

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

Фармацевтичний факультет
Кафедра фармацевтичної хімії

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри _____

Лілія Логойда

«20» травня 2024 р.

УДК 615.074:543.422.3-76:615.254.1:615.453.6

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

На тему:

**«ЗАСТОСУВАННЯ МЕТОДУ УФ-СПЕКТРОФОТОМЕТРІЇ ДЛЯ
РОЗРОБКИ МЕТОДИКИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ
ГІДРОХЛОРТИАЗИДУ В ТАБЛЕТКАХ»**

Виконав здобувач вищої освіти 5-го курсу

денної форми навчання

спеціальності 226 Фармація, промислова фармація

_____ Павло Близнюк

Науковий керівник:

кандидат фармацевтичних наук, доцент, доцент кафедри фармацевтичної хімії

_____ Наталія Горлачук

ТЕРНОПІЛЬ 2024

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	4
ВСТУП	5
РОЗДІЛ 1. АНАЛІЗ ІСНУЮЧИХ МЕТОДІВ РОЗРОБКИ ТА ВАЛІДАЦІЇ ГІДРОХЛОРТІАЗИДУ В СУБСТАНЦІЯХ ТА ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБАХ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	9
1.1. Загальна характеристика гідрохлортіазиду	9
1.2. Огляд аналітичних методик визначення гідрохлортіазиду	12
Висновки до розділу 1	28
РОЗДІЛ 2. ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ОБ'ЄКТУ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА МОДЕЛЮВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТУ	30
2.1. Фізико-хімічні властивості досліджуваного об'єкту	31
2.2. Характеристика методики дослідження	31
2.3. УФ-спектрофотометрична методика визначення гідрохлортіазиду у таблетках	32
РОЗДІЛ 3. РОЗРОБКА ТА ВАЛІДАЦІЯ УФ-СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНОЇ МЕТОДИКИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ГІДРОХЛОРТІАЗИДУ В СУБСТАНЦІЯХ ТА ГОТОВИХ ЛІКАРСЬКИХ ФОРМАХ	34
3.1.1. Підбір оптимального розчинника, концентрації та відповідної довжини хвилі	34
3.1.2. Визначення стабільності експериментальної методики кількісного визначення гідрохлортіазиду	36
3.2. Проведення валідації методики спектрофотометричного визначення гідрохлортіазиду	38
3.2.1. Лінійність, діапазон застосування методики	38
3.2.2. Правильність та прицезійність розробленої методики спектрофотометричного визначення	40

3.2.3	Прогноз повної невизначеності методики спектрофотометричного визначення гідрохлортіазиду в таблетках	42
3.2.4	Дослідження методики на робасність	44
3.2.5.	Дослідження оцінки впливу методики на зовнішнє середовище	44
	Висновки до розділу 3	46
	ВИСНОВКИ	47
	СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	48
	ДОДАТКИ	55

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ГХ	- гіпертонічна хвороба
АГ	- артеріальна гіпертензія
АФІ	- активний фармацевтичний інгредієнт
ДФУ	- Державна Фармакопея України
ЄФ	- Європейська Фармакопея
ГЛЗ	- готовий лікарський засіб
ВЕРХ	- вискоєфективна рідинна хроматографія
ВЕРХ-МС	- вискоєфективна рідинна хроматографія з мас-спектрометричним детектуванням
ВЕРХ-УФ	- вискоєфективна рідинна хроматографія з УФ-детектуванням
ТШХ	- тонкошарова хроматографія
УФ	- ультрафіолетовий
ФСЗ	- фармакопейний стандартний зразок
ЛФ	- лікарська форма
МВ	- межа виявлення
МКВ	- межа кількісного визначення
RSD	- відносне стандартне відхилення (Relative Standart Deviation)
ICH	- Міжнародна конференція з гармонізації технічних вимог до реєстрації лікарських препаратів для людини (International Conferense on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use)
x, y	- поточні кординати в рівнянні лінійної залежності

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження

На сьогоднішній день спостерігається значна тенденція розвитку серцево-судинних захворювань серед населення планети. Одним з найпоширеніших захворювань є гіпертонія, за показниками ВООЗ – 1,28 млрд людей нашої планети хворіють цим захворюванням. Без сумніву, можна стверджувати, що гіпертонічна хвороба має вагомий вплив на якість життя пацієнтів та може стати причиною розвитку серйозніших ускладнень за відсутності медикаментозного лікування.

Сучасною тенденцією у лікуванні даного захворювання є комбінована терапія, при цьому використовують декілька груп препаратів з різними механізмами дії. Це стало головною причиною створення комбінованих лікарських засобів, з метою потенціонування дії. Найпоширенішими комбінаціями, на даний час, є поєднання: ІАПФ/діуретик, блокатори рецепторів ангіотензину/діуретик, блокатори кальцієвих каналів/діуретик та ін. Відповідно, сучасні препарати повинні гарантувати якість, безпеку та терапевтичну активність, це зумовило розвиток створення методів для підтвердження цих критеріїв. Існує дуже багато різноманітних методів для кількісного визначення діуретичних препаратів, але не всі дають точні результати. Серед наявних методик для аналізу діуретиків не всі відповідають сучасним вимогам, у більшості – застосовуються небезпечні, дорогі реактиви, застаріле обладнання та й сам аналіз потребує великої затрати часу, що обмежує їхнє використання. Головною метою сучасних науковців – розробити методику, котра буде безпечною для навколишнього середовища, простою, доступною та швидкою.

Поєднання декількох АФІ в одному препараті вимагає розробку високо специфічних методів, з метою отримання точних результатів та відповідність методики сучасним валідаційним параметрам та стандартам якості. Шлях до

вирішення цієї проблеми полягає у розробці інноваційних методик . Тому тема нашої роботи полягає у апробації модифікованих, доступних простих, швидких, та екологічних методик, що слугуватимуть для кількісного аналізу гідрохлортіазиду.

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

Кваліфікаційна робота виконана згідно з планами науково-дослідних робіт Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України «Розробка оригінальних комбінацій антигіпертензивних засобів, їх аналіз та стандартизація» (дербюджетна НДР кафедри фармацевтичної хімії, керівник — проф. Логойда Л.С., 2020-2022 р), «Цілеспрямований пошук біологічно активних речовин в ряду 7,8-дизаміщених теофіліну; розробка та валідація методик контролю якості антигіпертензивних лікарських засобів із статинами» (НДР кафедри фармацевтичної хімії, керівник — доц. Коробко Д.Б., 2021-2023 р.)

Мета і завдання дослідження

Метою кваліфікаційної роботи є апробація УФ-спектрофотометричної методики визначення гідрохлортіазиду в таблетках.

Основні завдання дослідження

- здійснити пошук літератури для обґрунтування відповідності методу УФ-спектрофотометрії для аналізу гідрохлортіазиду в таблетках;
- узагальнити інформацію, щодо цілей, завдань, особливостей досліджень та ускладнень, що виникають під час відтворення та верифікації методики визначення субстанції в ЛЗ;
- запропонувати оптимальні умови для здійснення УФ-спектрофотометричної методики визначення гідрохлортіазиду;
- розробити валідацію УФ-спектрофотометричного методу для кількісного визначення гідрохлортіазиду в ЛЗ;
- верифікувати УФ-спектрофотометричні методики визначення гідрохлортіазиду за основними валідаційними характеристиками;

- дослідити екологічну безпеку апробованої УФ-спектрофотометричної методики кількісного визначення гідрохлортіазиду в таблетках.

Об'єкт дослідження – обґрунтування підходів до розробки УФ-спектрофотометричної методики кількісного визначення гідрохлортіазиду в однокомпонентних ЛЗ.

Предмет дослідження – АФІ та таблетки “Гідрохлортіазиду” – 25 мг.

Методи дослідження

При виконанні дослідження для досягнення всіх поставлених завдань та цілей було застосовано спектрофотометрію в УФ – ділянці, методи валідації, кореляційний та регресійний аналіз, методи визначення безпечності та екологічності метод аналітичної еко-шкали, метод AGREE (Analytical GREENness) та інструмент GAPI (Green Analytical Procedure Index).

Наукова новизна отриманих результатів

Проведено верифікацію УФ-спектрофотометричної методики кількісного визначення гідрохлортіазиду в таблетках.

Повністю оптимізовано умови проведення аналізу, що гарантують перебіг реакції та задовільні результати. Проведено аналіз для підбору розчинника, концентрації реагента, довжини хвилі.

Для обраної методики проведено валідацію відповідно вимог ДФУ.

Досліджено екологічність та безпеку запропонованої УФ-спектрофотометричної методики за використання методів аналітичної еко-шкали, AGREE та GAPI, що підтверджують “зеленість” методики кількісного визначення гідрохлортіазиду в таблетках та відповідність принципам “зеленої” хімії.

Практичне значення одержаних результатів

Запропонована автентична методика УФ-спектрофотометричного визначення гідрохлортіазиду в субстанції та ЛЗ може бути використана для швидкого рутинного аналізу АФІ та ГЛЗ на однорідність вмісту, профіль розчинення тощо.

Проведено верифікацію методики для визначення гідрохлортіазиду з метою відповідності основним валідаційним характеристикам та критеріям прийнятності.

Апробація результатів кваліфікаційної роботи

Основні результати та положення кваліфікаційної роботи було представлено під час Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Сучасна фармація: реалії сьогодення та перспективи розвитку» (9-12 квітня 2024, Одеса).

Публікації

Дані кваліфікаційної роботи опубліковано в 1 тезах доповідей на науково-практичній конференції.

Обсяг та структура кваліфікаційної роботи

Кваліфікаційна робота викладена 53 сторінках машинописного тексту, складається із вступу та трьох розділів. Магістерська робота ілюстрована 10 рисунками та 6 таблицями.

РОЗДІЛ 1

АНАЛІЗ ІСНУЮЧИХ МЕТОДІВ РОЗРОБКИ ТА ВАЛІДАЦІЇ ГІДРОХЛОРТІАЗИДУ В СУБСТАНЦІЯХ ТА ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБАХ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1. Загальна характеристика гідрохлортіазиду

Артеріальна гіпертензія- захворювання, що супроводжується підвищеним кров'яним тиском (понад 140/90 мм рт.ст. і вище). За оцінками ВООЗ 16,2% людей у всьому світі віком 30-79 років страждають гіпертонією, 46% з них не знають, що в них наявна хвороба.

Серед основних факторів розвитку артеріальної гіпертензії:

- Вік
- Куріння
- Високий рівень глюкози натще
- Гіперхолестеринемія
- Ожиріння
- Наявність захворювання в родині

До факторів ризику, що мають вплив на розвиток хвороби відносять: нераціональне харчування, малорухливий спосіб життя, наявність шкідливих звичок та надмірна вага.

Для лікування даного захворювання у медичній практиці використовують такі групи препаратів: інгібітори АПФ, діуретики, антагоністи кальцію тривалої дії, антагоністи рецепторів ангіотензину II, бета-адреноблокатори [1].

Сьогодні можна з переконливістю сказати про гіпотензивну ефективність діуретиків, яка проявляється тією чи іншою мірою в усіх представників групи. Однак для зручності їх можна розділити на 2 групи:

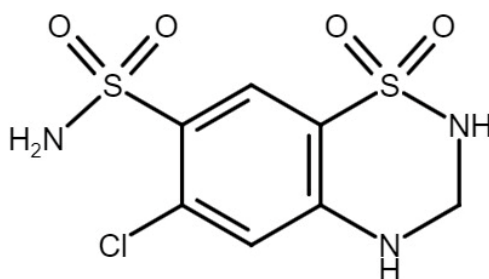
1. Діуретики для швидкого зниження АТ при гіпертонічному кризі (петльові та осмотичні).

2. Препарати, які застосовують при АГ тривало для підтримки рівня АТ в рекомендованих межах (тіазидні та тіазидоподібні, калійзберігаючі діуретики).

Враховуючи особливості ниркових ефектів, тіазидні та тіазидоподібні діуретики можна умовно поділити на два покоління. До препаратів першого покоління можна віднести тіазидні діуретики, похідні бензотіадіазину (гідрохлоротіазид, політіазид) та похідний фталімідину (хлорталідон). До препаратів другого покоління — похідні хлорбензаміду (індапамід, ксипамід), тіазидоподібні діуретикию .Тіазидний клас діуретичних лікарських засобів, котрі діють в дистальних каналцях нирок, в порівнянні з іншими класами діуретиків проявляють тривалішу дію.

Походження діуретиків починаєть з відкриття сульфаніламідних антибіотиків у 1937 році, дані препарати проявляли значну токсичність у вигляді ацидемії, погіршення діурезу та інгібуванням карбоангідрази, це стало причиною для пошуку субстанцій проти карбоангідрази, 1945 році було створено перший тіазидний діуретик – ацетазоламід. Через двадцять років було розроблено хлортіазид, який знайшов своє застосування у терапії гіпертонічної хвороби. Після значних модифікацій у 1959 році було створено більш потужний тіазидний діуретик – гідрохлортіазид [2].

Гідрохлоротіазид – належить до групи тіазидних діуретиків та є похідним бензотіазину є 3,4-дигідро-2Н-1,2,4-бензотіадіазин 1,1-діоксидом, що в 6 положенні заміщений хлором, а в 7-сульфонамідом.



За фізичними властивостями він зустрічається у вигляді білих кристалів або порошку, без запаху з гіркуватим смаком [3]. За механізмом дії він зменшує реабсорбцію електролітів в дистальних відділах ниркових каналців, в результаті це призводить до збільшення виведення води, калію, натрію, кальцію, магнію та хлору з організму. Препарат застосовують як допоміжна терапія для лікування застійної серцевої недостатності, нецукрового діабету, гіпертонії, набряків, цирозу печінки. Препарат було визнано корисним при набряках пов'язаних з нефротичним синдромом, гострим гломерулонефритом, хронічною нирковою недостатністю та різними формами ниркової дисфункції.

