

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
факультет фармацевтичних технологій та менеджменту
кафедра медичної хімії**

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

**на тему: «ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА СУЧАСНИХ МЕТОДІВ
АНАЛІЗУ БЛОКАТОРІВ ПОВІЛЬНИХ КАЛЬЦІЄВИХ КАНАЛІВ –
ВЕРАПАМІЛ, ДИЛТІАЗЕМ»**

Виконав: здобувач вищої освіти групи Фм21(1,5з)-01а
спеціальності: 226 Фармація, промислова фармація
освітньої програми Фармація

Олена ЯЦКО

Керівник: асистент кафедри медичної хімії, к.фарм.н.
Ольга ВІСЛОУС

Рецензент: доцент закладу вищої освіти кафедри
загальної хімії, к.фарм.н., доцент Наталія БОНДАРЕНКО

АНОТАЦІЯ

У результаті порівняльного аналізу встановлено, що для ідентифікації та кількісного визначення блокаторів повільних кальцієвих каналів у фармакопейному аналізі в основному застосовують хроматографічні методи, вони складають більше 60 % від усіх методик визначення, у всіх різноманітних проявах та оптичні методи близько 35%. Робота викладена на 65 сторінках, включає 8 таблиць, 14 рисунків, 67 джерел літератури.

Ключові слова: артеріальна гіпертензія, фармацевтичний аналіз, спектрофотометрія, хроматографія, субстанція, лікарські форми

ANNOTATION

As a result of the comparative analysis, it was established that for the identification and quantitative determination of blockers of slow calcium channels in the pharmacopeial analysis, chromatographic methods are mainly used, they make up more than 60% of all determination methods, in all their various manifestations, and optical methods are about 35%. The work is laid out on 65 pages, includes 8 tables, 14 figures, 67 literature sources.

Key words: arterial hypertension, pharmaceutical analysis, spectrophotometry, chromatography, substance, dosage forms

ЗМІСТ

	С.
ВСТУП	4
РОЗДІЛ 1. ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА БЛОКАТОРІВ КАЛЬЦІЄВИХ КАНАЛІВ	6
1.1. Аналіз асортименту антигіпертензивних препаратів, що представлені на фармацевтичному ринку України	6
1.2. Клініко-фармакологічні аспекти верапамілу	9
1.3. Клініко-фармакологічні аспекти дилтіазему	19
Висновки до розділу 1	26
РОЗДІЛ 2. ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	27
2.1. Об'єкти досліджень	27
2.2. Методи досліджень	33
Висновки до розділу 2	36
РОЗДІЛ 3. МЕТОДИ ІДЕНТИФІКАЦІЇ ТА КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ БЛОКАТОРІВ КАЛЬЦІЄВИХ КАНАЛІВ	37
3.1 Огляд аналітичного визначення верапамілу	38
3.2 Огляд аналітичного визначення дилтіазему	48
Висновки до розділу 3	64
ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ	65
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ	66

ВСТУП

Актуальність теми. Серцево-судинні захворювання – ішемічна хвороба серця, артеріальна гіпертензія – займають одне з перших місць серед причин інвалідності та смертності населення у всіх економічно розвинутих країнах, у тому числі і в Україні. Зниження артеріального тиску дозволяє суттєво зменшити частоту виникнення ускладнень. Певні групи лікарських засобів мають переваги, і тому, за рекомендаціями експертів, вони становлять основу антигіпертензивної терапії і є препаратами першої лінії. Згідно Наказу Міністерства охорони здоров'я від 24.05.2012 р. №384 та у програмі «Доступні ліки» серед препаратів першої лінії є блокатори кальцієвих каналів, які є неоднорідною за хімічною структурою групою лікарських засобів, що виявляють антигіпертензивну та антиангінальну дію.

У зв'язку з істотним збільшенням асортименту кардіопрепаратів на фармацевтичному ринку, зокрема блокаторів кальцієвих каналів, що обумовлено зростанням частки захворювань серцево-судинної системи, більшість наукових досліджень у галузі фармацевтичної хімії базується на розробці сучасних методик аналізу лікарських речовин цієї групи. Не менш важливим є пошук нових шляхів використання вже відомих способів кількісного визначення діючих речовин у фармацевтичних препаратах – блокаторах кальцієвих каналів.

Таким чином, виникає потреба у систематизації методик їх стандартизації.

Мета дослідження є вивчення літературних даних щодо методик ідентифікації та кількісного визначення блокаторів повільних кальцієвих каналів – верапаміл, дилтіазем.

Завдання дослідження:

- аналіз причин виникнення серцево-судинних захворювань та ризику їх розвитку;
- аналіз фармакологічного спектру блокаторів кальцієвих каналів;

- проаналізувати та узагальнити літературні та патентні джерела щодо існуючих методик ідентифікації та кількісного визначення лікарських засобів, блокаторів кальцієвих каналів.

