_i , %		
	1 дослід	2 дослід	3 дослід
1	100.09	99.95	100.04
2	100.10	100.12	100.15
1	2	3	4

Продовження табл. 3.6

1	2	3	4
3	99.92	99.88	100.06
4	100.30	100.07	99.91
5	100.12	100.04	100.07
6	100.11	100.02	100.03
Середнє Z (%)	100.11	100.01	100.04
RSD _x , %	0.12	0.09	0.08
Відносне стандартне відхилення, RSD _Z (%)	0.096		
Відносний довірчий інтервал, Δ _Z	0.12 ≤ 3.2		
Критичне значення збіжності результатів Δ _{As} , %	3.2		

Таким чином, отримані результати демонструють, що УФ-спектрофотометрична методика одночасного кількісного визначення ацетилсаліцилової кислоти і розувастатину кальцію відповідає таким валідаційним параметрам як правильність і прецизійність.

3.3.3. Визначення валідаційних параметрів «лінійність та діапазон застосування»

При визначенні лінійності лікарського засобу Аспіроза використовували метод модельних розчинів. У ході експериментальної роботи визначили, що для ацетилсаліцилової кислоти лінійність спостерігається в діапазоні концентрацій 5.70-15.11 мкг/мл, а для розувастатину кальцію – 11.30-64.20 мкг/мл. Спектри адсорбції розчинів капсульної маси препарату Аспіроза в метанолі, а також зображення лінійної залежності при застосуванні аліквот від 0.6 до 1.6 мл, представлені на рис. 3.4.

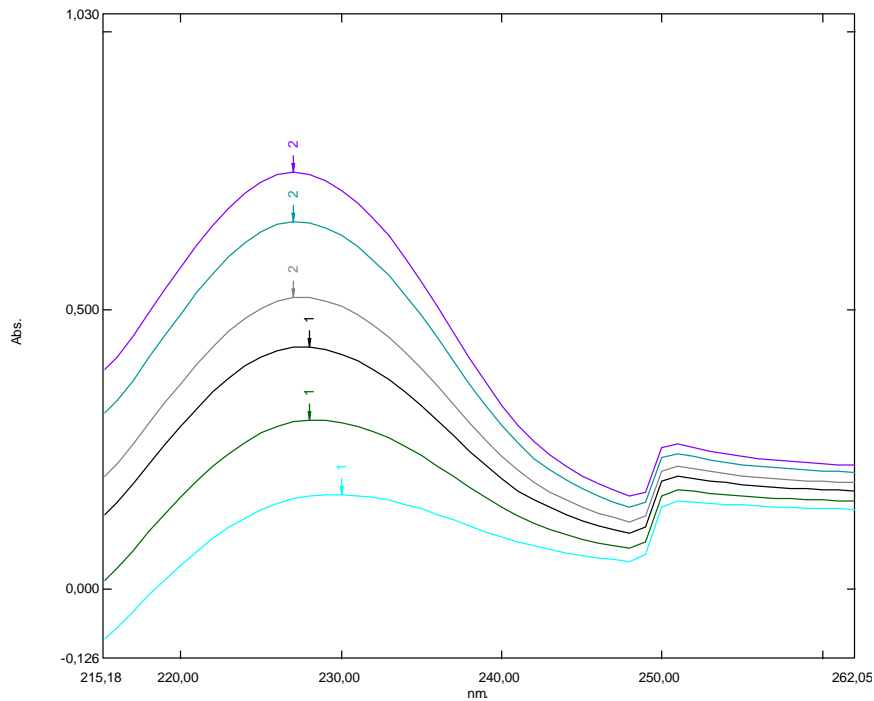


Рисунок 3.4 – УФ-спектри поглинання розчинів капсульної маси препарату Аспіроза в метанолі при вивченні лінійності спектрофотометричної методики. Об'єм аліквоти 0.6 мл (блакитний), 0.8 мл (зелений), 1 мл (чорний), 1.2 мл (сірий), 1.4 мл (блакитний), 1.6 мл (фіолетовий).

На рис. 3.5 проілюстровано графік лінійності для розувастатину кальцію та відзначається залежність оптичної густини від концентрації вказаної речовини з 11.30 мкг/мл до 64.20 мкг/мл. Згідно з цим показники МВ та МКВ аналізували із застосуванням параметрів стандартного відхилення аналітичного сигналу (σ) та тангенсу нахилу регресійної прямої (b). В результаті, МВ відповідала значенню 2.16 мкг/мл, МКВ – 6.55 мкг/мл. Рівняння лінійної регресії має вигляд: $y = 0.0046x + 0.1587$, коефіцієнт кореляції (R^2) = 0.999.