Фармакокінетика

Шлях виведення препарату з організму відбувається в незмінному вигляді з сечею, під час виділення відбувається конкуренція з сечовою кислотою, що призводить до затримки уратів в організмі, у хворих на подагру може розвинутися загострення хвороби. Як вже було зазначено, препарат підвищує реабсорбцію Кальцію в організмі, в результаті може виникнути гіпокальціємія, котра викликає порушення роботи паращитоподібної залози. Порушення виділення паратгормону має прямий вплив на реабсорбцію йонів Магнію-підвищується його виведення з сечею. Окрім вищезазначених побічних ефектів гідрохлортіазид може призвести до розвитку гіперглікемії, дисліпідемії, алергічних реакцій, порушення органів зору, у осіб з хворобами печінки підвищує ризик загострення та розриву печінкової енцефалопатії. Токсичність препарату може проявлятися підвищеною фоточутливістю та зниженням порогу фототоксичності [4].

Фармакодинаміка

Зазвичай доза гідрохлортіазиду становить від 25 до 100 мг на добу, препарат має хорошу всмоктуваність в травному тракті, показник біодоступності 80%, сечогінна дія настає через 2 години, максимальна концентрація препарату в крові після 3-6 годин, загальна тривалість дії становить до 12 годин.

Серед групи тiazидних діуретиків він є найпоширенішим препаратом, але в більшості випадків застосовується в комбінованій терапії з інгібіторами ангіотензинперетворювального ферменту, бета-блокаторами блокаторами кальцієвих каналів та антагоністами мінералкортикоїдних рецепторів. Гідрохлортiazид був схвалений FDA для використання 12 лютого 1959 року [4].

1.2. Огляд аналітичних методик визначення гідрохлортiazиду

Японська Фармакопея пропонує аналіз субстанції гідрохлортiazиду методом високоефективної рідинної хроматографії, як розчинник використовували розчин 4-аміноацетофенон в ацетонітрилі. Розмір хроматографічної колонки становить $4,6 \times 0,25$ у ролі рухомої фази був використаний дигідроген натрію фосфат та ацетонітрил у співвідношенні (9:1), швидкість подачі встановлено відповідно часу утримання 10 хв, детектування проводилося за довжини хвилі 254 нм [5].

Європейська фармакопея пропонує визначення гідрохлортiazиду за допомогою УФ-спектрофотометрії та видимої абсорбційної спектрофотометрії. Для приготування розчину беруть наважку субстанції та розчиняють в 10 мл 0,1 М розчині натрій гідроксиду, доводять водою до об'єму 100 мл. З першого розчину відбирають аліквоту 2 мл та розводять в колбі на 100 мл 0,01 М натрій гідроксидом. Детектування проводять в діапазоні хвилі 250-323 нм., враховуючи максимуми поглинання 273 нм та 323 нм [6].

Окрім того, Європейська Фармакопея містить методику, в якій застосовують метод тонкошарової хроматографії для ідентифікації гідрохлортiazиду. Для аналізу готують три розчини: досліджуваний, еталонний та розчин порівняння. В ролі розчинника обирали ацетон, в методиці застосовують силікагелеві пластинки F₂₅₄, в ролі рухомої фази – етилацетат. Виявлення проводили за довжини хвилі 254 в УФ-світлі [6].

У науковій літературі описується визначення гідрохлортiazиду у ЛЗ за допомогою різноманітних методик.

Індійськими вченими було запропоновано простий метод для визначення гідрохлортіазиду в комплексному ЛЗ за допомогою УФ-ВЕРХ. Хроматографічний аналіз було відтворено в колонці Silanol BDS C₁₈, компонентами рухомої фази були: вода та ацетонітрил в співвідношенні (30:70). Швидкість потоку рухомої фази становив 1мл/хв. Визначення проводилося при довжині хвилі 210 нм за допомогою фотодіодів та детектора. В результаті аналізу було отримано показник часу утримування гідрохлортіазиду 2,28 хв ±0,16, межі концентрації 6,2-18,75 мкг/мл, частка відновлення гідрохлортіазиду відповідає 99,78-100,39, межі LOD складає 0,410 мкг/мл та LOQ становить 1,367 мкг/мл відповідно. Опрацьована методика хроматографічного визначення є валідованою згідно з рекомендаціями ІСН [7].

Індійський вчений Джуї Дж. Пандя разом з колегами запропонували метод аналізу аліскірену та гідрохлортіазиду в комбінації за допомогою НРТЛС. Для проведення методу використали хроматографію на пластинках силікагелю 60 GF₂₅₄, у ролі рухомої фази було застосовано розчин метанол- хлороформ (6:4), аналіз аналіту проводили за довжини хвилі 225 нм. Показник R_f відповідали значенню 0,26± 0,2 для аліскірену та 0,71± 0,02 для гідрохлортіазиду, графіки регресії були лінійними та лежали в межах концентрацій 1,00-10,0 та 0,10-1,00 для препаратів, відповідно. Значення LOD/LOQ в цьому методі становили 0,206/0,624 мкг, 0,015/0,046 мкг для аліскірену та гідрохлортіазиду. Коефіцієнт кореляції для препаратів становить 0,9997 та 0,9998. Розроблена методика є простою, надійною, валідованою та може застосовуватися для аналізу фармацевтичних препаратів [8].

Dr. Mahesh Attimarad та співавтори запропонували швидкий метод ВЕРХ для комбінованого дослідження амлодипіну, олмесартану, гідрохлортіазиду, телмісартану та ірбесартану у фармацевтичних зразках. Дослідження проводили з використанням хроматографічної колонки Zorbax Agilent HPLC analytical C18 (150 мм × 4,6 мм, 5 мкм). У ролі рухомої фази обрали: дигідрофосфат калію, ацетонітрил і метанол у співвідношенні 35:45:20. Швидкість подачі рухомої фази

1,5 мл/хв при температурі навколишнього середовища, детектування проводили при довжині хвилі в 230 нм. Методика визначення є лінійною від 5 до 160 мкг/мл для гідрохлортіазиду, RDS становить 2 % у всіх випадках, що вказує на надійність методу [9].

Ще одним методом кількісного визначення гідрохлортіазиду в комбінованих лікарських засобах з використанням інноваційних методів високоефективної рідинної хроматографії з діодною матрицею та тандемними мас-детекторами запропонували єгипетські науковці. Розділення ВЕРХ-DAD було виконано з використання колонки Inertsil ODS-3 C 18 (250 × 4,6 мм, 5 мкм), що була приєднана до фотодіодного детектування за довжини хвилі 225 нм. В аналізі було вирокистано два види розчинників, один мав у складі дигідрофосфат калію доведений до рН 3.0 фосфорною кислотою, у ролі другого розчинника використали ацетонітрил. Діапазон лінійності для гідрохлортіазиду відповідає діапазону 0,1-100,0 мкг/л. Розроблена методика була валідована відповідно рекомендацій ІСН, продемонструвала високу здатність для аналізування досліджуваних речовин та може застосовуватися у рутинному фармацевтичному аналізі [10].

Турецькі вчені звернули увагу на використання у своїх дослідженнях високоефективного рідинного хроматографічного методу з оберненою фазою для аналізу гідрохлортіазиду та ірбесартану. Розроблена методика ґрунтується на використанні системи Agilent Technologies HP 1100 series (Wilmington, DE, USA) LC, що була оснащена дегезатором, автоматичним інжектором, четверним насосом та детектором з діодною матрицею. Як хроматографічна колонка використали X Terra RP ® (250x5 мм ID: 3 мкм), в ролі рухомої фази використали АСН : фосфатний буферний розчин із значенням рН 3 у співвідношенні концентрацій (60:40). Швидкість рухомої фази становила 0,8 мл/хв за довжини хвилі детектування 226 нм, процес розділення проводили за температури 30 °С. Відповідно лінійність було встановлено в діапазоні від 0,25 до 25 мкг/мл⁻¹ для гідрохлортіазиду, а коефіцієнт кореляції відповідав значенню

0,998. Межа виявлення та межа кількісного визначення для гідрохлортіазиду становила 0,012 та 0,036 мкг/мл⁻¹. Тому запропонований метод визнано екологічним для застосування та може легко використовуватися для фармацевтичного аналізу [11].

Ще одним досить цікавим методом для аналізу антигіпертензивних ЛЗ із застосуванням екологічно чистого міцелярно-органічного ВЕРХ, запропоновано єгипетськими дослідниками. Метою розробки даного методу – зменшення впливу, під час застосування органічного розчинника на екологію, без впливу на хроматографічний аналіз. Для аналізу використали альтернативну екологічну комбінацію органічних розчинників таких, як додецил сульфат натрію(SDS) з поліоксиетилен-23-лауриловим ефіром(Brij-35), яка може використовуватися в ролі рухомої фази ВЕРХ. Було встановлено, що найсприятливіші умови були за використання в ролі рухомої фази 0,1 моль/л SDS, 0,03 моль/л Brij-35 з показником кислотності 2,8. Аналіз проводили в колонці C18 за довжини хвилі детектування 210 нм, швидкість рухомої фази 1,5 мл/хв. В результаті аналізу було отримано показник лінійності в діапазоні 5-100мкг/мл для гідрохлортіазиду, коефіцієнт варіації становив 2%, показник LOQ відповідає 4,89 мкг/мл. Відповідно метод є валідованим згідно рекомендацій ІСН. Використання ПАР в ролі розчинника дає можливість усунути потребу в органічних розчинниках. Екологічність методу була встановлена за допомогою оцінки екологічного масштабу Green Analytical Procedure Index і Analytical Greenness Calculator, метод є чудовою екологічною альтернативою [12].

Вченими йорданського університету було запропоновано ще один метод ВЕРХ для одночаного аналізу гідрохлортіазиду та індапаміду з використанням “центрального композиційного дизайну” (CCD). Для дослідження використали колонку Hypersil®-Gold C 18 (100 × 4,6 мм, 3 мкм, Thermo Fisher Scientific, США), в ролі рухомої фази використали буфер дигідрофосфат калію 58%, ацетонітрил 25% та метанол 17%, детектування проводили за довжини хвилі 215 нм., а швидкість потоку рухомої фази відповідала 1,0 мл/хв. Результатами

аналізу стало отримання значення лінійності калібрувальних кривих в діапазоні 5-35 мкг/мл. Окрім того межа виявлення для гідрохлортіазиду та індапаміду становила 0,345 та 0,279 мкг/мл, тоді як межа кількісного визначення для препаратів становить 1,045 та 0,848 мкг/мл. Відповідно наведений метод є надійним згідно ІСН, та може застосовуватись для аналізу різних комбінацій препаратів [13].

Гізем Тіріс разом зі співавторами запропонували метод одночасного визначення гідрохлортіазиду, амлодипіну та телмісартану за допомогою спектрофотометричних та ВЕРХ технологій зеленої хімії. Для кількісного визначення препаратів було використано інноваційну, чутливу обернено-фазову високоефективну хроматографію, для аналізу застосували колонку Waters Spherisorb ODS-2 C18 дослідження проводили в діапазоні лінійності 4 - 40 мкг/мл. В ролі рухомої фази – ацетонітрил, метанол та фосфатний буфер у співвідношенні (65:5:30), швидкість подачі становила 1,5 мл/хв. Для аналізу було застосовано два нових спектрофотометричних методи для одночасного визначення препаратів. Перший метод полягає у визначенні концентрації речовин з врахуванням їх максимального поглинання, у результаті отримують факторизований спектр. Значення другого – полягає у аналізі багатокomпонентних сполук, завдяки високій чутливості та селективності метод дає можливість дослідити спектри, що перекриваються та усунення інтерференції матриці використовуючи одного компонента як дільника. Для проведення дослідження, також, було використано двопроменевий UV-VIS спектрофотометр Shimadzu UV 1800 із системним програмним забезпеченням Shimadzu UV Probe 2.52. Результатом аналізу стало отримання коефіцієнтів кореляції, що становлять 0,9971 для гідрохлортіазиду, 0,9990 для амлодипіну та 0,9983 для телмісартану, межі виявлення відповідали значенню 0,01 мкг/мл та 0,02 мкг/мл відповідно. В результаті було визнано запропоновану методику чутливою, точною, повторюваною та відповідною до стандартів зеленої хімії [14].

Науковцями університету Саудівської Аравії було запропоновано валідацію методу ВЕРХ для одночасного визначення амлодипіну, валсартану та гідрохлортіазиду. Для аналізу використали колонку ODS C-18 (250 мм × 4,6 мм з внутрішнім діаметром 5 мкм), у ролі рухомої фази обрали ацетонітрил-дигідрофосфат калію (рН 3.5) у співвідношенні (45:55). Швидкість рухомої фази становила 1,5 мл/хв за довжини хвилі детектування 230 нм із застосуванням фотодіодного детектора. Відповідно лінійність було встановлено в діапазоні 0,2-100 мкг/мл, коефіцієнт кореляції відповідає для амлодипіну- 0,9999, для гідрохлортіазиду та валсартану- 0,9993, межі виявлення становлять 0,010; 0,010; 0,011 для валсартану, гідрохлортіазиду та амлодипіну. Розроблений метод є селективним та швидким, не вимагає складних процедур підготовки проб та рухомих фаз, може застосовуватися для визначення аналізованих препаратів в лікарських формах [15].

SK Manirul Naque запропонував метод визначення гідрохлортіазиду за допомогою ВЕРХ з експериментальною оптимізацією дизайном Бокса-Бекена. В аналізі використали колонку на якій було досягнуто найбільше розділення гідрохлортіазиду: ODS Hypersil C 18 (250 мм × 4,6 мм, 5 мкм), в ролі рухомої фази використали комбіновану конструкцію методології поверхні Бокса-Бекена: ацетонітрил та метанол у концентраціях (10,6% та 16,2%), показник рН 3.497, швидкість потоку рухомої фази 1 мл/хв, детектування проводили при довжині хвилі 210 нм. Значення LOQ/LOD становлять 3,33 та 1,09 мкг/мл⁻¹. Для перевірки надійності було проведено факторний план Штайнера та Юдена з типовими умовами. Розроблена методика була валідована відповідно рекомендаціям ІСН та може застосовуватися для аналізу гідрохлортіазиду в лікарських формах та з метою контролю якості [16].