Матеріали даної роботи викладені у відповідності з поставленими задачами.

Об'єкт дослідження. Методики ідентифікації та кількісного визначення лікарських засобів, блокаторів кальцієвих каналів.

Предмет дослідження. Субстанції та лікарські форми блокаторів кальцієвих каналів – верапаміл, дилтіазем.

Методи дослідження. Аналітичний огляд літературних джерел інформації щодо дослідження блокаторів повільних кальцієвих каналів – верапаміл, дилтіазем.

Практичне значення отриманих результатів. Приведені дані можуть бути застосовані для подальшого пошуку оптимальних методик ідентифікації та кількісного визначення блокаторів повільних кальцієвих каналів як чистому вигляді, так і в суміші з іншими діючими та допоміжними речовинами

Структура та обсяг кваліфікаційної роботи. Робота складається із вступу, трьох розділів, загальних висновків та списку використаних літературних джерел, що має у своєму складі 67 джерел. Зміст роботи викладений на 65 сторінках машинописного тексту і містить 8 таблиць, 14 рисунків.

РОЗДІЛ 1

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА БЛОКАТОРІВ КАЛЬЦІЄВИХ КАНАЛІВ

1.1. Аналіз асортименту антигіпертензивних препаратів, що представлені на фармацевтичному ринку України

Захворювання серцево-судинної системи займають лідируючу позицію в структурі захворюваності та смертності серед дорослого населення економічно розвинутих країн світу. Серед патологій серцево-судинної системи найбільш поширена артеріальна гіпертензія, що виявляється у 15–20 % дорослого населення промислово розвинутих країн світу й визнана хронічним неінфекційним захворюванням. Попри глобальний характер поширеності гіпертонії, окремі регіони світу суттєво відрізняються за цим показником. Значного поширення артеріальна гіпертензія набула в країнах Європейського регіону. Понад 50 % дорослого населення європейських країн мають підвищений кров'яний тиск, у т. ч. жителі Естонії (54,1 %), Хорватії (53,7 %), України (53,6%), Литви (53,4 %), Сербії (51,7 %), Болгарії (51,4 %), Польщі (50,3 %), Вірменії (50,7 %), Білорусі (50,6 %) [3, 5, 9].

Всі класи антигіпертензивних засобів, рекомендовані Європейським кардіологічним товариством та Товариством з АГ (2003), Об'єднаним національним комітетом США (7-й перегляд, 2003) та Українським кардіологічним товариством (2004) як препарати першої лінії в лікуванні артеріальної гіпертензії, практично однаково знижують артеріальний тиск. Добре відомо, що до таких фармакологічних груп, які можуть застосовуватися як в складі монотерапії, так і при комбінованій терапії, належать такі засоби: діуретики; інгібітори ангіотензинперетворюючого ферменту (АПФ); блокатори кальцієвих каналів; антагоністи кальцію тривалої дії; антагоністи рецепторів ангіотензину II; β -адреноблокатори [1, 2].

Групу препаратів другої лінії формують альфа₁-адреноблокатори; алкалоїди раувольфії; центральні α₂-агоністи; агоністи імідазолінових рецепторів.

Кожна група антигіпертензивних препаратів має певну нішу застосування. При цьому важливим фактором, що визначає ефективність лікування артеріальної гіпертензії, є тривалий термін використання АГП хворими, тобто систематичне їх застосування в адекватних дозах для досягнення цільового рівня артеріального тиску [2].

Згідно з даними Державного реєстру лікарських засобів України групу антигіпертензивних засобів складають понад 790 препаратів. Згідно АТС - класифікації представлена група: C02 – гіпотензивні препарати, C03 – сечогінні засоби, C07 – блокатори β-адренорецепторів, C08 – антагоністи кальцію, C09 – засоби, що впливають на ренін-ангіотензинову систему.

Асортимент вітчизняного ринку гіпотензивних лікарських засобів, що входять у групу C02, сформований 41 препаратом, з яких 3,85 % від усього асортименту групи становлять лікарських засобів, що містять суму алкалоїдів із коренів раувольфії; лікарських засобів на основі метилдопи – 1,92 %; агоністи імідазолінових рецепторів: клонідин – 15,38 %, гуанфацин – 1,92 %, моксонідин – 13,46 %, рілменідин – 1,92 %; блокатори альфа-адренорецепторів: празозин – 1,92 %, доксазозин – 42,31 %, урапідил – 5,77 %, теразозин – 7,62 %. Також на вітчизняному ринку присутні два комбінованих лікарських засоби з торговими назвами Адельфан-езидрекс (Novartis Pharma, Швейцарія) та Норматенс (ICN Polfa Rzeszow .A., Польща).