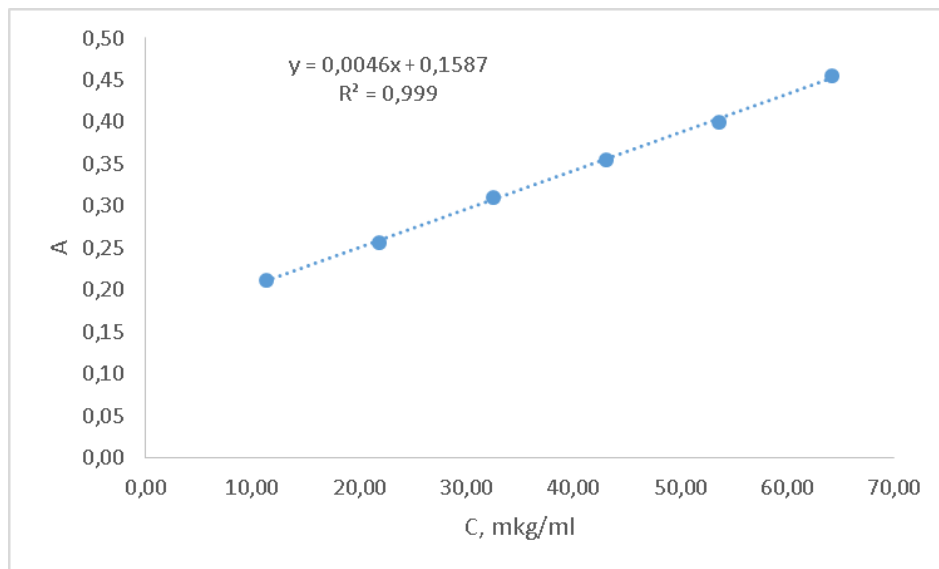


Рисунок 3.5 – Лінійність розувастатину кальцію

Одержанні показники та розрахунки рівнянь лінійної регресії розувастатину кальцію зображено в табл. 3.7

Таблиця 3.7

Метрологічні значення лінійності розувастатину кальцію

Величина	Значення	Критерій	Висновок
$b \pm (S_b)$	$0.0046 \pm (0.0001)$	–	
$a \pm (S_a)$	$0.1587 \pm (0.0030)$	$ a \leq 2.6$	Відповідає
R^2	0.9990	> 0.9980	Відповідає
МВ (мкг/мл)	2.16	–	
МКВ (мкг/мл)	6.55	–	
Підпорядкування закону Бера в діапазоні концентрацій (мкг/мл)	11.3-64.20	–	

На рис. 3.6 проілюстровано графік лінійності для ацетилсаліцилової кислоти та відзначається залежність оптичної густини від концентрації речовини з 5.70 мкг/мл до 15.11 мкг/мл. Згідно з цим показники МВ та МКВ аналізували із застосуванням параметрів стандартного відхилення аналітичного

сигналу (σ) та тангенсу нахилу регресійної прямої (b). В результаті, МВ відповідала значенню 0.70 мкг/мл, МКВ –2.13 мкг/мл. Рівняння лінійної регресії має вигляд: $y = 0.0619x - 0.1734$, коефіцієнт кореляції (R^2) – 0.9985.

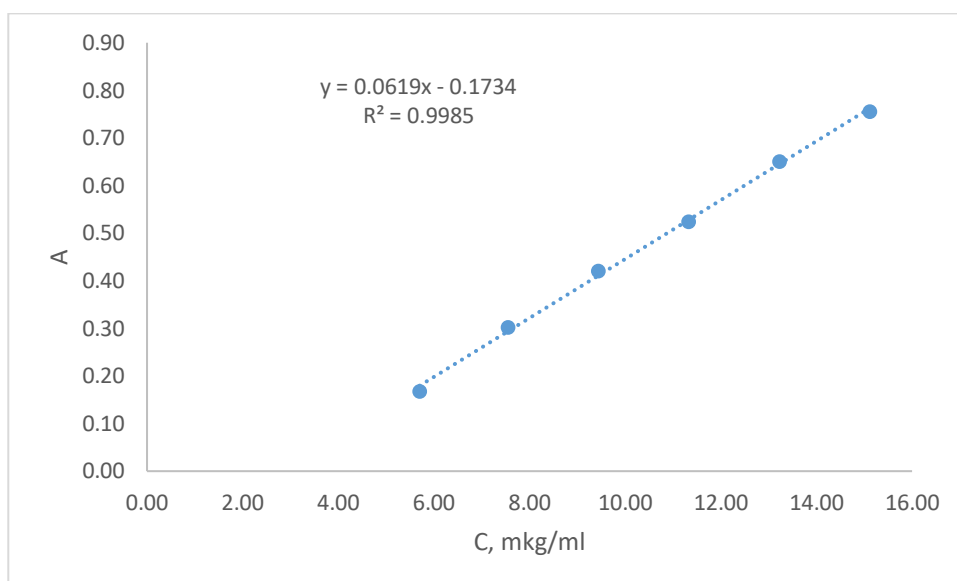


Рисунок 3.6 – Лінійність ацетилсаліцилової кислоти

Одержанні показники та розрахунки рівнянь лінійної регресії ацетилсаліцилової кислоти зображено в табл. 3.8.

Таблиця 3.8

Метрологічні значення лінійності ацетилсаліцилової кислоти

Величина	Значення	Критерій	Висновок
$b \pm (S_b)$	$0.0619 \pm (0.0012)$	–	
$a \pm (S_a)$	$0.1734 \pm (0.0132)$	$ a \leq 2.6$	Відповідає
R^2	0.9985	> 0.9980	Відповідає
МВ (мкг/мл)	0.70	–	
МКВ (мкг/мл)	2.13	–	
Підпорядкування закону Бера в діапазоні концентрацій (мкг/мл)	5.70-15.11	–	

Відповідно до цього, показники та одержані результати вказують, що методика УФ-спектрофотометричного кількісного визначення ацетилсаліцилової кислоти і розувастатину кальцію в капсулах Аспіроза відповідає вимогам лінійності.

3.3.4. Визначення валідаційного параметра «робасність»

Робасність УФ-спектрофотометричної методики одночасного кількісного визначення ацетилсаліцилової кислоти і розувастатину кальцію підтверджували шляхом дослідження стабільності досліджуваних розчинів у часі, протягом 120 хв. Результати демонструють, що досліджувані розчини зберігають свою стабільність упродовж 120 хв, це засвідчує робасність даної аналітичної методики.