Fawzia A. Ibrahim, Amina M. El-Brashy, Mohamed I. El-Awady запропонували нову зелену методику для одночасного визначення гідрохлортіазиду та телмісартану. Метою дослідження було скорочення або виключення небезпечних хімічних речовин в аналізі субстанцій. В основі методу

було покладено два методи аналізу субстанції. Першим методом дослідження було запропоновано ВЕРХ з використанням міцелярної рухомої фази, що складається з додецилсульфату натрію, триетиламіну та пропанолу, для аналізу застосували систему HPLC Merck Hitachi LaChrom модель L-7100 (Дармштадт, Німеччина), оснащену клапаном, інтегратором та дегазатором, дослідження проводили за довжини хвилі 235 нм., з швидкістю подачі рухомої фази 2 мл/хв при рН 6.0. В результаті аналізу було отримано лінійність в діапазонах концентрації 1,0-20,0 мкг/мл для телмісартану та 0,8-20,0 мкг/мл для гідрохлортіазиду, відсоток відновлення субстанцій $100,07 \pm 1,16$ та $100,6 \pm 0,92$ відповідно. В ролі другого методу використали коефіцієнт поглинання, що залежить від точки ізопоглинання та максимальної довжини хвилі досліджуваних препаратів. В ході аналізу було визначено точні ізопоглинання для двох препаратів 264,6 нм та 277,3 нм, відсотки відновлення для телмісартану становить $99,83 \pm 0,94$, а для гідрохлортіазиду $99,86 \pm 0,87$. Запропоновану методику було визнано економнішою, екологічною та безпечною в порівнянні із загальними методами аналізу, було проведено оцінку методики за допомогою аналітичної екошкали та зеленості [17].

Salahuddin Ali разом з співавторами запропонували хемометричний метод одночаного визначення кандесартану целексетину та гідрохлортіазиду в бінарній комбінації. Для визначення двох лікарських речовин використовували методи додавання Н-точки (HPSAM), Q-коефіцієнта поглинання та спектрофотометричний метод корекції абсорбції. Аналіз проводили за допомогою УФ-видимого спектрофотометра (AE-S60) з кварцовою кюветою розміром 1,0 см, всі вимірювання були оброблені за допомогою програми MetaSpec Pro. Компонентами стандартного розчину була субстанція гідрохлортіазиду та кандесартану, що розчинялися в стехіометричних об'ємах NaOH/ етанол (1:1). В результаті першого дослідження субстанцій, що проводили за допомогою додавання точки Н на обраних довжинах хвиль 239 нм та 283 нм. Перша точка ізопоглинання двох субстанцій відповідає 258 нм, друга

при довжині хвилі для гідрохлортіазиду становила 273 нм. За допомогою методу корекції адсорбції було встановлено для обох довжин хвиль досліджуваних субстанцій лінійність в діапазонах концентрацій становить 1-46 мкг/мл та 1-44 мкг/мл. Для методу Q- поглинання лінійність при довжині хвилі 273 нм для целекситину 1-29 мкг/мл та для гідрохлортіазиду 1-46 мкг/мл. При довжині хвилі 258 нм для целекситину 1-46 мкг/мл і гідрохлортіазиду 1-44 мкг/мл. В методі корекції адсорбції лінійність в діапазоні концентрацій при довжині хвилі 250-340 нм відповідає 1-46 мкг/мл, при довжині хвилі 250 нм – 1-44 мкг/мл. Вихід аналізу відповідає значенню 96-102 % для двох препаратів. Межа LOD для гідрохлортіазиду становить 0,46 - 0,94 мкг/мл. Методика аналізу є валідована відповідно настанови ІСН [18].

Ще один метод спектрофотометричного визначення гідрохлортіазиду в комбінованому препараті з карведилолом запропонували Abdelwahab разом з співавторами. Для досліду використали подвійний спектрофотометр UV-1601 РС з 1 см кварцовим осередком. Компонентами стандартних розчинів є субстанції гідрохлортіазиду та карведилолу, розчинені в 0,1 М розчині НСІ. Методом подвійної довжини хвилі виміряли значення адсорбції для гідрохлортіазиду при довжині хвилі 266 і 289,4 нм та карведилолу 238 і 248,8 нм. Побудова графіка різниці поглинання субстанції гідрохлортіазиду дорівнює нулю проти відповідної концентрації. Межі LOD- $3.3 (\delta / S)$ та LOQ- $10 (\delta / S)$. Діапазон концентрацій для субстанцій в першому методі 1-10 мкг/мл для обох препаратів, в методі Q- поглинання концентрації становлять 1-10 і 2-10 мкг/мл. Перевірка методики була проведена відповідно настановам ІСН [19].

В'єтнамськими вченими було запропоновано метод, в основі якого було використано спектрофотометрично-хеометричний метод в поєднанні з фільтром Калмана для аналізу комбінованого препарату гідрохлортіазиду, амлодипіну та валсартану. В розробленій методиці було використано таблетки комбінованого препарату, як розчинник використали розчин метанолу, вимірювання проводили за допомогою спектрофотометра V-630 UV/Vis

Spectrometer JASCO діапазон хвиль відповідає 230-340 нм. За допомогою цієї методики було встановлено, що метод Калмана має перевагу над методом найменших квадратів при застосуванні повного спектру - менше помилок та має кращу повторюваність. Всі показники визначені за допомогою цієї методики були ідентичними до результатів, що отримані за допомогою ВЕРХ. Метод Калмана було визнано простим та менш затратним в порівнянні з методом високоефективної рідинної хроматографії [20].

Вчені індійського департаменту фармацевтичного аналізу, запропонували метод дослідження гідрохлортіазиду та ірбесартану в комбінованій лікарській формі. Для досліду приготували два розчини з досліджуваними субстанціями, кожен препарат розчинили у метанолі, довжина хвилі була встановлена в діапазоні 200-400 нм. Вимірювання спектру проводили на двопроменевому УФ-спектрофотометрі UV-1800 SHIMADZU з кварцовими кюветами 1см. У дослідженні було використано два методи: метод одночаноного рівняння та метод коефіцієнта поглинання (Q-аналіз). В результаті першого методу було встановлено максимуми поглинання для двох субстанцій: ірбесартан-205нм і гідрохлортіазид-272нм. Результатом методу коефіцієнтів поглинання було встановлено три ізоабсорційні точки 214,09, 231,28 та 258,75 нм. В результаті цієї методики було розраховано концентрацію кожної субстанції г/100мл в кожному розчині [21].

В'єтнамськими вченими разом з колегами описано методику спектрофотометричного визначення гідрохлортіазиду та лозартану калію. У запропонованій методиці використали алгоритм фільтра Калмана для обрахунків концентрації досліджуваних речовин. Вимірювання спектру проводили за використання UV-Vis спектрофотометра Cary 60 в діапазоні довжини хвиль 220-300нм з інтервалом в 1нм. В ході методики було встановлено LOD та LOQ для гідрохлортіазиду 0,37 і 0,12 мкг/мл. Метод дає хорошу повторюваність, скорочує час для приготування зразка, також, кількість утворених відходів та

використаного розчинника. Простота цього методу роблять його придатним для рутинного контролю якості фармацевтичних препаратів [22].

Методику аналізу потрійної суміші амлодипіну, гідрохлортіазиду та телмісартану шляхом маніпулювання УФ-спектрами запропонували науковці Саудівської Аравії. Автори використали для дослідження подвійний спектрофотометр Shimadzu UV-Vis (UV-1700), довжина хвилі була в діапазоні 200-400 нм, в ролі розчинника використали 50 об/об етанол-вода. Перший метод кількісно визначали за допомогою вимірювання висоти піку при врахуванні нульової довжини другої похідної спектрів для НСЗ- 279.4 нм. Другий метод визначення різниці поглинання між піком і спадом на різних довжинах подвійного спектру (272.1- 241.5 нм для гідрохлортіазиду). Третій метод полягає у вимірюванні пікової амплітуди мінімумів та максимумів першої похідної спектрів відношення подвійного девізора (278.9 нм- гідрохлортіазид). Дана методика є простою, екологічно чистою, швидкою та економною у порівнянні з хроматографічними. Інтелектуальний аналіз потрійної суміші амлодипіну, гідрохлортіазиду та телмісартану шляхом маніпулювання УФ-спектрами: розробка, валідація та застосування до рецептур [23].

Ще одним цікавим спектрофотометричним визначенням комбінованої форми каптоприлу та гідрохлортіазиду є метод додавання точки Н. Для дослідження використали двопроменевий УФ - видимий спектрофотометр Perki Elmer Lambda 25 з 1 см кварцовими кюветами. Оптичну густину вимірювали за довжини хвилі 211.5 і 230.3 нм. В результаті аналізу було встановлено, що в підготовлених сумішах каптоприлу/гідрохлортіазиду можна визначати при різних співвідношеннях концентрацій(1,0:0,8 та 2,5:1,5 мкг/мл). Відсоток відновлення для гірохлортіазиду (96.8-105 %) та для каптоприлу (95.33-104.37%), відносне стандартне відхилення становить 2,46 %. Метод є високоточним для оцінки комбінованого антигіпетензивного препарату [24].

Індійські вчені запропонували метод ультрафіолетової спектрофотометрії для визначення гідрозлортіазиду та аліскірену у фармацевтичних зразках. Для

проведення аналізу застосували двопроменевий УФ-спектрофотометр (UV-1800, Shimadzu). Для аналізу було використано 25 стандартних зразків з різними співвідношеннями, 16 з яких були калібрувальними, а 9 валідаційними. Всі набори визначали в діапазоні хвиль 231-334 нм з інтервалом 1нм у метанолі, використали модель найменших квадратів, содель CLS була визнана найкращою. Відповідно закону Біра діапазони концентрації для гідрохлортіазиду (2.5- 12.5 мкг/мл) та аліскірену (30.0-150.0 мкг/мл). Метод було перевірено Міжнародною конференцією ІСН та визнано простим, точним та відзначився своєю новизною в техніці [25].

Н. К. Noor разом зі своїми колегами запропонували ще один методу видимого спектрофотометричного методу визначення гідрохлортіазиду в чистому вигляді. Метод заснований на кислотному гідролізі препарату, який потім взаємодіє з натрій нітритом для утворення діазонової солі, що взаємодіє з резорцином в лужному середовищі для утворення барвника розчинного у воді. Для аналізу використали двопроменевий спектрофотометр US/VIS Shimadzu 800, найбільше поглинання було за довжини хвилі 426 нм. В результаті методики було встановлено, що відносне стандартне відхилення (RSD) в межах ($\leq 4\%$). Метод показав хорошу точність, швидкість та легкість для визначення гідрохлортіазиду у фармацевтичних препаратах [26].

Індійським департаментом хімії було запропоновано аналітичний метод для дослідження вмісту гідрохлортіазиду за допомогою УФ-спектрофотометрії. Для дослідження було використано двопроменевий УФ-видимий спектрофотометр SL 210 з кварцовими кюветами 1см Make-Eliso з програмним забезпеченням Spectra. В ролі розчинника використали етанол, сканування проводили в діапазоні хвиль 200-400нм, максимум поглинання відповідає значенню 271нм. Для встановлення лінійності взяли 5 різних концентрацій препарату та виміряли відповідно до розробленої методики, було побудовано лінійну криву та розраховано коефіцієнт кореляції, що відповідає 0,9995. Описаний метод має хорошу повторюваність та був валідований за різними

показниками, що дає можливість використовувати методо для рутинного аналітичного дослідження гідрохлортіазиду [27].

Турецькими вченими було запропоновано ще один досить цікавий метод спектрофотометричного визначення гідрохлортіазиду разом з лозартаном калію з використанням вейвлетного перетворення Symlets5- CWT (SYM5-CWT). Для аналізу застосували двопроменевий US-VIS спектрофотометр Shimadzu UV-1601, врахувавши спектри поглинання сумішей було встановлено діапазон 200-305 нм, ролі розчинника використали метанол. За допомогою розробленої методики аналіз був вдалим, та не вимагав попереднього розділення досліджуваних препаратів. Було отримано калібрувальні рівняння для гідрохлортіазиду при 259.1 нм та лозартану калію при 247.7 нм. Запропонований метод був успішний для застосування в спектральному аналізі комбінованих лікарських препаратів лозартану калію та гідрохлортіазиду без попереднього розділення, якщо спектри досліджуваних речовин сильно перекриваються. Метод є валідованим та багатообіцяючим підходом для аналізу комбінованих сполук [28].

Fadel Wedian разом з співавторами запропонували методику для визначення гідрохлортіазиду та пропранололу з використанням двовимірного спектрофотометричного та спектрофлуорометричного методів. Дослідження проводили з використанням Evolution Array UV-VIS Spectrophotometer, USA для спектрофотометричного двофакторного визначення, спектри поглинання реєстрували в діапазоні хвиль 190-350 нм. Для флюорометричного аналізу використали Perkin Elmer (Fluorescence Spectrometer LS45, США), модель B0631107 та в діапазоні 300-600 нм. Для спектрофотометричного аналізу приготували серію стандартних розчинів в діапазоні робочої концентрації від 1,0 до 25.0 мг/л для гідрохлортіазиду та 1.0 до 20.0 мг/л для пропранололу. У флюорометричному аналізі робочі концентрації розчинів мали діапазон від 0.010 до 0.30 мг/л для пропранололу та 0.010 до 0.20 мг/л для гідрохлортіазиду. Довжини хвиль поглинання та випромінювання для гідрохлортіазиду відповідали

270 та 415 нм. В ході аналізу було виявлено межі LOD і LOQ для гідрохлортіазиду при 270 нм становить 0.013 і 0.0060 мг/л, а для пропранололу при 235 нм 0.0070 та 0.021 мг/л. Запропонований метод аналізу був валідований відповідно рекомендацій ІСН [29].