34,15 % асортименту досліджуваної групи формують лікарські засоби вітчизняного виробництва. Значну частку лікарських засобів іноземного виробництва представляють виробники із Німеччини – 36,59 %, Словенії – 9,76%, Угорщини – 7,32 %, Чехії – 4,88 %. Частка інших виробників із Кіпру, Швейцарії та Польщі складає по 2,44 %.

У середині 1960-х років експериментальна робота над молекулами, що знаходяться під скринінгом, у якості коронарних розширювачів дозволила

відновити механізм блокади проникнення кальцію препаратами, пізніше названими блокаторами кальцієвих каналів. Ці препарати в даний час є одними з найбільш часто використовуваних засобів для лікування серцево-судинних захворювань [1, 2, 3, 4].

Важливість кальцію у скороченні м'язів було виявлено Сідні Рінгером, який повідомив про цей факт у 1883 році. Інтерес до внутрішньоклітинної ролі кальцію виник через 60 років в експериментах Камади (Японія) і Хайбрунна (США) на початку 1940-х років. Дослідження фармакології функції кальцію було розпочато в середині 1960-х років, а їхнє терапевтичне застосування у всьому світі відбулося у 1980-х роках [4, 5].

На початку шістдесятих років, різні фармацевтичні компанії розпочали програму відкриття ліків, націлену на коронарний кровообіг, щоб виявити коронарні розтягувачі для лікування стенокардії. Це було ініційовано *Janssen Pharmaceutica* з дифенілметилпіперазинами, включаючи лідофлазин, цинаризин, флунаризин [5, 6], і Knoll AG з фенілалкіламінами, включаючи верапаміл, D600 [6].

Блокатори кальцієвих каналів – це різноманітна група препаратів, які дуже ефективні у зниженні артеріального тиску. Хоча всі серцево-судинні захворювання мають загальну властивість інгібування клітинного припливу кальцію, вони мають різні ефекти на судинні гладкі м'язи, серцеві міоцити та серцеву провідну тканину. В даний час ці препарати рекомендують використовувати як препарати першої лінії при лікуванні гіпертонії [6, 7].

Загалом блокатори кальцієвих каналів (БКК) найчастіше використовуються для лікування гіпертонії та стенокардії [7].

Дана група препаратів, як правило, поділяють на три групи відповідно до їх хімічної структури: бензотіазепіни (дильтіазем); фенілалкіламіни (верапаміл); і дигідропіридин (амлодипін, бедридил, фелодипін, ірадипін) [7, 8].

Існує 2 класи БКК: дигідропіридини (ДГП), які мають більшу селективність до клітин гладких м'язів судин, ніж для серцевих міоцитів, і

недигідропіридин, які мають більшу селективність до серцевих міоцитів і використовуються для серцевих аритмій [8].

ДГП найчастіше викликають периферичні набряки, головні болі та постуральну гіпотензію, і всі вони зумовлені периферичними вазодилататорними ефектами препаратів цього класу БКК [8].

НеДГП є негативними інотропами та хронотропами; вони можуть викликати брадикардію та пригнічувати провідність АВ-вузлів, збільшуючи ризик загострення серцевої недостатності, брадикардії та АВ-блокади [8].

Усі БКК є субстратами CYP3A4, але і дилтіазем, і верапаміл також є інгібіторами 3A4 і мають підвищений ризик взаємодії з лікарськими засобами. Верапаміл також інгібує CYP2C9, CYP2C19 і CYP1A2 [8, 9].

Структура асортименту блокаторів кальцієвих каналів, що представлений на українському ринку, сформована 96 лікарськими засобами, зокрема амлодипіном (46,9 % асортименту групи), ніфедипіном (16,7 %), верапамілом (14,6 %), дилтіаземом (7,3 %), німодипіном та лерканідипіном (по 4,2 % кожний), фелодипіном (3,1 %), нітрендипіном (2,1 %) та лацидипіном (1 %). На Європейських ринках для хворих на артеріальну гіпертензію доступним є оригінальний лікарський засіб, що містить ісрадипін під торговою маркою «Lomir SRO» виробник «Novartis Pharma», Швейцарія.

На вітчизняному ринку, серед комбінованих препаратів блокаторів кальцієвих каналів зустрічаються комбінації: верапамілу з трандолаприлом під торговою назвою «Тарка»; амлодипіну з діуретиками: «Азо- мекс Н», «Арифам».

1.2. Клініко-фармакологічні аспекти верапамілу

Верапаміл був першим клінічно доступним блокатором кальцієвих каналів і є аналогом папаверину [10], який є алкалоїдом, який міститься в опійному маку та має судинорозширювальну дію [9, 10], який був введений у терапію на початку 1960-х років. Він є членом недигідропіридинового

препарату, класу блокаторів кальцієвих каналів, який включає такі препарати, як дилтіазем і флунаризин, але хімічно не пов'язаний з іншими серцево-активними препаратами [10].