В табл. 3.9 і 3.10 зображено результати при вивченні стабільності.

Таблиця 3.9

Вивчення стабільності випробовуваного розчину ацетилсаліцилової кислоти (1) та розчину ФСЗ ацетилсаліцилової кислоти (2)

№	t, хв						A сер	RSD _t , %
	0	20	40	60	90	120		
1	0.400	0.421	0.423	0.419	0.424	0.425	0.420	0.56
2	0.410	0.413	0.411	0.415	0.411	0.416	0.410	0.59

Таблиця 3.10

Вивчення стабільності випробовуваного розчину розувастатину кальцію (1) та розчину ФСЗ розувастатину кальцію (2)

№	t, хв						A сер	RSD _t , %
	0	20	40	60	90	120		
1	0.400	0.401	0.399	0.402	0.403	0.404	0.402	0.56
2	0.390	0.389	0.391	0.392	0.393	0.394	0.392	0.48

3.4. Кількісне визначення розувастатину кальцію та ацетилсаліцилової кислоти в капсулах Аспіроза

Визначення кількісного вмісту ацетилсаліцилової кислоти і розувастатину кальцію в капсулах Аспіроза проводили за довжин хвиль 227 нм і 251 нм, використовуючи як компенсаційний розчин метанол Р. Отримані результати зображені в табл. 3.11.

Таблиця 3.11

Кількісне визначення ацетилсаліцилової кислоти і розувастатину кальцію в капсулах Аспіроза

Лікарський засіб	Знайдено, г	Метрологічні характеристики
Капсули «Аспіроза» (Адамед Фарма С.А.) 10мг/100мг серія № 13024505 Ацетилсаліцилової кислоти	0.1010	$\bar{m} = 0.1021$ г
	0.1005	$S = 5.83 \times 10^{-4}$
	0.1045	$t = 2.57$
	0.1025	$\Delta x = 15.0 \times 10^{-4}$
	0.1015	RSD = 1.40 %
	0.1025	$\varepsilon = 1.47$ %
Капсули «Аспіроза» (Адамед Фарма С.А.) 10мг/100мг серія № 13024505 Розувастатину кальцію	0.0102	$\bar{m} = 0.0102$ г
	0.0098	$S = 1.08 \times 10^{-4}$
	0.0105	$t = 2.57$
	0.0101	$\Delta x = 2.70 \times 10^{-4}$
	0.0105	RSD = 2.60 %
	0.0103	$\varepsilon = 2.73$ %

3.5. Аналіз впливу розробленого методу на навколишнє середовище

При розробці УФ-спектрофотометричної методики одночасного кількісного визначення ацетилсаліцилової кислоти і розувастатину кальцію важливою складовою є дотримання в роботі принципів «зеленої хімії», яка спонукає використовувати екологічні реактиви, запобігати утворенню відходів,

забезпечити безпеку аналізу. Екологічність розробленої методики визначали й підтверджували за допомогою піктограми «зеленості» згідно методу AGREE.

На рисунку 3.7 представлено піктограму «зеленості» згідно методу AGREE.

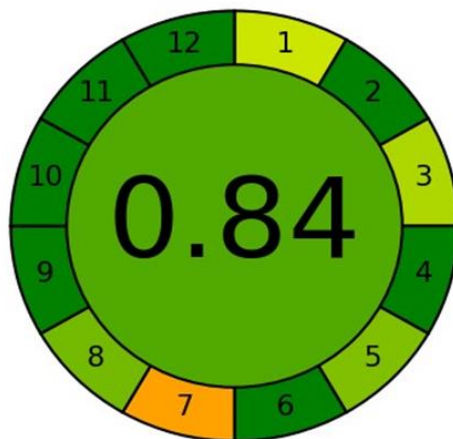


Рисунок 3.7 – Піктограма зеленості розробленої методики за методом AGREE

Згідно зображеної піктограми саме 7 процедура, яка свідчить про втрати розчинника, найбільше впливає на розрахунок екологічності методики відповідно до методу AGREE. У процесі розробки аналітичної методики збільшили масу наважки, а також кількість розчинника, оскільки наважка, яку запропонували, не входить в критерії прийнятності при розрахунку невизначеності. В кінцевому результаті, зі збільшенням кількості розчинника 7 процедура виявляє незадовільний результат. Решта екологічних параметрів є позитивними.

УФ-спектрофотометрична методика одночасного кількісного визначення ацетилсаліцилової кислоти і розувастатину кальцію, згідно з отриманими результатами, відповідає принципам «зеленої хімії».

Висновки до розділу 3

1. Розробили УФ-спектрофотометричну методику для одночасного кількісного визначення ацетилсаліцилової кислоти і розувастатину кальцію в комбінованому лікарському засобі Аспіроза.

2. Було провалідовано розроблену УФ-спектрофотометричну методику одночасного кількісного визначення ацетилсаліцилової кислоти і розувастатину кальцію в комбінованому препараті відповідно до таких валідаційних параметрів: діапазон застосування, правильність, прецизійність, специфічність, лінійність, робастність.

3. Екологічна прийнятність даної методики була перевірена за допомогою методу AGREE. Проаналізовані дані свідчать, що УФ-спектрофотометрична методика відповідає концепції екологічної хімії.

4. Підсумувавши вищезазначену інформацію робимо висновок, що УФ-спектрофотометрична методика одночасного кількісного визначення ацетилсаліцилової кислоти і розувастатину кальцію в комбінації є економічно вигідною, доступною, простою у виконанні та швидкою.