Вченими єгипетського університету було запропоновано метод спектрофотометричного визначення комбінованих сумішей застосовуючи метод самодеконволюції Фур'є. Даний метод є модифікацією традиційного (FSD), адже дає можливість дослідження бінарних сполук та долає складність використання традиційної техніки підгонки кривої деконволюції до УФ-спектрофотометричних даних. В цьому методі визначаються індивідуальні спектри кожного аналізованого препарату з метою уникнення похибок у деконволюційних спектрах для точності визначення. Завдяки цьому методу дослідили бінарні суміші гідрохлортіазид/ телмісартан та раміприл/гідрохлортіазид в їх лікарських формах. Після сканування спектрів нульового порядку двох бінарних сумішей було встановлено, що точне визначення гідрохлортіазиду можна здійснити через суміш телмісартан/гідрохлортіазид, адже в іншому випадку відбувається серйозне перекриття спектрів, що перешкоджає точному визначенню компонентів. В результаті аналізу було визначено лінійні діапазони для кожного компоненту 1-25 мкг/мл для телмісартану, 5-35 мкг/мл для раміприлу та 1-10 мкг/мл, меді виявлення препаратів були в діапазоні 0.067-0.747 мкг/мл. Отож, дана методика відповідає рекомендаціям ІСН, та визнана простою, менше затратною по часу, високій чутливості та відсутності потреби в складному програмному забезпеченні в порівнянні з традиційними методами FDA [30].

Ще одним дослідженням єгипетських науковців стало спектрофотометричне визначення антигіпертензивних препаратів за допомогою методу парної обробки даних за довжиною хвилі. В цьому методі було розроблено інноваційна, точна, біла спектрофотометрична техніка обробки даних за довжиною хвилі (PWDPT). Для аналізу використали препарати

антигіпертензивної терапії кандесартан цилексетил та гідрохлортіазид. В основі методики знаходиться три методи: роздільна здатність по амплітуді, здатність поглинання та вилучення співвідношення. Для дослідження було використано спектрофотометр Shimadzu (UV-1800), з програмним забезпеченням UV-Probe 2.43, діапазон хвиль відповідав 200-400 нм., у ролі розчинника використали етанол. Максимуми поглинання для препаратів було встановлено в ході роботи, що відповідали значенню 270.5 та 255.0 для кандесартану та гідрохлортіазиду, завдяки цьому показнику було відтворено три головних методи дослідження. Як результат за допомогою цього методу було встановлено діапазони лінійності для кандесартану (5.0-50.0 мкг/мл), та гідрохлортіазиду (2.0-24.0 мкг/мл). Запропоновані методи були валідовані згідно рекомендацій ІСН, також, було проведено порівняння зеленості нового методу з офіційними потенціометричними методами та ВЕРХ. Зеленість методики перевірили ще допомогою чотирьох інструментів: Аналітичної екошкали, Зеленої аналітичної процедури індекс (GAPI), Національного індексу екологічних методів (NEMI) та аналітична метрика зеленості (AGREE), завдяки цим методам було встановлено екологічність нового методу. Унікальність, точність простота розробленого методу сприяли застосуванню його у лабораторіях з контролю якості [31].

Ще одні дослідженням цих самих науковців стало розробка екологічно чистого спектрофотометричного аналізу третинної терапії для лікування пацієнтів з гіпетронічною хворобою. В цьому дослідженні було створено екологічний інноваційний метод спектрофотометрії з виділенням вихідного спектру для оцінки потрібного препарату зі складом: валсартан, амлодипін та гідрохлортіазид. В основі методу виділення вихідного спектру є два етапи: роздільна здатність аналізу даних в поєднанні з допоміжною роздільною здатністю, таким чином аналіз дає змогу дослідити спектри препаратів, що перекриваються не впливаючи на точність отриманих даних. Для аналізу було використано двопроменевий спектрофотометр Shimadzu (UV-1800, Японія), з 1.0 см кварцовими кюветами, сканування проводили да довжини хвилі 200-400 нм,

в ролі розчинника використали етанол. Для проведення аналізу було побудовано калібрувальний графік з максимумами поглинання препаратів 237.5; 250.0; 270.5 для амлодипіну, валсартану та гідрохлортіазиду відповідно. Всі попередньо запропоновані методи аналізували в діапазонах 2.0- 24.0; 4.0 - 40.0; 4.0 - 44.0 мкг/мл для гідрохлортіазиду, амлодипіну та валсартану відповідно з коефіцієнтом кореляції $\geq 0,9999$. Запропоновані методи аналізу було відповідно до рекомендацій ІСН, та встановлено їхню прецизійність, що відповідає встановленим межам. Також, нові методи були перевірені на екологічність за допомогою чотирьох параметрів: Національним індексом екологічних методів (NEMI), Індексом зелених аналітичних процедур (GAPI), Аналітичною метрикою екологічності (AGREE) та Аналітичною екошкалою, та встановлено, що методи є екологічним та білими, можуть використовуватися в аналізі та контролі чистих матеріалів [32].

Індійськими вченими було запропоновано хемометричний допоміжний спектрофотометричний метод для одночасного аналізу олмесартану, медоксомілу та гідрохлортіазиду в масі та таблетках. В основі аналізу покладено спектрофотометричне дослідження даних в поєднанні з методом частковими найменшими квадратами. Для дослідження використали двопроменевий УФ-видимий спектрофотометр (Shimadzu UV-1800, Shimadzu Corporation, Кіото, Японія), з 1см кюветами, в ролі розчинника використали метанол. Було використано 25 синтетичних суміші омелсартану, медоксомілу та гідрохлортіазиду, спектри котрих були записані в лінійних діапазонах концентрацій 2.5-20.0 мкг/мл та 4.0-32.0 мкг/мл відповідно. Шістнадцять наборів були калібрувальними, девять із них перевірочними, аналіз проводили за довжини хвилі в діапазоні 200 до 350 нм. Розроблений метод показав простоту та швидкість та є альтернативою іншим складним методами та може бути використаний в контролі якості ЛЗ [33].

Ще один спектрофотометричний метод одночасного визначення гідрохлортіазиду та амілориду в суміші було запропоновано індійськими

науковцями. Для аналізу використали УФ-спектрофотометр Labindia модель-3000, з кварцовими кюветами 1 см, для дослідження обрали чутливий та нетоксичний розчинник 0.1N NaOH. Під час одночасного визначення препаратів було використано максимуми поглинання амілориду 244 нм та гідрохлортіазиду 280 нм. Діапазон лінійності для препаратів в діапазоні лінійності відповідав 5-25 мкг/мл. Представлена методика визначення амілориду та гідрохлортіазиду була валідована відповідно рекомендацій ІСН та можуть бути застосовані для комбінованого аналізу [34].

Єгипетськими науковцями було запропоновано новий метод дослідження фозиноприлу натрію та гідрохлортіазиду в присутності домішки хлортіазиду. В основі аналізу було покладено три методи дослідження. Перший метод-спектрофотометричний метод різниці співвідношення, в якому для визначення гідрохлортіазиду було використано в ролі ділильника хлортіазид і отримано різницю амплітуд гідрохлортіазиду (275 та 293,6 нм) для розрахунку його концентрації. Другим методом був спектрофотометричний метод середнього центрування спектрів співвідношення в якому аналізували реалізацію спектрів середньоцентрованого співвідношення, для гідрохлортіазиду показник відповідав 223.8 та 224.2 нм. Третім методом аналізу був ТШХ із застосуванням пластин силікагелю 60 F 254 для аналізу потрійної суміші та проявної системи етилацетат-хлороформ-метанол-мурашина кислота у співвідношенні (60:40:5:0,5), зі скануванням в УФ спектрі за довжини хвилі 215 нм. Розроблений метод є валідований відповідно ІСН, та може використовуватися для аналізу препаратів у лікарських формах [35].

Екологічно чистий та удосконалений метод УФ- спектрофотометричного визначення бінарних та потрійних сумішей антигіпертензивних препаратів запропонували науковці єгипетського університету. В основу аналізу покладено деконволюція Фур'є, амплітудний фактор та методи першої похідної. Метод деконволюції Фур'є є модифікацією традиційних методів FDA, за допомогою цього методу можна звільнити аналіз від згенерованих спектрофотометром

фізичних звивин сигналів, що має вагомий вплив на точність отриманих результатів дослідження. В розробленій методиці досліджувалися амлодипін, гідрохлортіазид, телмісартан та хлорталідон, що входили в склад препаратів у вигляді третинної та бінарної суміші. Всі дослідження проводилися за допомогою двопроменевого спектрофотометра (Jasco, Японія). В ході аналізу було встановлено межі виявлення в діапазонах 0.0121-0.0433 для телмісартану, 0.1547-0.1767 для гідрохлортіазиду та 0.0578-0.1262 мкг/мл для хлорталідону. Також, методику було перевірено на екологічність за допомогою методу штрафних балів, що показав повну зеленість у відношенні до реагентів, приладів та відходів. Методи було визнано простими, зеленими, точними та чутливими [36].

Висновки до розділу I

1. Лікарський препарат – гідрохлортіазид, є лідером серед сучасних діуретичних ЛЗ, що застосовується в комбінованій терапії для лікування гіпертонічної хвороби, є економічно-доступним для споживача.

2. Проаналізувавши джерела літератури, можна стверджувати, що аналіз субстанції гідрохлортіазиду проводять за використання інструментальних методів аналізу, найчастіше використовується ВЕРХ, спектрофотометричний аналіз в УФ-ділянці.

3. Аналіз представлених методик для визначення гідрохлортіазиду показав, що в більшості випадків дослідження проводяться з використанням дороговартісного обладнання та реагентів, використання токсичних розчинників з обмеженим обігом, що ускладнює використання розроблених методів аналізу.

4. Вирішення проблеми полягає у затвердженні та верифікації швидкої, простої та безпечної методики кількісного визначення гідрохлортіазиду в ЛЗ у відповідності з принципами “зеленої хімії”.

5. Аналіз джерел літератури показав перевагу використання спектрофотометричних методів аналізу гідрохлортіазиду та необхідність

розробки швидкої, доступної та безпечної методики УФ-спектрофотометричного визначення даної субстанції.

6. Тому, тема опрацювання, розробки та верифікації УФ-спектрофотометричної методики кількісного визначення гідрохлортіазиду є актуальною для фармацевтичного аналізу.

РОЗДІЛ 2

ОБҐРУНТУВАННЯ ОБ'ЄКТУ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА МОДЕЛЮВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТУ

Для підтвердження наведених раніше методик кількісного визначення гідрохлортіазиду було обрано найбільш поширений, ефективний та точний метод – спектрофотометричного аналізу. Принцип методу полягає у поглинанні або відбитті досліджуваним зразком променів світла з певною довжиною хвилі [37]. Розглянувши всі найпоширеніші методи спектрофотометрії було обрано найдоступніший метод, який не вимагає використання складного обладнання, та дозволяє швидко та точно провести аналіз – УФ-спектрофотометрію. Для впорядкування основних процесів есперименту було створено дизайн дослідження в якому наведено послідовність всіх стадій проведення спектрофотометричного аналізу досліджуваного зразка. На початку було проведено аналіз літературних джерел, завдяки цьому було обрано найоптимальніші умови для спектрофотометричної методики та її відтворення. Наступним етапом було проведення верифікації методики та підтвердження її відповідно принципам “зеленості”.

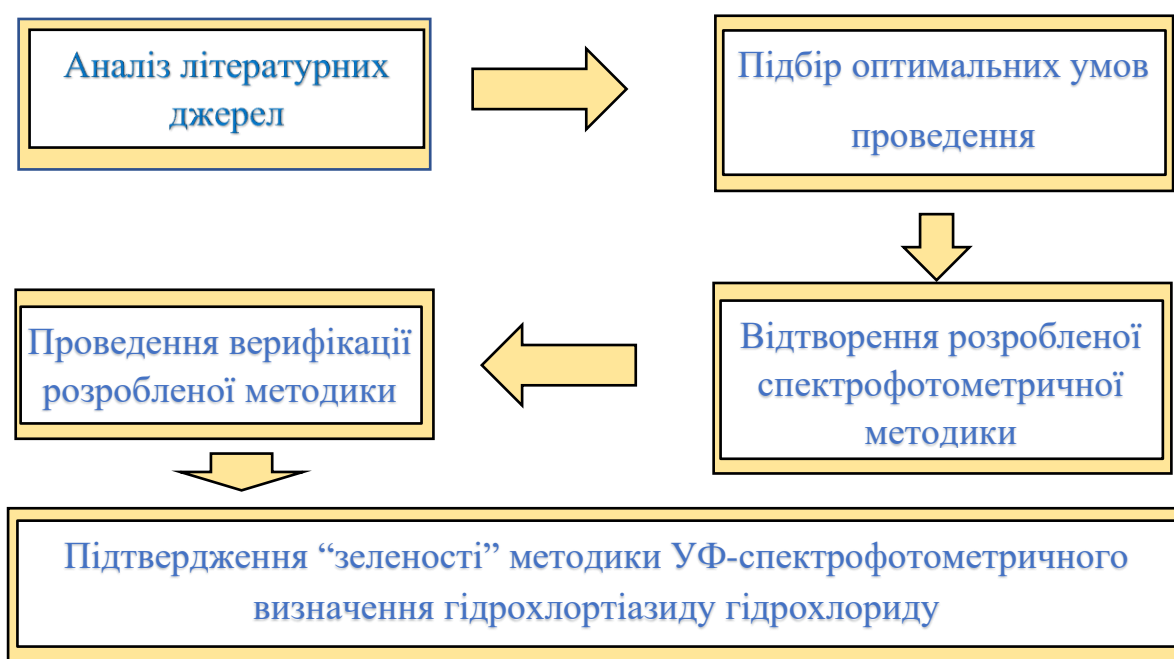


Рис.2.1 - Дизайн розробки методики кількісного визначення гідрохлортіазиду

2.1. Фізико-хімічні властивості досліджуваного об'єкту

Гідрохлортіазид – білий кристалічний порошок або кристали з помірним гірким смаком. Щодо розчинності – легко розчинний в ацетоні, помірно розчинний в ацетонітрилі, у воді та 95 % етанолі - практично не розчиняється. Молекулярна маса речовини становить 297.74 г/моль, температура плавлення становить 267°C [38].