Брендові найменування: Calan, Isoptin, Tarka, Verelan

Фармакотерапевтична група [11].

Коди АТС

C09BB10 – Трандолаприл і верапаміл

C09BB – Інгібітори АПФ та блокатори кальцієвих каналів

C09B – Інгібітори АПФ, комбінації

C09 – Засоби, що діють на ренін-ангіотензинову систему

B – Серцево-судинна система

C08DA51 – Верапаміл, комбінації

C08DA – Похідні фенілалкіламіну

C08D – Селективні блокатори кальцієвих каналів з прямим серцевим ефектом

C08 – Блокатори кальцієвих каналів

B – Серцево-судинна система

C08DA01 – Верапаміл

C08DA – Похідні фенілалкіламіну

C08D – Селективні блокатори кальцієвих каналів з прямим серцевим ефектом

C08 – Блокатори кальцієвих каналів

B – Серцево-судинна система

Клінічні характеристики.

Верапаміл є антиаритмічним засобом IV класу, використовується для лікування стенокардії, аритмії та гіпертонії. Він також показаний для профілактики повторюваної пароксизмальної надшлуночкової тахікардії та в комбінації з дигоксином для контролю частоти серцевих скорочень у пацієнтів з фібриляцією або тріпотінням передсердь [12]. При внутрішньовенному

введенні він показаний для лікування різних надшлуночкових тахіаритмій, включаючи швидке перетворення на синусовий ритм у пацієнтів із суправентрикулярною тахікардією та для тимчасового контролю шлуночкової частоти у пацієнтів із фібриляцією або тріпотінням передсердь [11, 12].

Верапаміл може бути ефективним у лікуванні спорадичної геміплегічної та сімейної геміплегічної мігрени [13]. Кластерний головний біль є рідкісним, але чітко вираженим нервово-судинним синдромом, який виникає як в епізодичних, так і в хронічних варіантах, для яких верапаміл, як повідомляється, є наріжним препаратом для профілактики [12, 13]. Його використовували (не за призначенням) для постінфарктного захисту, коли бета-блокада протипоказана та за відсутності клінічної застійної серцевої недостатності [13]. Показано, що верапаміл настільки ж ефективний, як і інгібітор ангіотензинперетворювального ферменту [14], у зниженні секреції альбуміну, і тому його успішно використовують у лікуванні діабетичної нефропатії, коли інгібітори [12] і блокатори рецепторів ангіотензину [13] протипоказані. У дослідженні *Wisner* та ін. [14] було встановлено, що верапаміл є ефективним у лікуванні біполярних розладів у дослідженнях, в яких брали участь амбулаторні пацієнти, включаючи деяких вагітних жінок, але ці висновки не були корельовані [15].

Спосіб застосування та дози.

Верапамілу гідрохлориду у складі лікарських форм представлено у таблиці 1.1 [15].

Таблиця 1.1.

Верапамілу гідрохлориду у складі лікарських форм

Лікарська форма	1 таблетка містить верапамілу гідрохлориду, мг
Капсули вкриті оболонкою	240
Капсули з уповільненим вивільненням	120 / 180 / 240 / 360

Лікарська форма	1 таблетка містить верапамілу гідрохлориду, мг
Капсули подовженої дії	100 / 120 / 180 / 200 / 240 / 300
Розчин для ін'єкцій	2,5 / 5 / 10
Таблетки	40 / 80 / 120 / 180 / 240
Таблетка, вкрита оболонкою	80 / 84 / 120 / 180 / 240
Таблетки з відстроченим вивільненням	80
Таблетки пролонгованої дії	120 / 180 / 240 /
Таблетки, вкриті плівковою оболонкою	40 / 80 / 120 / 240
Таблетки, вкриті плівковою оболонкою, пролонгованої дії	120 / 180 / 240



Рис. 1.1. Лікарських форма верапамілу гідрохлориду

Звичайна початкова доза для дорослих при гіпертензії, стенокардії або аритмії становить 80-120 мг тричі на день [16]. У деяких випадках дозу можна зменшити після клінічного покращення [15]. За потреби дозу можна збільшити до загальної добової дози 480 мг [14], а дозування слід підбирати індивідуально шляхом титрування залежно від переносимості пацієнта та

чутливості до верапамілу [15]. При лікуванні гіпертензії з використанням таблеток із повільним вивільненням звичайна доза становить 240 мг один раз на добу [15] і дозу можна збільшувати з тижневими інтервалами [14, 15] до максимальної дози 240 мг кожні 12 годин.