ВИСНОВКИ

1. Здійснено аналіз доступних наукових джерел, журналів, публікацій та монографій, що дозволило сформувавши мету, цілі, завдання наших досліджень щодо розробки спектрофотометричної методики одночасного кількісного визначення розувастатину кальцію та ацетилсаліцилової кислоти в комбінації.

2. Розроблено та провалідовано УФ-спектрофотометричну методику одночасного кількісного визначення ацетилсаліцилової кислоти і розувастатину кальцію із застосуванням метанолу в ролі розчинника та максимумів поглинання за довжин хвиль 227 нм і 251 нм відповідно. В умовах дослідження лінійність аналітичної методики фіксували в таких діапазонах концентрацій: 5.70-15.11 мкг/мл для ацетилсаліцилової кислоти (МВ – 0.70 мкг/мл, МКВ – 2.13 мкг/мл), а для розувастатину кальцію – 11.30-64.20 мкг/мл (МВ – 2.16 мкг/мл, МКВ – 6.55 мкг/мл).

3. Розроблена УФ-спектрофотометрична методика одночасного кількісного визначення ацетилсаліцилової кислоти і розувастатину кальцію в комбінованому препараті має такі характеристики: простота у виконанні, економічна доступність, експресність й тому може бути використаною в лабораторіях або на підприємствах для контролю та аналізу якості лікарських препаратів.

4. Розроблена УФ-спектрофотометрична аналітична методика одночасного кількісного визначення ацетилсаліцилової кислоти і розувастатину кальцію в препараті Аспіроза відповідає принципам «зеленості» та гарантує безпеку при виконанні.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Alfarisi, H. A. H., Mohamed, Z. B. H., & Ibrahim, M. B. (2020). Basic pathogenic mechanisms of atherosclerosis. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, 7(1), 116-125. URL:
<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/2314808X.2020.1769913>
2. Minelli, S., Minelli, P., & Montinari, M. R. (2020). Reflections on atherosclerosis: lesson from the past and future research directions. *Journal of multidisciplinary healthcare*, 621-633. URL:
<https://www.dovepress.com/reflections-on-atherosclerosis-lesson-from-the-past-and-future-researc-peer-reviewed-fulltext-article-JMDH>
3. Bajaj, T., & Giwa, A. O. (2019). Rosuvastatin.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539883/>
4. Розувастатин URL:
<https://health-ua.com/article/64661-efektivnst-kombnatc-rozuvastatinu-taezetimbu-vpatcntv-zgperholesterinemyu>
5. Hara, Y., Nagaoka, S., & Genda, K. (2019). Rosuvastatin (Crestor) “Super Statin” That Became a Global Blockbuster Despite Its Late Entry. *Drug Discovery in Japan: Investigating the Sources of Innovation*, 51-63. URL:
https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-13-8906-1_4
6. Bajaj, T., & Giwa, A. O. (2019). Rosuvastatin URL:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539883/>
7. Розувастатин URL:
<https://tabletki.ua/uk/%D0%A0%D0%BE%D0%B7%D1%83%D0%B2%D0%B0%D1%81%D1%82%D0%B0%D1%82%D0%B8%D0%BD%D0%94%D0%B0%D1%80%D0%BD%D0%B8%D1%86%D0%B0/39717/>
8. Розувастатин URL:
<https://medlineplus.gov/druginfo/meds/a603033.html>
9. Cortese, F., Gesualdo, M., Cortese, A., Carbonara, S., Devito, F., Zito, A., ... & Ciccone, M. M. (2016). Rosuvastatin: Beyond the cholesterol-lowering effect.

- Pharmacological research, 107, 1-18. URL:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1043661815301936>
10. Rosuvastatin and acetylsalicylic acid URL:
[https://likicontrol.com.ua/%D1%96%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80%D1%83%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F/?\[38930\]](https://likicontrol.com.ua/%D1%96%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80%D1%83%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F/?[38930])
11. Довідник лікарських препаратів Компендіум. Компендіум. URL:
<https://compendium.com.ua/dec/268687/>
12. Аспірин URL:
<https://www.bsmu.edu.ua/blog/4060-aspirin-druge-stolittya-na-varti-nashogo-zdorov-ya/>
13. Аспірин URL:
<https://tabletki.ua/uk/%D0%90%D1%81%D0%BF%D0%B8%D1%80%D0%BE%D0%B7%D0%B0/1044552/>
14. European Pharmacopoeia (2023). European Pharmacopoeia ed 11. – Access mode. URL:
https://file.wuxuwang.com/yaopinbz/EP9/EP9.0_03_514.pdf
15. U.S Pharmacopeia (2023). USP Monographs, Rosuvastatin Calcium Tablets. URL:
https://www.uspnf.com/sites/default/files/uspnf_pdf/EN/USPNF/revisions/rosuvastatin-tabs-rb-notice.pdf
16. Dhoru, M. M., Parikh, M. P., Detholia, K. K., & Patel, P. J. (2023). DEVELOPMENT AND VALIDATION OF RP-HPLC METHOD FOR SIMULTANEOUS ESTIMATION OF ROSUVASTATIN AND TENELIGLIPTIN IN THEIR SYNTHETIC MIXTURE. Indian Drugs, 60(2). URL:
https://www.researchgate.net/publication/369164236_DEVELOPMENT_AND_VALIDATION_OF_RP-HPLC_METHOD_FOR_SIMULTANEOUS_ESTIMATION_OF_ROSUVAATIN_AND_TENELIGLIPTIN_IN_THEIR_SYNTHETIC_MIXTURE
17. Nagvenkar, P., & Nazareth, C. (2022). SIMULTANEOUS ANALYSIS OF EZETIMIBE AND ROSUVASTATIN BY UV SPECTROPHOTOMETRIC