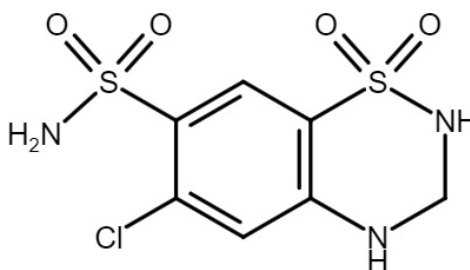


Рис.2.2 – Структурна формула гідрохлортіазиду

За хімічною будовою це – 6-Хлор-3,4-дігідро-2Н-1,2,4-бензотіадіазин-7-сульфонамід-1,1-діоксид.

Для проведення кількісного визначення у якості об'єкта дослідження було використано таблетки “Гідрохлортіазид” 25 мг №20 (Борщагівський ХФЗ, Україна). Як стандарт використовували фармакопейний стандартний зразок Державної Фармакопеї України (ФСЗ ДФУ) гідрохлортіазиду гідрохлориду, серія(«Sigma Aldrich», ≥98 %, HPLC).

2.2 Характеристика методики дослідження

На основі аналізу джерел наукової літератури, щодо вибору методики кількісного визначення гідрохлортіазиду в таблетках, було обрано метод спектрофотометричного визначення в ультрафіолетовій області.

Для виконання даного експерименту було використано таке обладнання та реактиви:

- спектрофотометр двопроменевий “ Shimadzu UV-1800”(Японія);
- ваги електронні лабораторні “RAD WAG AS 200/C”;
- баню ультразвукову “ Sonorex Digitec DT100H” ;
- шейкер орбітальний “ ІКА KS4000i”;
- рН-метр “И-160МИ”;
- для аналізу спектрів поглинання - програмне забезпечення UV-Probe 2.62;
- мірний посуд класу А;
- кварцові кювети із товщиною 1 см;

Реактиви, що було використано для аналізу, належать до класу аналітичних реагентів.

2.3 УФ-спектрофотометрична методика визначення гідрохлортіазиду у таблетках

Приготування випробовуваного розчину таблеток «Гідрохлортіазид», 25мг. До точної наважки порошку таблеток, еквівалентну 39.6 мг гідрохлортіазиду гідрохлориду поміщають у мірну колбу місткістю 100.0 мл та розчиняють у 60.0 мл 0.1 М NaOH Р. Після того нагрівають впродовж 5-10 хв на водяній бані при температурі 50 °С, охолоджують і доводять 0.1 М NaOH Р до мітки, перемішують та фільтрують розчин за допомогою фільтрувальної нейлонової мембрани з товщиною 0.2 мкм, перші порції фільтрату відкидають. У мірну колбу на 10.0 мл відбирають аліквоту 1.00 мл, доводять 0.1 М NaOH Р до мітки та перемішують.

Реєструють поглинання розчинів, застосовуючи компенсаційний розчин 0.1 М NaOH Р при довжині хвилі 273 нм.

Приготування ФСЗ гідрохлортіазиду гідрохлориду. 39.6 мг гідрохлортіазиду гідрохлориду поміщають у мірну колбу місткістю 100.0 мл та

розчиняють у 60.0 мл 0.1 М NaOH Р. Після того нагрівають впродовж 5-10 хв на водяній бані при температурі 50 °С, охолоджують і доводять 0.1 М NaOH Р до мітки, перемішують У мірну колбу на 10.0 мл відбирають аліквоту 0.5 мл, доводять 0.1 М NaOH Р до мітки та перемішують.

Реєструють поглинання розчинів, використовуючи компенсаційний 0.1 М NaOH Р при довжині хвилі 273 нм.

РОЗДІЛ 3

РОЗРОБКА ТА ВАЛІДАЦІЯ УФ-СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНОХ МЕТОДИКИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ГІДРОХЛОРТІАЗИДУ В СУБСТАНЦІЯХ ТА ГОТОВИХ ЛІКАРСЬКИХ ФОРМАХ

У попередніх розділах кваліфікаційної роботи було описано основні методики аналізу гідрохлортіазиду, та висвітлено основні переваги спектрофотометричних методів над іншими інструментальними методами. Для розроблення точної та коректної методики було проаналізовано методику Індійських вчених [34], в основі якої був аналіз комбінованої лікарської форми гідрохлортіазиду та амілориду. Завдяки отриманим результатам з публікації ми змогли модернізувати власну методику та врахувати всі помилки, що виникли в науковій праці індійських вчених для вдосконалення нашої експериментальної методики. Проте, для отримання точного та коректного результату метод потребував підбору оптимальних умов пробпідготовки для точності запропонованої методики кількісного визначення гідрохлортіазиду.

3.1. Експериментальна частина

3.1.1. Підбір оптимального розчинника, концентрації та відповідної довжини хвилі

Для створення методики аналізу гідрохлортіазиду, ми зупинилися на УФ-спектрофотометричному аналізі. Важливим етапом в верифікації методу – правильний підбір розчинника. Попередньо врахувавши, всі фізико-хімічні властивості досліджуваного зразка та екологічність нами було обрано декілька розчинників, серед яких найкращі результати в ході попереднього аналізу показав – 0.1 М розчин NaOH (рис.3.1).

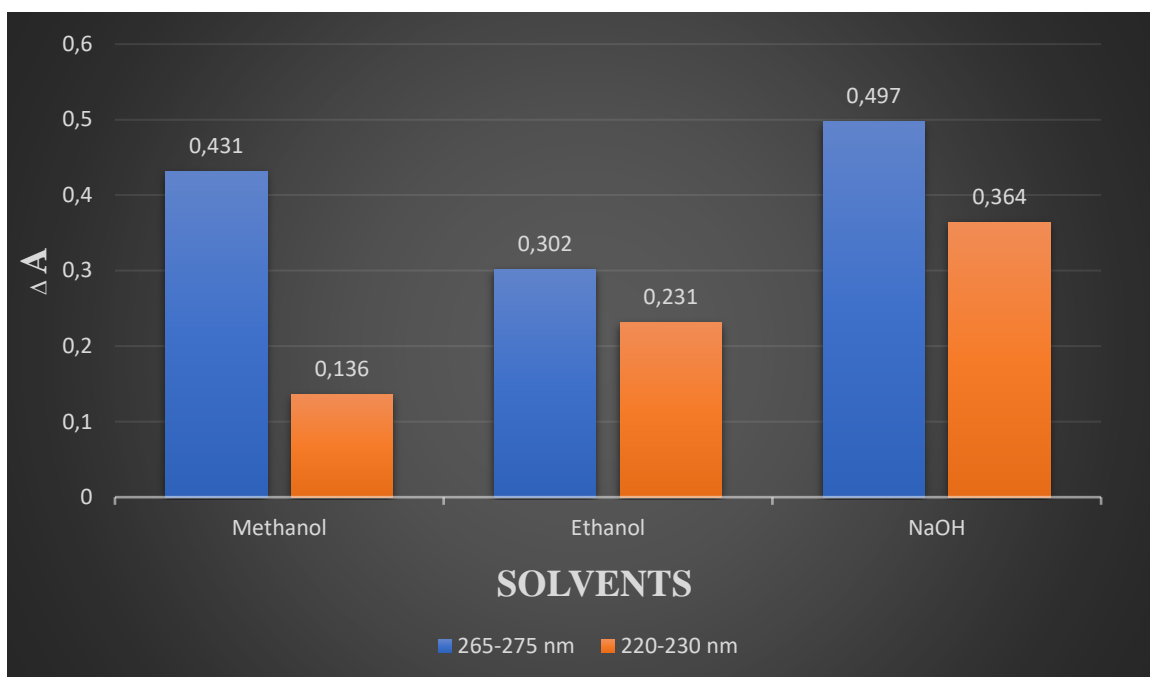


Рис.3.1 – показники поглинання гідрохлортіазиду у різних розчинниках

Під час підбору оптимального розчинника для кількісного визначення гідрохлортіазиду в таблетках було встановлено, що 0.1 М розчин NaOH має найкращий показник поглинання за довжини хвилі, котра була обрана нами як аналітична смуга для кількісного визначення гідрохлортіазиду – 273 нм.

Для відтворення методики було використано таблетки гідрохлортіазиду, ФСЗ гідрохлортіазиду та компенсаційного розчину. Після детектування було отримано спектри поглинання досліджуваного зразка та ФСЗ у 0.1 М розчині NaOH на рис.3.2.

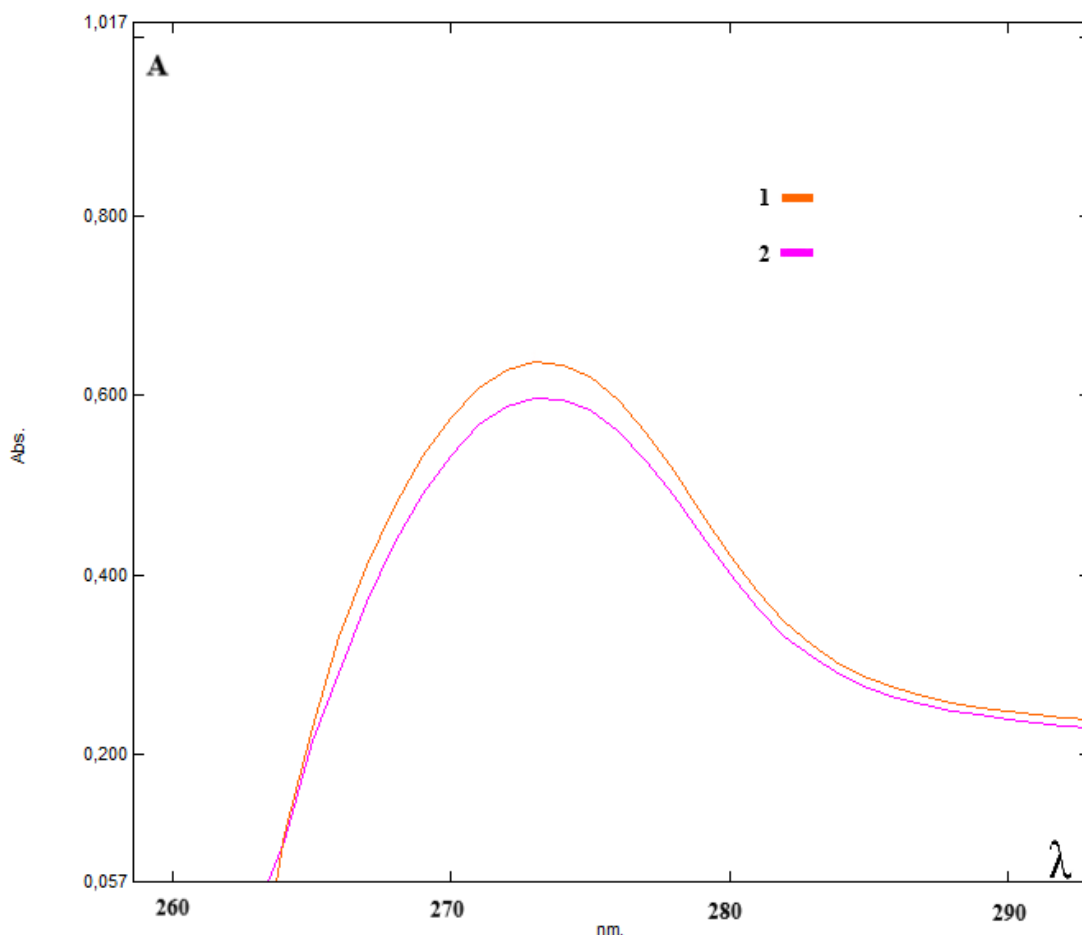


Рис. 3.2 – Експериментальні спектри поглинання: 1 – досліджуваний розчин гідрохлортіазиду у 0.1 М розчин NaOH; 2 – ФСЗ гідрохлортіазиду в 0.1 М розчин NaOH.

У ході проведених розрахунків було підібрано оптимальне значення концентрації аналізованого розчину, враховуючи молекулярну масу, середню масу таблетки “Гідрохлортіазид” 25мг №20, концентрація становить – $1,00 \times 10^{-3}$ М, що буде застосована в подальших етапах експерименту.

Представлена методика є простою, безпечною та швидкою та підходить для використання у фармацевтичному аналізі.

3.1.2. Визначення стабільності експериментальної методики кількісного визначення гідрохлортіазиду.

Наступним кроком експерименту було дослідження стабільності аналізованого розчину, аналіз проводили відповідно вимог ДФУ[39], стабільність визначали вимірюванням поглинання протягом 45 хвилин за сприятливих умов. На рис 3.3 можна спостерігати залежність адсорбції гідрохлортіазиду до часу. Проаналізувавши отримані результати, можна стверджувати, що розчин є стабільним в часі та може бути використаний в дослідженні та не вимагає застосування буферних розчинів та інших додаткових реагентів, що можуть впливати на відтворюваність розробленої методики. Відсутність додаткових реагентів підтверджує придатність методики для тривалого дослідження.