При лікуванні обструктивної гіпертрофічної кардіоміопатії звичайна початкова доза становить 80-120 мг три-чотири рази на день, іноді пацієнтам можуть знадобитися дози до 600-720 мг/добу [13-15].

Нижчі дози зазвичай потрібні пацієнтам похилого віку і при лікуванні пацієнтів із прогресуючим захворюванням нирок або печінки [14, 15]. Під час внутрішньовенного введення необхідно проводити постійний моніторинг електрокардіограми та артеріального тиску для раннього виявлення подовження інтервалу PR, брадикардії та гіпотензії [12-15].

Передозування.

Передозування верапамілу зазвичай викликає серцево-судинні симптоми, такі як важка брадикардія, блокада серця, глибока гіпотензія [16] і зниження периферичної перфузії з втратою периферичного пульсу, ціаноз і, як наслідок, холодні руки і ноги [15].

Механізм дії.

Верапаміл пригнічує кальцієві канали L-типу шляхом зв'язування зі специфічною ділянкою їх альфа-1 субодиниці, [12, 13] Cav1.2, яка сильно експресується на кальцієвих каналах L-типу в гладких м'язах судин і тканині міокарда, де ці канали відповідають за контроль периферичний судинний опір і скорочувальну здатність серця [14]. Приплив кальцію через ці канали забезпечує поширення потенціалів дії, необхідних для скорочення м'язової тканини та роботи електричного кардіостимулятора серця. Верапаміл зв'язується з цими каналами залежно від напруги та частоти, тобто спорідненість збільшується 1) у зв'язку зі зниженням потенціалу гладком'язової мембрани судин і 2) при надмірному деполяризуючому стимулі [15].

Механізм дії верапамілу при лікуванні стенокардії та артеріальної гіпертензії, ймовірно, зумовлений механізмом, описаним вище. Інгібування надходження кальцію запобігає скороченню гладкої мускулатури судин, спричиняючи розслаблення/розширення кровоносних судин у всьому периферичному кровообігу – це знижує системний судинний опір (тобто післянавантаження) і, таким чином, артеріальний тиск. Це зменшення судинного опору також зменшує силу, з якою серце має тиснути, зменшуючи енергоспоживання міокарда та потребу в кисні, таким чином полегшуючи стенокардію [16].

Електрична активність через AV-вузол відповідає за визначення частоти серцевих скорочень, і ця активність залежить від надходження кальцію через кальцієві канали L-типу. Інгібуючи ці канали та зменшуючи приплив кальцію, верапаміл подовжує рефрактерний період AV-вузла та уповільнює провідність, таким чином сповільнюючи та контролюючи частоту серцевих скорочень у пацієнтів з аритмією [15, 16].

Механізм дії верапамілу (рис. 1.2) при лікуванні кластерних головних болів неясний, але вважається, що це результат впливу на інші кальцієві канали (наприклад, N-, P-, Q- або T-тип) [16, 17].

Відомо, що верапаміл взаємодіє з іншими мішенями, включаючи інші кальцієві канали калієві канали, β_1 , β_2 та адренергічні рецептори [17].