METHOD. Indian Drugs, 59(5). URL:
https://www.researchgate.net/publication/361906122_SIMULTANEOUS_ANALYSIS_OF_EZETIMIBE_AND_ROSUVASTATIN_BY_UV_SPECTROPHOTOMETRIC_METHOD

18. Kallol . JanaBeduin . Mahanti (2022). An Improved Efficient Chromatographic Development and Validation for Quantitative Determination of Rosuvastatin Calcium and Cholecalciferol in Solid Pharmaceutical Tablets Dosage Forms. *International Journal of Pharmaceutical Quality Assurance* 13(04):433-440
 URL:https://www.researchgate.net/publication/368861235_An_Improved_Efficient_Chromatographic_Development_and_Validation_for_Quantitative_Determination_of_Rosuvastatin_Calcium_and_Cholecalciferol_in_Solid_Pharmaceutical_Tablets_Dosage_Forms
19. P. Anil, Poojmani Sai Kurre, K. Bhagya Lakshmi, Abdul Rahaman (2022). CHEMOMETRIC ASSISTED METHOD DEVELOPMENT AND VALIDATION OF ROSUVASTATIN USING RP-HPLC. *Journal of Cardiovascular Disease Research* 12(4):1136-1145
 URL:https://www.researchgate.net/publication/358939774_CHEMOMETRIC_ASSISTED_METHOD_DEVELOPMENT_AND_VALIDATION_OF_ROSUVASTATIN_USING_RP-HPLC
20. Arpana Patil, Meenaxi M. Maste, Shailendra Suryawanshi, Nikita Patil (2022). Green Solvent Assisted UV-Spectrophotometric Method for Estimation of Rosuvastatin in Bulk and Pharmaceutical Dosage Forms. *Research Journal of Pharmacy and Technology*
 URL:https://www.researchgate.net/publication/359046870_Green_Solvent_Assisted_UV-Spectrophotometric_Method_for_Estimation_of_Rosuvastatin_in_Bulk_and_Pharmaceutical_Dosage_Forms?_iepl%5BgeneralViewId%5D=auzx3NuqR9vWsTJcR_Sw8upTsiyuind1Vya0G&_iepl%5Bcontexts%5D%5B0%5D=searchReact&_iepl%5BviewId%5D=H7aI0qwPQjUCP6P6hjp8BHAMMD7V9kvjtf83&_iepl%5BsearchType%5D=publication&_iepl%5Bdata%5D%5BcountLessEqual20%5D=1&

[iepl%5Bdata%5D%5BinteractedWithPosition20plus%5D=1&iepl%5Bdata%5D%5BwithoutEnrichment%5D=1&iepl%5Bposition%5D=90&iepl%5BrgKey%5D=PB%3A359046870&iepl%5BtargetEntityId%5D=PB%3A359046870&iepl%5BinteractionType%5D=publicationTitle](#)

21. Gökhan Dikmen, Okan USLU (2021). The application of qNMR for the determination of rosuvastatin in tablet form. *Turkish Journal of Chemistry* 45(1):132-142

URL: <https://www.researchgate.net/publication/349423542> [The application of qNMR for the determination of rosuvastatin in tablet form](#)

22. Fahad, A. M. M., Rasheed, A. S., & Ali, H. H. (2022). Hydrophilic Interaction Chromatography with Sulfobetaine Zwitterionic Polymer-Bonded Stationary Phases for the Simultaneous Quantification of Atorvastatin and Rosuvastatin Pharmaceuticals in Bulk and Dosage Forms. *Journal of the Chemical Society of Pakistan*, 44(4). URL:

<https://www.researchgate.net/publication/362826411> [Hydrophilic Interaction Chromatography with Sulfobetaine Zwitterionic Polymer-Bonded Stationary Phases for the Simultaneous Quantification of Atorvastatin and Rosuvastatin Pharmaceuticals in Bulk and](#)

23. RAJENDRA REDDY, G., RAVINDRA REDDY, P., & SIVA JYOTHI, P. (2015). Development of a stability-indicating stereoselective method for quantification of the enantiomer in the drug substance and pharmaceutical dosage form of rosuvastatin calcium by an enhanced approach. *Scientia Pharmaceutica*, 83(2), 279-296. URL: <https://www.mdpi.com/2218-0532/83/2/279>

24. Moodbidri, P. V., Dhayanithi, V., Manjunathashastry, G. B., Pati, H. N., & Vasireddy, P. (2015). A new simultaneous determination of Rosuvastatin calcium and its Lactone impurity by reverse phase HPLC method. *Asian Journal of Pharmaceutical Research*, 5(4), 175-182. URL:

<https://www.indianjournals.com/ijor.aspx?target=ijor:ajpr&volume=5&issue=4&article=002>