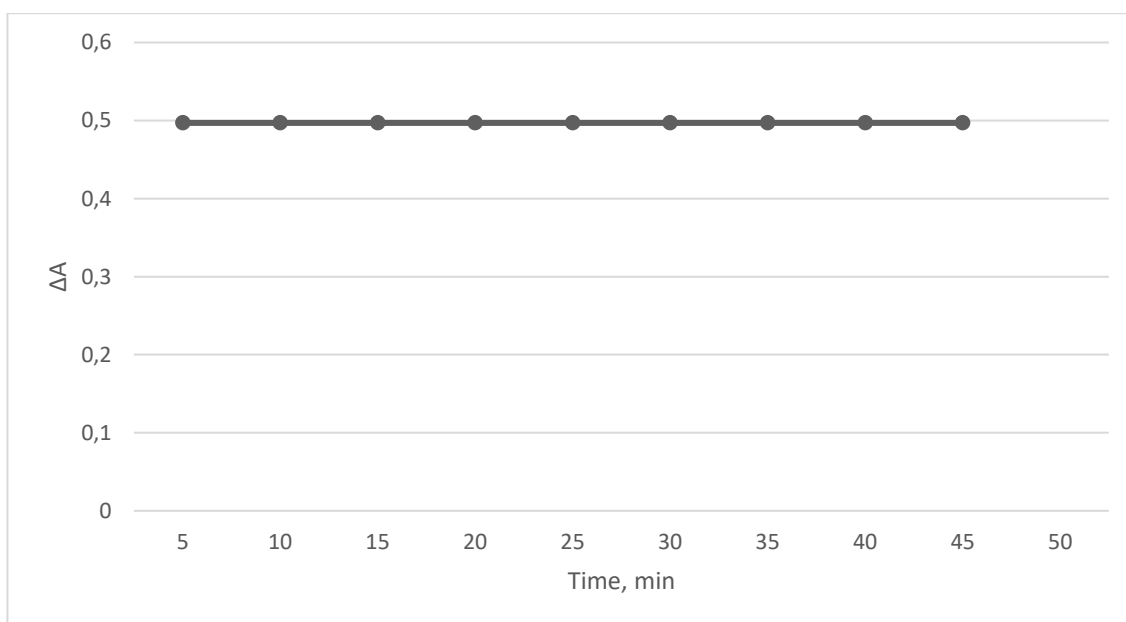


Рис. 3.3. – Графік залежності адсорбції гідрохлортіазиду в таблетках щодо часу

3.2. – Проведення верифікації методики УФ-спектрофотометричного визначення гідрохлортіазиду

3.2.1– Лінійність, діапазон застосування методики

Вивчення лінійності методики проводили за допомогою встановлених вимог ДФУ[39]. Результати отримані методом модельних розчинів на всьому діапазоні спектрофотометричного аналізу було опрацьовано за використання методу найменших квадратів. На рис. 3.4 показано електронні спектри поглинання гідрохлортіазиду у 0.1 М розчині NaOH за умов вивчення лінійності розробленої методики.

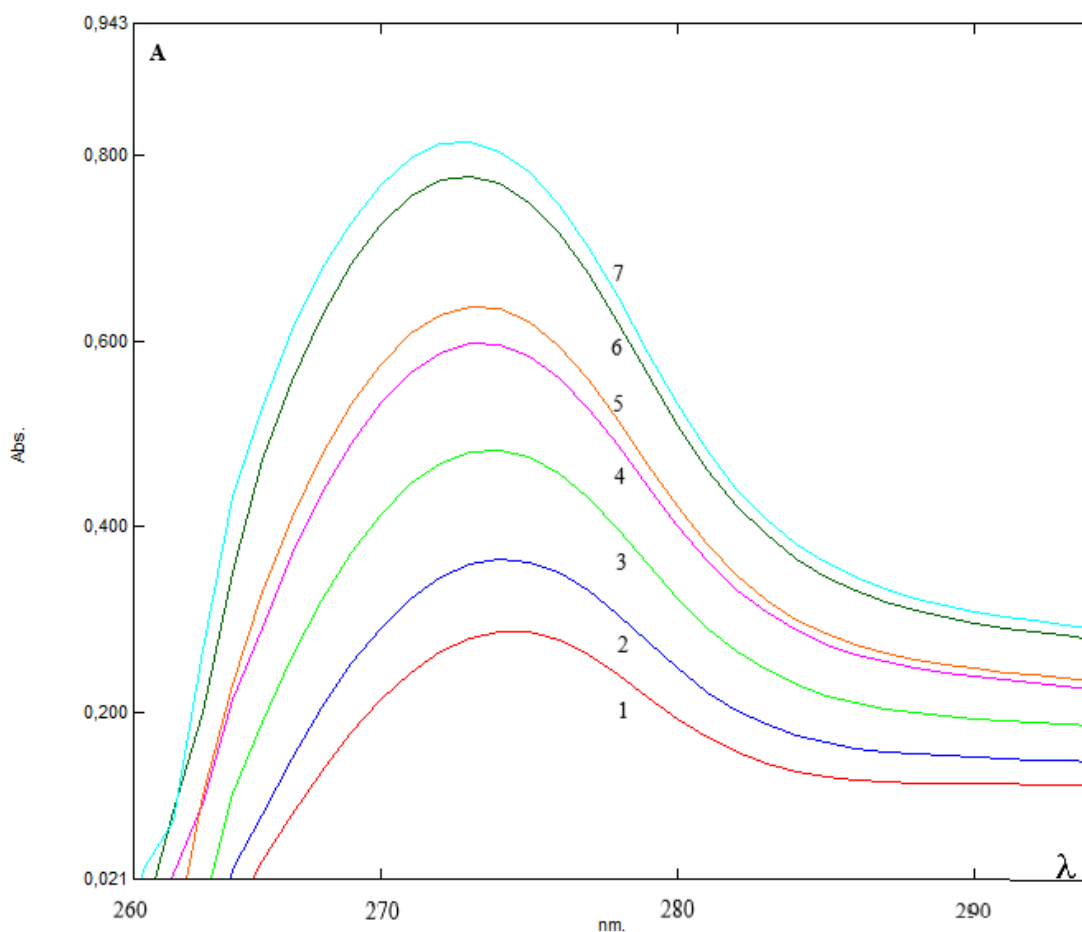


Рис. 3.4 – Електронні спектри поглинання розчинів гідрохлортіазиду в 0.1 М розчині NaOH при вивченні лінійності методики в діапазоні від 2.10- 24.20 мкг/мл. (в порядку зростання від 1 до 7)

На рис. 3.5 відтворено графік лінійності гідрохлортіазиду та прослідковано залежність поглинання в залежності від концентрації досліджуваної АФІ від 2.10 мкг/мл до 24.2 мкг/мл. Відповідно показники МВ та МКБ досліджували за використання параметрів стандартного відхилення аналітичного сигналу (σ) і тангенсу нахилу регресійної прямої (b). По завершенню дослідження було отримано показники: МВ відповідає – 0.3252 мкг/мл; МКБ становить – 1.0765 мкг/мл, відповідно, рівняння лінійної регресії має такий вигляд: $y = 0,0299x + 0,0471$, а коефіцієнт кореляції (R^2) становить – 0,9997.

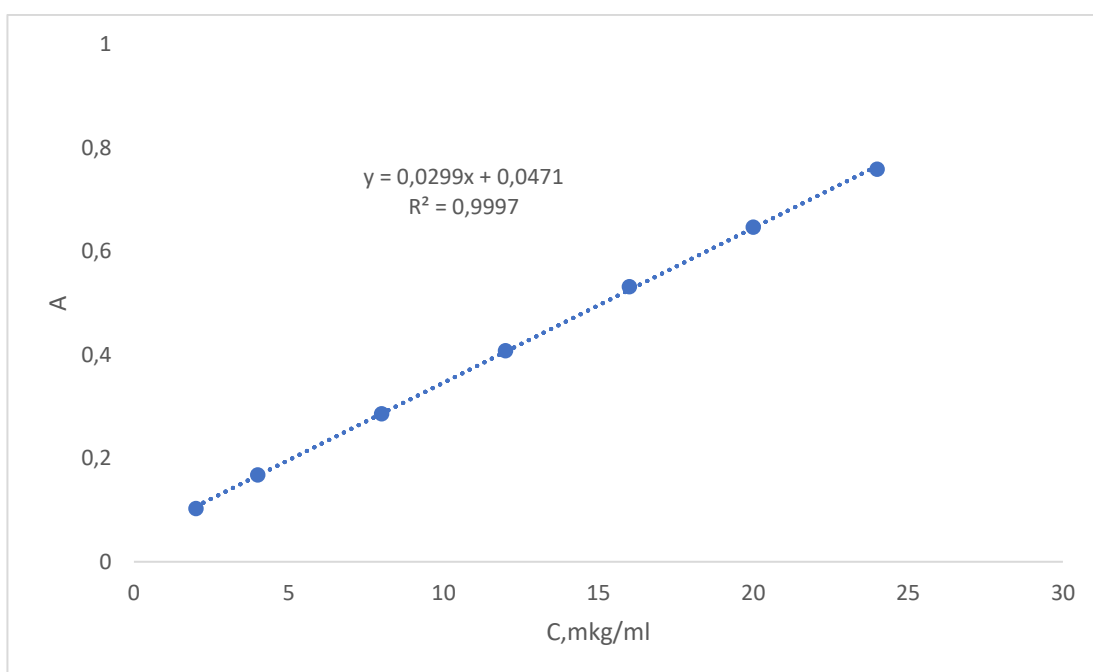


Рис. 3.5 – графік лінійності гідрохлортіазиду в таблетках

У таблиці 3.1 відображено всі метрологічні характеристики лінійної регресії для спектрофотометричного визначення гідрохлортіазиду, параметри лінійності відповідають всім вимогам ДФУ.

Таблиця 3.1.

**Метрологічні характеристики лінійної залежності гідрохлортіазиду в
таблетках**

Величина	Значення	Критерії	Висновок
$b \pm (S_b)$	0.0299 \pm 0,0032	–	
$a \pm (S_a)$	0,04071 \pm 0,0021	$ a \leq 2.6$	Відповідає
R^2	0,99976	>0.99980	Відповідає
МВ (мкг/мл)	0.3252	–	
МКВ (мкг/мл)	1.0765	–	
Діапазон застосування методики	2.1– 24.2 мкг/мл		

Відповідно до отриманих даних та показників, спектрофотометрична методика для кількісного визначення таблеток гідрохлортіазиду відповідає параметрам лінійності.

3.2.2 Правильність та прицезійність розробленої методики спектрофотометричного визначення.

Для підтвердження валідаційних параметрів: правильність та прецизійність УФ-спектрофотометричної методики, проводили шляхом приготування модельних розчинів, які мають точно відомий вміст діючої речовини з концентраціями 80 – 120 % від номінальної, згідно вимог ДФУ [39].

Для підтвердження правильності запропонованої методики було розраховано значення систематичної похибки (δ) %, для підтвердження

прецизійності визначали відносний довірчий інтервал (Δz). У таблиці 3.2 наведено результати визначення правильності та прецизійності.

Таблиця 3.2

**Результати вивчення “ Правильності та прецизійності” методики
кількісного визначення гідрохлортіазиду в таблетках**

Модельні розчини	Вміст бісопрололу фумарату, %		Відношення знайденого до введеного, $Z_i = (Y_i/X_i) \cdot 100 \%$
	введено, $X_i = (C_i/C_{rs}) 100 \%$	знайдено, $Y_i = (A_i/A_{rs}) 100 \%$	
M ₁	80.04	80.10	100.07
M ₂	84.88	85.03	100.17
M ₃	92.02	92.13	100.12
M ₄	95.65	95.89	100.25
M ₅	100.05	100.18	100.12
M ₆	105.82	105.12	99.33
M ₇	111.02	111.16	100.12
M ₈	117.03	116.88	99.87
M ₉	120.01	120.08	100.05
Середнє значення, Z , %			100.01
Стандартне відхилення, S_z , %			0.01
Відносний довірчий інтервал $\Delta z = t(95 \%, 8) \cdot S_z = 2.3060 S_z \%$			0.023
Критичне значення для збіжності результатів $\Delta z \leq \max \Delta_{As} = 1.6 \%$			Виконується (0,023 < 1.60)
Систематична похибка $\delta = Z - 100 $, %			0.01
Критерій невизначеності систематичної похибки $\delta \leq \max \delta \%$			Виконується (0.01 < 0.05)
Загальний висновок про методику			Коректна

3.2.3 Прогноз повної невизначеності методики спектрофотометричного визначення гідрохлортіазиду в таблетках

Розрахунок повної невизначеності для спектрофотометричної методики проводять з метою підтвердження, що розроблена методика є коректною.

Визначення повної невизначеності методики починається з розрахунку (Δ_{SP} - невизначеності пробопідготовки) та (Δ_{FAO} - кінцевої аналітичної операції). Невизначеність кінцевої аналітичної методики для спектрофотометричного визначення відповідає 0.80 % (згідно ДФУ) [39]. В таблиці 3.3 наведено розрахунки та параметри невизначеності для гідрохлортіазиду в таблетках.

Таблиця 3.3

Прогноз повної невизначеності методики кількісного визначення гідрохлортіазиду в таблетках

Операція пробопідготовки	Параметр розрахункової формули	Невизначеність, %
Розчин порівняння гідрохлортіазиду		
1) Взяття наважки ФСЗ гідрохлортіазиду	m_0	$0.2 \text{ мг}/39.6 \text{ мг} \times 100 \% = 0.50\%$
2) Доведення до об'єму в мірній колбі місткістю 100.0 мл	100	0,12%
3) Взяття аліквоти піпеткою 1.0 мл	1.0	0,98%
4) Доведення до об'єму в мірній колбі місткістю 10.0 мл	10	0,50%
Випробуваний розчин		
5) Взяття наважки таблеток	m_1	$0.2 \text{ мг}/80.0 \text{ мг} \times 100 \% = 0.25$
6) Доведення до об'єму в мірній колбі місткістю 100.00 мл	100	0,12%
7) Взяття аліквоти піпеткою 1.0 мл	1.0	0,98%
8) Доведення до об'єму в мірній колбі місткістю 10.0 мл	50	0,50%

Розрахована невизначеність пробопідготовки (Δ_{SP}) для гідрохлортіазиду в таблетках відповідає 1.66 %, а повна невизначеність аналітичної методики (Δ_{As}) при аналізі досліджуваного зразка становить 1.80 %. Варто зауважити, що максимальну невизначеність у пробопідготовці складають операції 3 та 7, що відповідає процесу взяття аліквоти піпеткою 1.0 мл. В кінцевому результаті можна стверджувати, що методика є коректною, адже, показник повної невизначеності методики (Δ_{As}) є менше критичного значення (згідно вимог ДФУ, ($\Delta_{As} = 1.80 \% \leq \max \Delta_{As} = 2.4 \%$)).