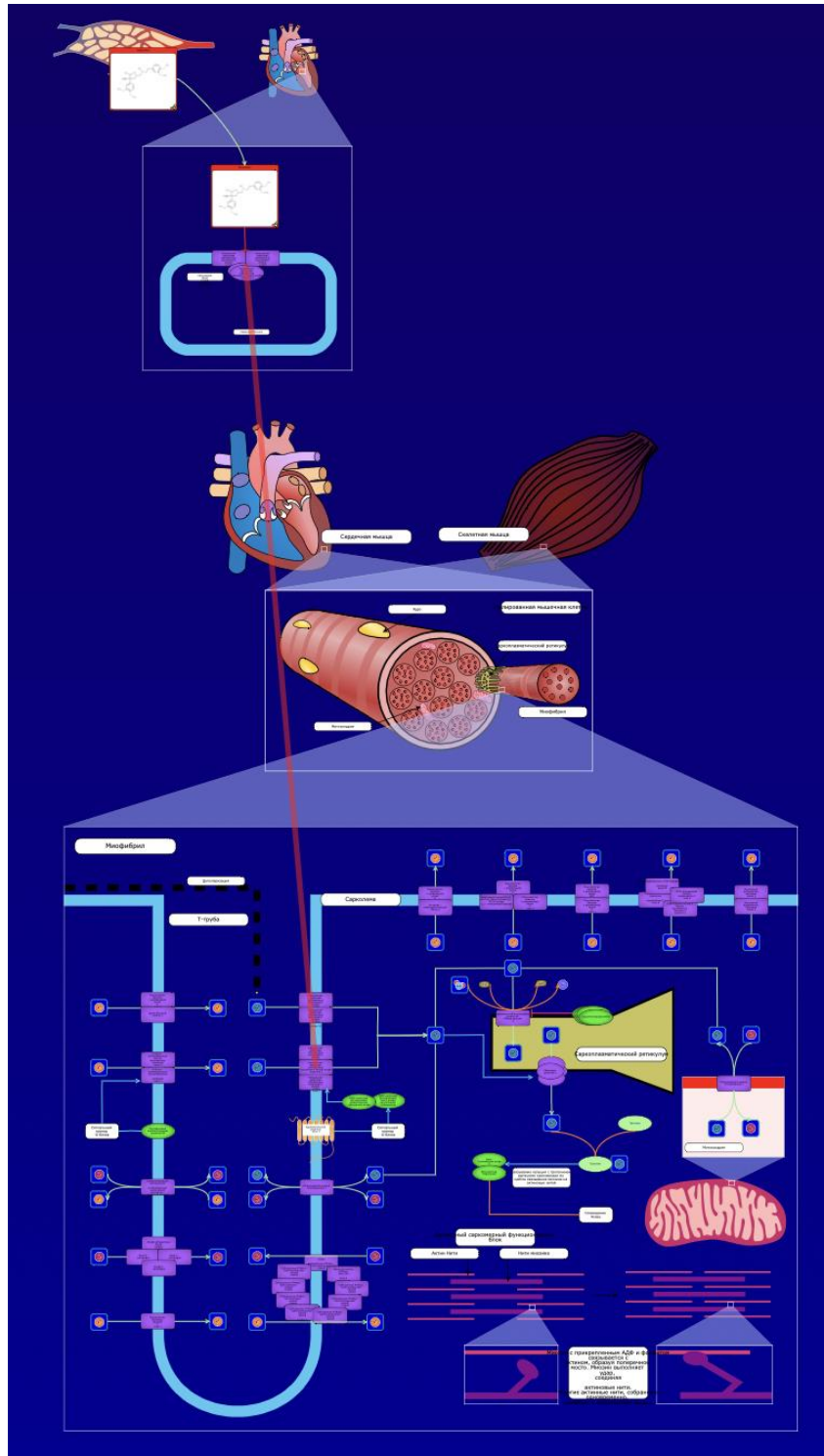


Рис. 1.2. Механізм дії верапамілу гідрохлорид

Фармакологічні властивості.

Фармакокінетика

В останні роки фармакокінетичні властивості верапамілу і дилтіазему були вивчені більш детально. Хоча ці антагоністи кальцію демонструють

велику різноманітність у хімічній структурі, вони володіють загальними фармакокінетичними властивостями. Їх системні плазмені кліренси високи і залежать від кровотоку печені. Таким чином, їх біодоступність (дилтіазем від 40 до 50%; верапаміл від 10 до 30%) низька, незважаючи на майже повне поглинання після перорального введення. Під час тривалого лікування пероральний кліренс зменшується, а біодоступність збільшується із-за насичення печінкового метаболізму першого проходу. Спостерігаються виражені внутрішньо- і між індивідуальні відмінності в біодоступності [18]. У пацієнтів з цирозом сильно змінюються різні фармакокінетичні параметри. Кліренс зменшується, період напіврозпаду при усуненні істотно продовжується, а біодоступність більш ніж посилюється. Крім того, збільшується обсяг розподілу. У той час як хвороба нирок не впливає на фармакокінетику верапамілу. Однак системне оформлення залишається незмінним. Наявні на даний момент дані показують, що концентрації цих препаратів у плазмі корелюють як з їх електрофізіологічними, так і з гемодинамічними ефектами. Однак ефективний діапазон концентрації терапевтичної плазми не був точно встановлений. Наскільки доступні надійні клінічні кінцеві точки для титрування дози антагоністів кальцію, буде контроль терапевтичних лікарів мати більшу цінність. Антагоністи кальцію часто вводяться в поєднанні з різними препаратами. Таким чином, існує потенціал як фармакодинамічної, так і фармакокінетичної лікарської взаємодії [15-18].

Фармакодинаміка.

Верапаміл є слабоосновним і погано засвоюється з нейтральних і лужних середовищ [18]. Він приблизно на 90% всмоктується зі шлунково-кишкового тракту після перорального прийому, але піддається значному метаболізму першого проходження через печінку, в результаті чого біодоступність при пероральному прийомі становить лише приблизно 20%-35% [17, 18]. При пероральному застосуванні максимальний ефект досягається

протягом 1-2 годин при застосуванні звичайних таблеток із негайним вивільненням [17] і протягом 4-8 годин при застосуванні препаратів із пролонгованим вивільненням. Після внутрішньовенного введення терапевтичний ефект виникає протягом декількох хвилин після прийому дози і зберігається від 30 хвилин до 6 годин [18].