25. Machairas, G., Panderi, I., Geballa-Koukoula, A., Rozou, S., Antonopoulos, N., Charitos, C., & Vonaparti, A. (2018). Development and validation of a hydrophilic interaction liquid chromatography method for the quantitation of impurities in fixed-dose combination tablets containing rosuvastatin and metformin. *Talanta*, 183, 131-141. URL:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0039914018301760>
26. Venkateswarlu, V., Reddy, K. H., & Ramireddy, G. (2018). QUANTIFICATION OF TRACE LEVEL IMPURITIES IN ROSUVASTATIN CALCIUM AND IDENTIFICATION OF DEGRADATION IMPURITY BY MASS SPECTROSCOPY. URL:
https://wjpr.s3.ap-south-1.amazonaws.com/article_issue/1548929662.pdf
27. Naveen, P. V., & Ganapaty, S. (2021). Development and validation of a new stability indicating ultra-fast liquid chromatographic (RP-UFLC) method for the quantification of Rosuvastatin. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 14(3), 1673-1679. URL:
<https://www.indianjournals.com/ijor.aspx?target=ijor:rjpt&volume=14&issue=3&article=086>
28. Yegorova, A. V., Fedosenko, G. A., Scrypynets, Y. V., Leonenko, I. I., Maltsev, G. V., & Antonovich, V. P. (2016). Determination of residual amounts of Rosuvastatin Calcium on the surfaces of pharmaceutical equipment by HPLC and luminescence. *Journal of analytical chemistry*, 71, 126-132. URL:
<https://link.springer.com/article/10.1134/S1061934815110040>
29. Moodbidri, P. V., Dhayanithi, V., Pati, H. N., & Vasireddy, P. (2015). Development and Validation of Chiral Hplc Method for Quantitation of Enantiomer in Rosuvastatin Calcium. *International Journal of Pharmaceutics and Drug Analysis*, 275-281. URL:
<https://www.neliti.com/publications/409247/development-and-validation-of-chiral-hplc-method-for-quantitation-of-enantiomer>
30. Alvarez Bilbao, A., & Trujillo González, M. (2014). Development and validation of a stability indicating analytical HPLC method for the quantification of

- Rosuvastatin Calcium. Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas, 43(1), 69-85. URL: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0034-74182014000100005&script=sci_abstract&tlng=pt
31. Nhu-Trang, TT, Nguyen, HN, Thach, TX, Nguyen, CH, & Do, MH (2022, серпень). Простий електрохімічний метод визначення розувастатину кальцію в холестеринознижуючих лікарських засобах. У матеріалах конференції AIP (том 2610, № 1). Видавництво AIP. URL: <https://pubs.aip.org/aip/acp/article-abstract/2610/1/060002/2830364/A-simple-electrochemical-method-for-determination>
32. Kumar, S. A., Rao, J. V. L. N., & Sankar, D. G. (2016). Development and validation of a sensitive RP-HPLC method for simultaneous estimation of rosuvastatin and fenofibrate in tablet dosage form by using PDA detector in gradient mode. Research Journal of Pharmacy and Technology, 9(5), 549-554. URL: <https://www.indianjournals.com/ijor.aspx?target=ijor:rjpt&volume=9&issue=5&article=016>
33. Zakrajšek, J., Bevc-Černilec, K., Bohanec, S., & Urleb, U. (2017). Optimization of UPLC Method for Simultaneous Determination of Rosuvastatin and Rosuvastatin Degradation Products. Acta Chimica Slovenica, 64(4). URL: <https://pdfs.semanticscholar.org/40a5/cae56a14b51678616ec7960f1e91ed014d5d.pdf>
34. Islam, S. H., Alauddin, M., Alam, F., Anwar, M. R., Dewan, I., & Islam, S. A. (2018). Development and validation of stability-indicating Rp-Hplc method for simultaneous estimation of rosuvastatin and glibenclamide. World Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences, 7(5), 22-37. URL: https://www.researchgate.net/profile/Md-Alauddin/publication/325102235_DEVELOPMENT_AND_VALIDATION_OF_STABILITY-INDICATING_RP-HPLC_METHOD_FOR_SIMULTANEOUS_ESTIMATION_OF_ROSUVASTATIN_AND_GLIBENCLAMIDE/links/5af66c02aca2720af9c6db00/DEVELOPMENT-AND-VALIDATION-OF-STABILITY-

[INDICATING-RP-HPLC-METHOD-FOR-SIMULTANEOUS-ESTIMATION-OF-ROSUVASTATIN-AND-GLIBENCLAMIDE-Corresponding-Author.pdf](#)

35. Palvai, S., Seelam, S. C., Dhanalakshmi, K., & Reddy, N. ANALYTICAL METHOD DEVELOPMENT AND VALIDATION FOR ROSUVATATIN CALCIUM RELATED SUBSTANCES BY RP-HPLC. URL: http://www.ijptjournal.com/File_Folder/182-187.pdf
36. Islam, S. H., Alauddin, M., Alam, F., Anwar, M. R., Dewan, I., & Islam, S. A. (2018). Development and validation of stability-indicating Rp-Hplc method for simultaneous estimation of rosuvastatin and glibenclamide. World Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences, 7(5), 22-37. URL: <https://web.p.ebscohost.com/abstract?direct=true&profile=ehost&scope=site&authType=crawler&jrnl=09752366&AN=155803574&h=OWRFJMge6F4mZq1%2fIBYYZ2Aqrb32CvKxKU2gNCwR35QW%2bsFnEyOrZv6L2VtyIOEx6j1x2mwf uCqG58FcSeB4A%3d%3d&crl=c&resultNs=AdminWebAuth&resultLocal=ErrCrlNotAuth&crlhashurl=login.aspx%3fdirect%3dtrue%26profile%3dehost%26scope%3dsite%26authType%3dcrawler%26jrnl%3d09752366%26AN%3d155803574>
37. Stolarczyk, M., Maślanka, A., Apola, A., Kwiecień, A., & Hubicka, U. (2020). Determination of candesartan, hydrochlorothiazide and rosuvastatin as active ingredients of a polytablet by a chromatographic-densitometric method. Acta Poloniae Pharmaceutica. Drug Research, 77(6). URL: https://ruj.uj.edu.pl/xmlui/bitstream/handle/item/266066/stolarczyk_maslanka_apola_et-al_determination_of_candesartan_2020.pdf?sequence=1&isAllowed=y
38. Mammone, F. R., Rotundo, P., Ferretti, R., Puxeddu, M., Silvestri, R., & Cirilli, R. (2023). Chemo- and enantio-selective reversed-phase HPLC analysis of rosuvastatin using a cellulose-based chiral stationary phase in gradient elution mode. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 225, 115239. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0731708523000080>
39. Jana, K., & Mahanti, B. (2020). Development and Validation of a new improved RP-HPLC Method for estimation of Rosuvastatin calcium in Pharmaceutical dosage form. Research Journal of Pharmacy and Technology, 13(6), 2886-2892. URL:

<https://www.indianjournals.com/ijor.aspx?target=ijor:rjpt&volume=13&issue=6&article=065>

40. García-López, L., Peris-Vicente, J., Bose, D., Durgbanshi, A., & Carda-Broch, S. (2023). Micellar liquid chromatography as a sustainable tool to quantify three statins in oral solid dosage forms. *Journal of Chromatography A*, 1698, 464000. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967323002261>
41. Halka L., Lutsyk D., Kucher T., Kryskiw L. Development of the spectrophotometric method for the determination of rosuvastatin in tablets by using bromocresol green. // Тез. доп. XXVII конгресу студентів та молодих вчених «Майбутнє за наукою». – Тернопіль, 10 – 12 квітня 2023 р. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2023. – С. 176.
42. Галка Л. М., Луцик Д. І., Поліщук О. Р., Фурдела І. І., Олейнікова М. М. Застосування сульфоталеїнових барвників як реагентів для спектрофотометричного визначення розувастатину в лікарських засобах. 83 Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Актуальні питання сучасної медицини і фармації – 2023». – Запоріжжя, 25 – 26 травня 2023 р. – Запоріжжя: ЗДМФУ, 2023. – С. 115-116.
43. Державна Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство „Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів”. 2-е вид. Харків: Державне підприємство „Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів”, 2014. Т. 2. 724 с.
44. Державна Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство „Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів”. 2-е вид. Харків: Державне підприємство „Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів”, 2014. Т. 3. 732 с.
45. U.S. Pharmacopeia (2023). USP Monographs, Aspirin Tablets. https://www.uspnf.com/sites/default/files/usp_pdf/EN/USPNF/iras/aspirin_tablets.pdf

46. El-Masry, Amal A. Zeid, Abdallah M (2024). Nano-scale analytical insights for determination of vonoprazan and aspirin in a recently approved combined preparation utilizing nucleophilic substitution reaction, along with evaluation approaches for both greenness and whiteness *Microchemical Journal ISSN 0026265X* URL:
<https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-85179608494&origin=resultslist&sort=plf-f&src=s&sid=c562b115d318b18806ca2b487c08458e&sot=b&sdt=b&s=TITLE-ABS-KEY%28aspirin%29&sl=22&sessionSearchId=c562b115d318b18806ca2b487c08458e&relpos=17>
47. Alqahtani, A., Alqahtani, T., Gahtani, R. M., & Ramzy, S. (2023). Green spectrofluorimetric quantification of aspirin, olmesartan, and metoprolol in spiked human plasma. *Scientific Reports*, 13(1), 20182. URL:
https://www.researchgate.net/publication/375722603_Green_spectrofluorimetric_quantification_of_aspirin_olmesartan_and_metoprolol_in_spiked_human_plasma
48. Abo-Gharam, A. H., El-Kafrawy, D. S., Abdel-Khalek, M. M., Mahrous, M. S., & Belal, T. S. (2020). Spectrophotometric and chromatographic methods for simultaneous determination of aspirin and omeprazole. *Analytical Chemistry Letters*, 10(2), 240-262. URL:
<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/22297928.2020.1768893>
49. Belal, F. F., Sharaf El-Din, M. K., Tolba, M. M., & Elmansi, H. (2014). Derivative spectrophotometric and liquid chromatographic methods for the simultaneous determination of metoclopramide hydrochloride and aspirin in pharmaceuticals. *Journal of chromatographic science*, 52(10), 1224-1232. URL:
<https://academic.oup.com/chromsci/article/52/10/1224/312220?login=false>
50. Долорес, М., Моралес-Іполіто, Е.А., Гардуньо-Росас, Я.А., Вільясенйор, А., і Лопес-Арельяно, Р. (2016). Розробка та валідація альтернативного УФ-спектрофотометричного аналітичного методу для визначення стабільності для аспірину в таблетках. *Індійський журнал фармацевтичних наук*, 78 (6).