Наведена аналітична методика кількісного визначення гідрохлортіазиду в таблетках є коректною та може застосовуватися лабораторіями в рутинному кількісному аналізі.

В таблиці 3.4 наведено результати кількісного визначення гідрохлортіазиду в таблетках ($n=6, p=0.95$)

Таблиця 3.4

Результати кількісного визначення вмісту гідрохлортіазиду у препараті

Лікарський засіб	Знайдено, г	Метрологічні характеристики
Таблетки	0.0252	$m=0.251$ г
«Гідрохлортіазид»	0.0249	$S=1.472 \times 10^{-3}$
(Борщагівський ХФЗ)	0.0253	$t= 2.57$
25 мг	0.0250	$\Delta x=1.517 \times 10^{-3}$
	0.0248	RSD = 1.11
	0.0251	$\epsilon = 1.14\%$

Можна стверджувати, що отримані результати свідчать про незначне коливання вмісту активної речовини в таблетках, розташовані в межах прийнятності.

3.2.4 Дослідження методики на робасність

Робасність методики кількісного визначення гідрохлортіазиду в таблетках, досліджували з врахуванням стійкості розчину досліджуваного зразка та ФСЗ гідрохлортіазиду у часі (2 години), аналіз проводили кожних 20 хвилин. Отримані результати вказують на стабільність аналізованого розчину протягом 100 хв., що підтверджує робасність даної методики.

У таблиці 3.5 наведено результати стабільності методики з урахуванням часу та оптичної густини аналізованого розчину та ФСЗ гідрохлортіазиду.

Таблиця 3.5

Результати визначення стабільності: 1– досліджуваний розчин гідрохлортіазиду; 2 – розчин ФСЗ гідрохлортіазиду.

№	t, хв						A _{сер}	RSD %
	0	20	40	60	80	100		
1	0.497	0.497	0.502	0.505	0.498	0.493	0.498	0.71
2	0,499	0,503	0,504	0,506	0,504	0,503	0.503	0.46

3.2.5 Дослідження оцінки впливу методики на зовнішнє середовище

Одним з найважливіших етапів у розробці спектрофотометричної методики кількісного визначення гідрохлортіазиду є відповідність принципам “зеленої хімії”. Екологічність методики перевіряли за допомогою методів еко-шкали, AGREE та GAPI [40, 41, 42].

В таблиці 3.6 відтворено результати аналізу за еко-шкалою, згідно якої загальний бал становить 94.

Таблиця 3.6

**Результати аналізу аналітичної еко-шкали для оцінки “зеленості”
методики УФ-спектрофотометричного визначення гідрохлортіазиду в
таблетках**

Параметр	Пенальті бали
Розчинник: NaOH	1
Споживання енергії	0
Професійні шкідливості	0
Відходи	5
Загальна кількість пенальті балів	6
Бал аналітичної еко-шкали	94
Висновок	Відмінний «зелений» аналіз

Окрім еко-шкали було проведено аналіз “AGREE” та ”GAPI” для перевірки методики кількісного визначення гідрохлортіазиду на екологічність. На рисунку 3.7 зображено піктограми методів.

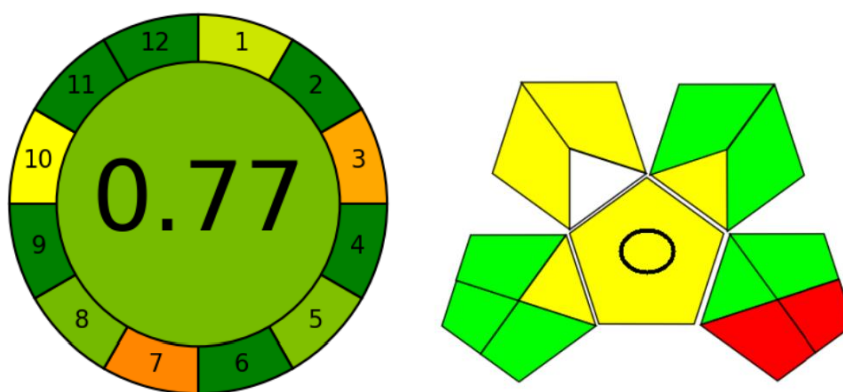


Рис. 3.7 – Піктограми “зеленості” методики кількісного визначення
гідрохлортіазиду в таблетках

Відповідно рисунку загальний бал методики за методом “AGREE” становить 0.77, що свідчить про екологічність запропонованої методики. Відповідно методу “GAPI” червоним кольором виділено позиція 14 та 15, що

відповідають за відходи під час аналізу та її переробку, всі решта екологічні параметри є сприятливими.

Отож, відповідно до отриманих результатів “зеленості” за допомогою різних методів аналізу можна стверджувати, що запропонована методика кількісного визначення гідрохлортіазиду є екологічною та відповідає всім вимогам та принципам “зеленої” хімії.

Підсумовуючи все вищезазначене, можна зробити висновок, що методика УФ–спектрофотометричного визначення гідрохлортіазиду є простою за використання, точною, швидкою, не вимагає дороговартісного обладнання та реагентів, є екологічною та безпечною. Метод пригожий для досліджень у різних дозованих формах та відповідає принципам і нормам «зеленої» хімії.

Висновки до розділу III

1. Після проведення аналізу наукових публікацій було апробовано УФ-спектрофотометричну методику кількісного визначення гідрохлортіазиду в ЛЗ;
2. Проведено підбір оптимальних умов, що гарантують задовільні результати та перебіг реакції при розробці спектрофотометричної методики в УФ-ділянці;
3. Запропоновану спектрофотометричну методику кількісного визначення гідрохлортіазиду було верифіковано відповідно основним валідаційним параметрам: лінійність, специфічність, діапазон застосування, робасність, правильність та прецизійність;
4. Для запропонованої аналітичної методики, було розраховано повну невизначеність та невизначеність пробопідготовки, кількісного визначення гідрохлортіазиду в таблетках;
5. Проведено аналіз екологічності для представленої методики за допомогою методу еко-шкали, AGREE та GAPI, згідно результатам можна стверджувати, що методики відповідають принципам “зеленості”;
6. Апробована УФ-спектрофотометрична методика кількісного визначення гідрохлортіазиду є простою для виконання, експресною, доступною не вимагає складного та дороговартісного обладнання та реагентів.

ВИСНОВКИ

1. Проведено аналіз наукових публікацій та аналітично-нормативних документів, завдяки яким можна сформулювати основні цілі, мету та завдання, щодо, апробації УФ-спектрофотометричної методики кількісного визначення гідрохлортіазиду в ЛЗ;
2. Проведено верифікацію аналітичної методики кількісного визначення гідрохлортіазиду у ГЛЗ;
3. В ході аналізу було встановлено, що запропонована УФ-спектрофотометрична методика кількісного визначення гідрохлортіазиду є лінійною (межа виявлення – 0.3252, межа кількісного визначення – 1.0765) відповідно, критеріям прийнятності;
4. Відносний довірчий інтервал (Δz) методики відповідає – 0.023, показник є меншим критичного значення (1.6), систематична похибка становить 0.01. Завдяки отриманим даним можна стверджувати, що методика є правильною та прецизійною;
5. Показник невизначеності пробопідготовки (Δ_{SP}) відповідає – 1.66%, а показник повної невизначеності методики (Δ_{As}) становить – 1.80%, що є менше критичного значення ($\Delta_{As} = 1.80 \% \leq \max \Delta_{As} = 2.4 \%$) згідно вимог ДФУ;
6. УФ-спектрофотометрична методика кількісного визначення гідрохлортіазиду в таблетках відповідає принципам та нормам “зеленої” хімії та виступають гарантом безпеки.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Пасечко Н.В, Ярема Н.І. Практичний посібник з внутрішньої медицини, 2 частина. Тернопіль 2022. 7с.
2. Michael E Ernst, Michelle A Fravel, Thiazide and the Thiazide-Like Diuretics: Review of Hydrochlorothiazide, Chlorthalidone, and Indapamide, American Journal of Hypertension, Volume 35, Issue 7, July 2022, Pages 573–586, URL: <https://doi.org/10.1093/ajh/hpac048>
2. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 3639, Hydrochlorothiazide. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Hydrochlorothiazide>.
3. Herman LL, Weber P, Bashir K. Hydrochlorothiazide. [Updated 2023 Nov 12]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430766>.
4. Чекман І.С., Горчакова Н.О., Казак Л.І. Фармакологія: підручник. 3-тє вид. Вінниця: Медицина 2016. 318 с.
5. Japanese Pharmacopoeia (2021) 18th Edition. Hydrochlorothiazide.P. 1112-1113.
6. European Pharmacopoeia 10th Edition. Hydrochlorothiazide.P.2879- 2881.
- 7.Madhavi, K., Navamani, M., & Prasanthi, C. Simple analytical method for the simultaneous estimation of hydrochlorothiazide and candesartan by rp-hplc. International Journal of Applied Pharmaceutics 2017. Vol. 9 (6), P. 34-38. URL: <https://doi.org/10.22159/ijap.2017v9i6.20727>).
8. Pandya, J. J., Bhatt, N. M., Chavada, V. D., Sharma, P., Sanyal, M., & Shrivastav, P. S. Simultaneous analysis of aliskiren and hydrochlorothiazide in pharmaceutical preparations and spiked human plasma by HPTLC. Journal of Taibah University for Science 2017, Vol. 11(5), P. 667-676. URL: <https://doi.org/10.1016/j.jtusci.2016.05.001>).

9. Attimarad, M., Venugopala, K. N., Sreeharsha, N., Chohan, M. S., Shafi, S., Nair, A. B., & Pottathil, S. (2021). A rapid HPLC method for the concurrent determination of several antihypertensive drugs from binary and ternary formulations. *Separations*, Vol. 8(6), P. 86. URL: <https://doi.org/10.3390/separations8060086>.

10. Nagieb, H. M., Abdelwahab, N. S., Abdelrahman, M. M., Zaazaa, H. E., & Ghoniem, N. S. (2023). Greenness assessment of UPLC/MS/MS method for determination of two antihypertensive agents and their harmful impurities with ADME/TOX profile study. *Scientific Reports*, Vol. 13(1), 19318. URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-46636-5>.

11. Kurbanoglu, S., & Yarman, A. (2020). Simultaneous determination of hydrochlorothiazide and irbesartan from pharmaceutical dosage forms with RP-HPLC. *Turkish journal of pharmaceutical sciences*, Vol: 17(5), P. 523. URL: doi: 10.4274/tjps.galenos.2019.76094.

12. Bahgat, E. A., Saleh, H., Reda, A., & Fawzy, M. G. (2022). Development and validation of eco-friendly micellar organic solvent-free HPLC method for the simultaneous determination of some antihypertensive combinations. *Microchemical Journal*, Vol. 181, P. 107740. URL: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.107740>.

13. Dawud, E. R., & Shakya, A. K. (2019). HPLC-PDA analysis of ACE-inhibitors, hydrochlorothiazide and indapamide utilizing design of experiments. *Arabian Journal of chemistry*, Vol. 12(5), P. 718-728., URL: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.10.052>.

14. Tiris, G., Mehmandoust, M., Lotfy, H. M., Erk, N., Joo, S. W., Dragoi, E. N., & Vasseghian, Y. (2022). Simultaneous determination of hydrochlorothiazide, amlodipine, and telmisartan with spectrophotometric and HPLC green chemistry applications. *Chemosphere*, Vol. 303 (3), P. 135074., URL: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135074>.

15. Osman, R. A. M., & Elbashir, A. A. (2017). Development and validation of stability indicating HPLC method for the simultaneous analysis of amlodipine, hydrochlorothiazide and valsartan in pharmaceutical formulation. *Pharm Methods*, Vol. 6(5), P. 188. URL: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135074>.

16. Haque, S. M. (2022). Box–Behnken experimental design for optimizing the HPLC method to determine hydrochlorothiazide in pharmaceutical formulations and biological fluid. *Journal of Molecular Liquids*, Vol. 352, 118708. URL: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2022.118708>.

17. Ibrahim, F. A., El-Brashy, A. M., El-Awady, M. I., & Abdallah, N. A. (2019). Assessment of the greenness of spectrophotometric and micellar liquid chromatographic methods using two approaches: Application to pharmaceutical analysis of hydrochlorothiazide and telmisartan. *Microchemical Journal*, Vol.148, P. 197-205. URL: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.04.058>.

18. Ali, Diyar Salahuddin. "Chemometric methods for simultaneous determination of candesartan cilexetil and hydrochlorothiazide in binary combinations." *Journal of Analytical Methods in Chemistry* 2023. URL: <https://doi.org/10.1155/2023/5107317>.

19. Abdelwahab, N. S. (2016). Spectrophotometric methods for simultaneous determination of Carvedilol and Hydrochlorothiazide in combined dosage form. *Arabian Journal of Chemistry*, Vol. 9, P. S355-S360. URL: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2011.05.002>.

20. Quynh Trang, N. T., Van Hop, N., Giang Chau, N. D., & Tran, T. B. (2019). Simultaneous determination of amlodipine, hydrochlorothiazide, and valsartan in pharmaceutical products by a combination of full spectrum measurement and kalman filter algorithm. *Advances in Materials Science and Engineering*, 2019. URL: <https://doi.org/10.1155/2019/5719651>

21. Kumar, J. S. P., & Annapurna, M. M. (2015). New Spectrophotometric Methods for the Simultaneous Determination of Irbesartan and Hydrochlorothiazide in

Combined Dosage Forms. *Pharmaceutical Methods*, Vol. 6. P. 120-125. URL: DOI:10.5530/phm.2015.6.18.

22. Binh, T. T., Phuong Tram, L. T., Van Hop, N., Giang Chau, N. D., Luu, N. D., & Quynh Trang, N. T. (2021). Simultaneous Determination of Hydrochlorothiazide and Losartan Potassium in Pharmaceutical Product by UV-Vis Spectrophotometric Method with Kalman Filter Algorithm. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, Vol. 2021. P. 8. URL: <https://doi.org/10.1155/2021/2754133>.