Значення AUC і C_{\max} так само залежать від складу. Постійне застосування верапамілу з негайним вивільненням кожні 6 годин призводило до концентрації в плазмі крові від 125 до 400 нг/мл [19]. Стаціонарні значення AUC_{0-24h} і C_{\max} для препарату з уповільненим вивільненням становили 1037 нг·год/мл і 77,8 нг/мл; для R-ізомеру та 195 нг·год/мл і 16,8 нг/мл для S-ізомеру відповідно [18, 19].

Цікаво, що кінетика всмоктування верапамілу є високостереоспецифічною – після перорального прийому верапамілу з негайним вивільненням кожні 8 годин відносна системна доступність S-енантіомеру порівняно з R-енантіомером становила 13% після одноразової дози та 18% у стабільному стані [19].

Верапаміл інтенсивно зв'язується з білками плазми. R-верапаміл зв'язується з сироватковим альбуміном на 94%, а S-верапаміл – на 88%. Крім того, R-верапаміл зв'язується з кислотним глікопротеїном альфа-1 на 92%, а S-верапаміл – на 86% [19, 20].

Верапаміл демонструє бі- або трифазну кінетику виведення [18] і, як повідомляється, має період напіввиведення від 6 до 12 годин [19], але збільшується до 16 годин у хворих на цироз печінки [17, 19]. У немовлят період напіввиведення може збільшуватися з 5 до 7 годин [20] в результаті насичення печінкових ферментних систем із підвищенням рівня верапамілу у плазмі. Приблизно 70% введеної дози виводиться у вигляді метаболітів у із сечею та 16% або більше з фекаліями протягом 5 днів після прийому дози. Приблизно 3–4% введеної дози виводиться із сечею у незміненому вигляді [19, 20].

Метаболізм

Верапаміл інтенсивно метаболізується в печінці, причому до 80% введеної дози підлягає елімінації через пресистемний метаболізм – цікаво, що цей метаболізм першого проходження очищає S-енантіомер верапамілу набагато швидше, ніж R-енантіомер [20]. Залишок вихідного препарату піддається O-деметилуванню, N-деалкілуванню та N-деметилуванню до ряду різних метаболітів через ферментну систему цитохрому P450 [21]. Норверапаміл, один із основних циркулюючих метаболітів, є результатом N-деметилування через CYP2C8, CYP3A4 і CYP3A5,9 і забезпечує приблизно 20% серцево-судинної активності вихідного препарату [19, 21]. Іншим основним шляхом, залученим у метаболізм верапамілу, є N-деалкілування через CYP2C8, CYP3A4 і CYP1A2 до метаболіту D-617. І норверапаміл, і D-617 далі метаболізуються іншими ізоферментами CYP до різних вторинних метаболітів. CYP2D6 і CYP2E1 також беруть участь у метаболічному шляху верапамілу, хоча й незначною мірою [22]. Другорядні шляхи метаболізму верапамілу включають його O-деметилування до D-703 через CYP2C8, CYP2C9 і CYP2C18, а також до D-702 через CYP2C9 і CYP2C18 [21, 22].

Декілька етапів метаболічного шляху верапамілу показують стереоселективну перевагу S-енантіомеру даного субстрату, включаючи генерацію метаболіту D-620 за допомогою CYP3A4/5 і метаболіту D-617 за допомогою CYP2C8 [22].

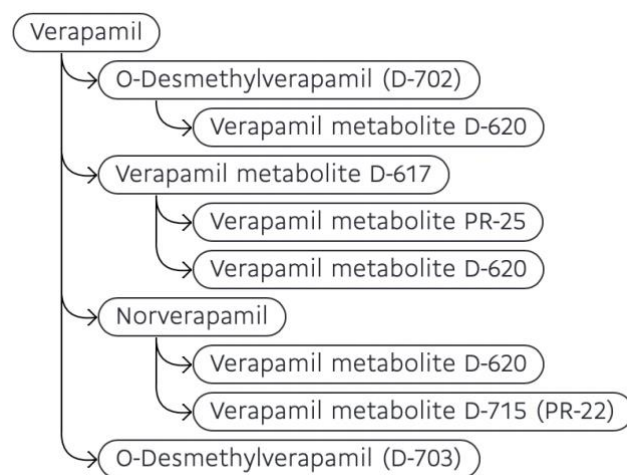


Рис. 1.3. Метаболізм верапамілу гідрохлорид

1.3. Клініко-фармакологічні аспекти дилтіазему

Дилтіазем є похідним бензотіазепіну з антигіпертензивними та судинорозширювальними властивостями. Схвалений у 1982 році FDA, він є членом класу недигідропіридинових блокаторів кальцієвих каналів. Він працює за допомогою різних механізмів дії, але в першу чергу він працює шляхом пригнічення надходження кальцію до гладких м'язів серця та судин під час деполяризації [23]. Порівняно з дигідропіридиновими препаратами, такими як верапаміл, який діє безпосередньо на серцевий м'яз, дилтіазем демонструє проміжну специфічність щодо дії як на серцевий, так і на гладкі м'язи судин [22, 23].