URL:<https://openurl.ebsco.com/EPDB%3Agcd%3A6%3A7008902/detailv2?sid=ebsco%3Aplink%3Ascholar&id=ebsco%3Agcd%3A121779858&cr1=c>

51. Patel, B. A., Doshi, J. A., Parmar, S. J., & Captain, A. D. (2015). SPECTROPHOTOMETRIC SIMULTANEOUS DETERMINATION OF ASPIRIN AND ESOMEPRAZOLE MAGNESIUM IN SYNTHETIC MIXTURE BY RATIO DERIVATIVE METHOD. *World J Pharm Res*, 5, 1637-49. URL: https://www.researchgate.net/publication/281106375_SPECTROPHOTOMETRIC_SIMULTANEOUS_DETERMINATION_OF_ASPIRIN_AND_ESOMEPRAZOLE_MAGNESIUM_IN_SYNTHETIC_MIXTURE_BY_RATIO_DERIVATIVE_METHOD
52. Sahu, S., Kumari, K., Muduli, N. R., & Moharana, A. K. (2019). Development of UV Spectrophotometry Absorption correction method for estimation of Curcumin and Aspirin from Bulk. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 12(10), 4857-4860. URL: <https://www.indianjournals.com/ijor.aspx?target=ijor:rjpt&volume=12&issue=10&article=051>
53. Patta, S., Afreen, S., Tappa, S., Nagarajan, C., & GnanaPrakash, K. (2017). Simultaneous estimation of aspirin and omeprazole (y0sprala) in bulk by uv-spectroscopy. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 7(3), 87-91. URL: <https://jddtonline.info/index.php/jddt/article/view/1421>
54. Blazheyevskiy, M. Y., & Kryskiw, L. S. (2014). Kinetic spectrophotometric determination of acetylsalicylic acid in dosage form" ACELYSIN-KMP". URL: <https://dspace.nuph.edu.ua/handle/123456789/19509>
55. Dos, B. (2016). Stability indicating RP-HPLC method for simultaneous determination of aspirin and clopidogrel in dosage form. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 20(2), 247-257. URL: https://www.online.lincoln.edu.my/uploadedfiles/emp_rch/2b76e0c7-da95-4ef8-90a0-6dc20c6097b3MdGousuddin_20_2_5.pdf
56. Deka, M. K., Ansary, A., Das, T. K., Das, A. K., Sahariah, B. J., & Majumder, M. (2024). Development of three UV-spectroscopic methods for simultaneous

- estimation of raloxifene and aspirin in pharmaceutical dosage form: Whiteness and greenness assessment with application of ComplexGAPI, AGREE, and RGB. *Green Analytical Chemistry*, 8, 100088. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2772577423000393>
57. El-Yazbi, F. A., Amin, O. A., El-Kimary, E. I., Khamis, E. F., & Younis, S. E. (2019). Simultaneous determination of methocarbamol and aspirin in presence of their pharmacopeial-related substances in combined tablets using novel HPLC-DAD method. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 45(2), 265-272. URL: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/03639045.2018.1535603>
58. da Silva, R. S., & Borges, E. M. (2019). Quantitative analysis using a flatbed scanner: Aspirin quantification in pharmaceutical tablets. *Journal of Chemical Education*, 96(7), 1519-1526. URL: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.jchemed.8b00620>
59. SELİMOĞLU, F., KADIOĞLU, Y., & Erdal, D. İ. N. Ç. (2016). Simultaneous determination of ascorbic acid, paracetamol, aspirin in tablets using UPLC. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*, (2), 135-149
URL: <https://dergipark.org.tr/en/pub/hujpharm/issue/49757/638403>
60. Palur, K., Koganti, B., Archakam, S. C., Chenchugari, S., Nagireddy, B., Devabhaktuni, M. B., & Sankranthi, M. (2016). Simultaneous Estimation of Atorvastatin and Aspirin in Bulk and Capsule Dosage Form by Chemometric Assisted Spectrophotometric Methods. *Journal of Young Pharmacists*, 8(4), 424.
URL: <https://www.jyoungpharm.org/sites/default/files/10.5530jyp.2016.4.19.pdf>
61. de Marco, B. A., Rechelo, B. S., Tótolí, E. G., Kogawa, A. C., & Salgado, H. R. N. (2019). Evolution of green chemistry and its multidimensional impacts: A review. *Saudi pharmaceutical journal*, 27(1), 1-8. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6323129/>
62. Krasnodębski, M. (2024). The bumpy road to sustainability: Reassessing the history of the twelve principles of green chemistry. *Studies in History and Philosophy of Science*, 103, 85-94. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S003936812300167X>

63. Nithya, K., & Sathish, A. (2023). Introductory chapter: Understanding green chemistry principles for extraction of green solvents. In *Green Sustainable Process for Chemical and Environmental Engineering and Science* (pp. 193-216). Elsevier. URL:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780323951562000180>
64. Green chemistry URL:
<https://www.sciencedirect.com/org/science/article/pii/S1463926223006805>
65. Mammino, L. (2022). Computational chemistry and green chemistry: Familiarizing chemistry students with the modes and benefits of promising synergies. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 29, 100743. URL:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2352554122001474>
66. Державна Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство „Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів”. 2-е вид. Харків: Державне підприємство „Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів”, 2015. Т. 1. 1128 с.
67. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Доповнення 6. Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2023.
68. ICH [International Council of Harmonisation], Expert Working Group. Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1). 2005. Available from:
[https://www.gmp-compliance.org/files/guidemgr/Q2\(R1\).pdf](https://www.gmp-compliance.org/files/guidemgr/Q2(R1).pdf)

ДОДАТКИ

Список публікацій за темою магістерської роботи

Луцик Д. І. Розробка УФ-спектрофотометричної методики одночасного визначення розувастатину кальцію та ацетилсаліцилової кислоти в капсулах «Аспіроза». Тез. доп. *XXVIII Конгрес студентів та молодих учених «Майбутнє за наукою»*.- Тернопіль, 8-10 квітня 2024р. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2024. – С. 196.