23. Attimarad, M., Chohan, M. S., & Elgorashe, R. E. E. (2020). Smart analysis of a ternary mixture of amlodipine, hydrochlorothiazide and telmisartan by manipulation of UV spectra: Development, validation and application to formulations. *Journal of Molecular Structure*, Vol. 1212, P. 128095. URL: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.128095>.

24. Dawood, A. G., Habeeb, N. N., & Omer, L. S. (2021). H-point Standard Addition Method for the Simultaneous Spectrophotometric Determination of Captopril and Hydrochlorothiazide in Pharmaceutical Formulations. *Jordan Journal of Chemistry (JJC)*, Vol.16(2), P. 77-85. URL: <https://doi.org/10.47014/1>.

25. Padhiyar, S., Jivani, K., Upadhyay, J., Patel, T., Bhavsar, V., & Suhagia, B. (2023). Chemometrics assisted UV-spectrophotometric method for simultaneous estimation of aliskiren and hydrochlorothiazide in bulk and their pharmaceutical dosage form. *Journal of Chemical Metrology*, Vol:17(1), P. 53. URL: doi.org/10.25135/rnp.84.2212.2661.

26. Noor, H. K., & Abass, S. M. (2021). Development of a visible spectrophotometric analysis for hydrochlorothiazide in pure and pharmaceutical dosage forms. *IJDDT*, Vol. 11(2), P. 496-500. URL: DOI: 10.25258/ijddt.11.2.46.

27. D. Alfred-Ugbenbo R. S., & Bharad, J. S. (2022). Analytical method development and validation for estimation of hydrochlorothiazide content using UV-spectroscopic technique. *Journal of Advanced Scientific Research*, Vol. 13(05), P. 131-136. URL: <https://doi.org/10.55218/JASR.202213515>.

28. ÜSTÜNDAĞ, Ö., & Erdal, D. İ. N. Ç. (2021). Spectrophotometric Determination of Losartan Potassium and Hydrochlorothiazide in tablets by Wavelet Transform Approach. *Sakarya University Journal of Science*, Vol.25(6), P. 1432-1437. URL: <https://doi.org/10.16984/sofenbilder.989654>.

29. Wedian, F., & AbuAlrob, R. (2020). DEVELOPMENT AND VALIDATION OF SPECTROFLUOROMETRIC AND SPECTROPHOTOMETRIC BIVARIATE METHODS FOR SIMULTANEOUS DETERMINATION OF PROPRANOLOL AND HYDROCHLOROTHIAZIDE IN DRUG TABLETS. *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research*, Vol. 77(3), P. 453-463. URL: DOI: 10.32383/appdr/123019.

30. Elsonbaty, A., & Attala, K. (2022). An eco-friendly modified methodology for the resolution of binary pharmaceutical mixtures based on self-deconvolution of the UV spectrophotometric spectra in the Fourier domain: Application of Fourier self-deconvolution in UV spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, Vol. 264, P. 120262. URL: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2021.120262>.

31. El-Hanboushy, S., Marzouk, H. M., Fayez, Y. M., Abdelkawy, M., & Lotfy, H. M. (2022). Sustainable spectrophotometric determination of antihypertensive medicines reducing COVID-19 risk via paired wavelength data processing technique-Assessment of purity, greenness and whiteness. *Sustainable chemistry and pharmacy*, Vol. 29, P.100806. URL: <https://doi.org/10.1016/j.scp.2022.100806>.

32. El-Hanboushy, S., Marzouk, H. M., Fayez, Y. M., Abdelkawy, M., & Lotfy, H. M. (2022). Eco-friendly spectrophotometric evaluation of triple-combination therapies in the treatment strategy of patients suffering from hypertension during coronavirus pandemic-Spectralprint recognition study. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, Vol. 280, P. 121523. URL: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2022.121523>.

33. Mehta, B., Joshi, H., Shah, U., & Patel, P. (2022). Chemometric Assisted Spectrophotometric Method for the Simultaneous Determination of Olmesartan Medoxomil and Hydrochlorothiazide in Bulk and Tablet Dosage Form. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 84(3). URL: DOI:10.36468/pharmaceutical-sciences.962.

34. Sabarwal, N., Jain, S., & Agarwal, D. D. (2021). SPECTROPHOTOMETRIC METHOD FOR SIMULTANEOUS DETERMINATION OF AMILORIDE AND HYDROCHLOROTHIAZIDE IN COMBINED DOSAGE FORM. *Journal of Advanced Scientific Research*, Vol. 12(03), P. 170-174. URL: <https://doi.org/10.55218/JASR.202112324>.

35. Abdelrahman, M. M., Adly, S. M., Ali, N. W., & Abdelwahab, N. S. (2019). Development and validation of different spectrophotometric and high-performance thin-layer chromatographic methods for the determination of fosinopril sodium, hydrochlorothiazide, and chlorothiazide as hydrochlorothiazide impurity. *JPC–Journal of Planar Chromatography–Modern TLC*, Vol. 32, P. 411-420. URL: <https://doi.org/10.1556/1006.2019.32.5.9>.

36. Attala, K., & Elsonbaty, A. (2021). Advanced eco-friendly UV spectrophotometric approach for resolving overlapped spectral signals of antihypertensive agents in their binary and tertiary pharmaceutical dosage form. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, Vol. 258, P. 119855. URL: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2021.119855>.

37. Murali Dadi, AU - Mohd Yasir, ED - Ashis Kumar Samanta. (2022). *Spectroscopy and Spectrophotometry: Principles and Applications for Colorimetric and Related Other Analysis*. Colorimetry, chapter 4, URL: <https://doi.org/10.5772/intechopen.101106>.

38. British Pharmacopoeia [Электронный ресурс] / The British Pharmacopoeia Secretariat. – London, 2009. – Vol. 1 & 2. Monographs: Medicinal and Pharmaceutical Substances Hydrochlorothiazide.

39. Державна фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство „Український науково-експертний фармакопейний центр якості лікарських засобів”. – 2-е вид. – Харків: Державне підприємство „Український науково-експертний фармакопейний центр якості лікарських засобів”, 2015. Т.1 – 1128 с.

40. Pena-Pereira, F.; Wojnowski, W.; &&& Tobiszewski, M.

AGREE—Analytical GREENness metric approach and software. *Analytical chemistry*, 2020, 92(14), 10076-10082.

URL: <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c01887>

41. Gałuszka, A., Migaszewski, Z. M., Konieczka, P., && Namieśnik, J. (2012). Analytical Eco-Scale for assessing the greenness of analytical procedures. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 37, 61-72. URL: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.03.013>

42. J. Płotka-Wasyłka (2018) A new tool for the evaluation of the analytical procedure: Green Analytical Procedure Index, *Talanta*, Volume 181, P. 204-209, URL: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.01.013>.

Додатки

Додаток А

Список публікацій

1. Горлачук Н.В. Розробка спектрофотометричної методики кількісного визначення гідрохлортіазиду гідрохлориду в таблетках/ Горлачук Н., Близнюк П., Іванець Л. // Всеукраїнська науково-практична конф. з міжнар. участю «Сучасна фармація : реалії сьогодення та перспективи розвитку»(м. Одеса 9– 12 квітня 2024 р.). – Одеса : Одес. нац. ун-т ім. І. І. Мечникова, 2024. – с.205-208



Міністерство освіти і науки України
Міністерство охорони здоров'я України

Національна академія медичних наук України

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова

Фізико-хімічний інститут імені О. В. Богатського НАН України

Одеський національний медичний університет

ТДВ «ІНТЕРХІМ»

Сучасна фармація: реалії сьогодення та перспективи розвитку

ТЕЗИ ДОПОВІДЕЙ

Всеукраїнської науково-практичної
конференції з міжнародною участю

9-12 квітня 2024, Одеса

89.	ОБГРУНТУВАННЯ СКЛАДУ НОВОГО ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ НА ОСНОВІ ХІТОЗАНУ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ РАНОВИХ ПРОЦЕСІВ У ДРУГІЙ ТА ТРЕТІЙ ФАЗАХ <i>Роголя М. П., Шостак Т. А.</i>	204
90.	РОЗРОБКА СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНОЇ МЕТОДИКИ КІЛЬ-КІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ГІДРОХЛОРТІАЗИДУ ГІДРОХЛОРИДУ В ТАБЛЕТКАХ <i>Горлачук Н., Близнюк П., Іванець Л.</i>	205
91.	IMPROVING LC-MS/MS METABOLOMICS: UTILIZING LOW ADSORPTION SURFACE COLUMNS FOR OPTIMAL PERFORMANCE <i>Dekina S., Drotleff B., Alexandrov T.</i>	208
92.	МЕДИКАМЕНТИ СОРБЦІЙНОЇ ДІЇ НА ОСНОВІ НАНОРОЗМІРНОГО КРЕМНЕЗЕМУ: СЬОГОДЕННЯ І МАЙБУТНЄ <i>Геращенко І. І., Луцюк М. Б.</i>	210
Секція 3 Фармацевтичний аналіз, стандартизація та контроль якості лікарських препаратів		
93.	AN OXIDIMETRIC DETERMINATION OF QUIFENADINE USING N-OXIDATION REACTION WITH OXONE <i>Blazheyevskiy M. Ye., Moroz V. P., Kryskiv O. S., Mozgova O. O.</i>	215
94.	A NEW METHOD FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF GALANTAMINE IN PHARMACEUTICAL PREPARATIONS <i>Blazheyevskiy M. Ye., Moroz V. P., Kryskiv O. S.</i>	217
95.	ОЦІНКА ЕКОЛОГІЧНОСТІ АНАЛІТИЧНОЇ МЕТОДИКИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ МЕЛОКСИКАМУ <i>Донченко А. О., Нагорна Н. О., Васюк С. О.</i>	220
96.	DEVELOPMENT OF A DRAFT SPECIFICATION AND CONTROL METHODS FOR PLANT-BASED DIETARY SUPPLEMENTS USED FOR THE NORMALISATION OF HIGH BLOOD PRESSUR <i>Oleksandr V. Burmaka, Olga V. Afanasenko, Marianna U. Raiter</i>	222
97.	ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН КАЛЕНДАРЯ ПРОФІЛАКТИЧНИХ ЩЕПЛЕНЬ В УКРАЇНІ <i>Кремінь Ю. І., Дорикевич К. І.</i>	224
98.	ВИВЧЕННЯ КІНЕТИКИ ВИВІЛЬНЕННЯ КАПСУЛ З ТРИМЕТАЗИДИНУ ДИГІДРОХЛОРИДОМ <i>Злагода В. С., Бобрицька Л. О., Назарова О. С.</i>	226

РОЗРОБКА СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНОЇ МЕТОДИКИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ГІДРОХЛОРТИАЗИДУ ГІДРОХЛОРИДУ В ТАБЛЕТКАХ

Горлачук Н., Близнюк П., Іванець Л.

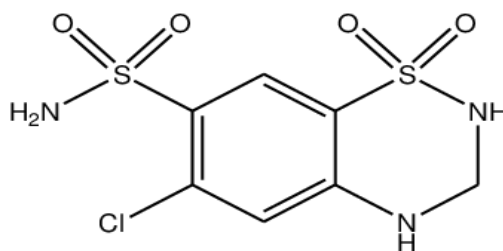
*Тернопільський національний медичний університет
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, м. Тернопіль,
Україна*

Вступ. Вже декілька десятиріч поспіль серцево-судинні захворювання (ССЗ) залишаються основною причиною смертності населення у різних країнах світу, у тому числі і в Україні. За прогнозами до 2050 року близько 25 млн людей помре від даного захворювання [1]. Вагоме місце серед патології серцевосудинної системи займає артеріальна гіпертензія (АГ), яку можна вважати неінфекційною епідемією, що охопила населення планети у ХХ–ХХІ століттях.

Найбільш розповсюджена дана хвороба серед осіб похилого та старечого віку, однак зустрічається і у молоді. За оцінками ВООЗ 1,28 мільярда людей у всьому світі віком 30–79 років страждають гіпертонією, 46% з них не знають, що в них наявна хвороба [2].

Історія становлення антигіпертензивної терапії стартує з діуретиків, які й досі відносять до препаратів першої лінії лікування АГ. Одним із найпопулярніших сечогінних засобів, який широко використовують для зниження артеріального тиску, а також набряків, які асоціюються із хронічною серцевою недостатністю є гідрохлортіазид гідрохлорид [3].

Гідрохлортіазид – належить до групи тіазидних діуретиків та є похідним бензотіазину, у хімічному відношенні 3,4-дигідро-2Н-1,2,4-бензотіадіазин 1,1діоксидом, що в 6 положенні заміщений хлором, а в 7-сульфонамідом.



М.м. (C₇H₈ClN₃O₄S₂) = 297,74 г/моль



Міністерство освіти і науки України
 Міністерство охорони здоров'я України
 Національна академія медичних наук України
 Одеський національний університет імені І. І. Мечникова
 Фізико-хімічний інститут імені О. В. Богатського НАН України
 Одеський національний медичний університет
 ТДВ «ІНТЕРХІМ»



Сертифікат

№ 036-24

Близьнюк П.

засвідчує, що

брав(ла) участь у роботі
 Всеукраїнської науково-практичної конференції
 з міжнародною участю
 «СУЧАСНА ФАРМАЦІЯ: РЕАЛІЇ СЬОГОДЕННЯ ТА ПЕРСПЕКТИВИ РОЗВИТКУ»
 тривалістю 30 годин (1 кредит ЄКТС)
 9-12 квітня 2024 р., м. Одеса, Україна



Ректор ОНУ
 імені І. І. Мечникова,
 доктор юридичних наук,
 професор
Вічеслав ТРУБА

Ректор ОНМФУ
 академік Національної академії
 медичних наук України,
 доктор медичних наук, професор
Валерій ЗАПОРОЖАН

Директор ФХІ
 ім. О. В. Богатського НАН України,
 член-кореспондент НАН України,
 доктор хімічних наук, професор
Віктор КУЗЬМИН