Спосіб застосування та дози.

Будучи потужним вазодилататором, дилтіазем клінічно використовується як антигіпертензивний, антиаритмічний і як антиангінальний засіб [23] для лікування серцево-судинних захворювань, таких як гіпертонія, хронічна стабільна стенокардія, фібриляція передсердь, тріпотіння передсердь. Показаний до застосування для підвищення переносимості фізичних навантажень у пацієнтів із хронічною стабільною стенокардією [24].

Показаний для лікування артеріальної гіпертензії, для зниження артеріального тиску окремо або в комбінації з іншими антигіпертензивними засобами [20, 23].

Окрім основних схвалених FDA показань, дилтіазем також використовувався для численних показань не за призначенням, таких як анальні тріщини (у місцевих препаратах), профілактика мігрені, легенева гіпертензія та судомни нижніх кінцівок [24].

C08DB01 – Дилтіазем

C08DB – Похідні бензотіазепіну

C08D – Селективні блокатори кальцієвих каналів з прямим серцевим ефектом

C08 – Блокатори кальцієвих каналів

B – Серцево-судинна система

C05AE03 – Дилтіазем

C05AE – Міорелаксанти

C05A – Засоби для лікування геморою та анальних тріщин для місцевого застосування

C05 – Судинопротекторні засоби

B – Серцево-судинна система

Дилтіазему гідрохлориду у складі лікарських форм представлено у таблиці 1.2. [25].

Таблиця 1.2

Дилтіазему гідрохлориду у складі лікарських форм

Лікарська форма	1 таблетка містить дилтіазему гідрохлориду, мг
Порошок для приготування розчину для ін'єкцій	50 мг/2,5 мл; 50 мг/5 мл
Порошок для приготування розчину для ін'єкцій	
Капсули	60 / 90 / 120 / 180 / 240 / 300 / 360
Капсули подовженої дії	60 / 120 / 300 мг
таблетки, вкриті плівковою оболонкою	30 / 60 / 90 / 120 мг
Ін'єкція	5 мг/мл
Капсула, подовжене вивільнення	180 мг
Капсула, подовжене вивільнення	240 мг



Рис. 1.4. Дилтіазему гідрохлориду у складі лікарських форм

Передозування.

Повідомлялося про випадки передозування дилтіаземом у дозах від менш ніж 1 г до 18 г, причому кілька випадків включали багаторазовий прийом препарату, що призводило до смерті. Передозування супроводжувалось з брадикардією, артеріальною гіпотензією, серцевою блокадою та серцевою недостатністю, що може проявлятися запамороченням і втотою [25, 26].

Механізм дії

Дилтіазем є повільним блокатором кальцієвих каналів, який зв'язується з позаклітинною ділянкою субодиниці альфа-1С каналу, який, як вважають, є лінкерною областю S5-6 трансмембранного домену IV та/або сегментом S6 домену III [25, 26]. Завдяки пригніченню внутрішнього потоку кальцію дилтіазем здійснює пряму іонотропну та енергозберігаючу дію на міокард [26]. Дилтіазем уповільнює атріовентрикулярну вузлову провідність, що зумовлено його здатністю перешкоджати повільній роботі каналу [23].

Зниження внутрішньоклітинної концентрації кальцію прирівнюється до посиленого розслаблення гладких м'язів, що призводить до артеріальної вазодилатації і, отже, до зниження артеріального тиску [27]. Зниження внутрішньоклітинного кальцію пригнічує процеси скорочення гладком'язових клітин міокарда, спричиняючи розширення коронарних і системних артерій, посилення доставки кисню до тканини міокарда, зниження загального периферичного опору, зниження системного артеріального тиску та зменшення постнавантаження [28]. Завдяки своїй дії на зниження рівня кальцію в гладких м'язах серця та судин дилтіазем спричиняє зниження процесів скорочення гладком'язових клітин міокарда. і вазодилатація коронарних і системних артерій, включаючи епікардіальну та субендокардіальну. Згодом це призводить до збільшення доставки кисню до тканини міокарда, покращення серцевого викиду через збільшення ударного об'єму, зниження загального периферичного опору, зниження системного артеріального тиску та частоти серцевих скорочень, а також зменшення

післянавантаження [26]. Дилтіазем знижує потребу міокарда в кисні через зменшення частота серцевих скорочень, артеріальний тиск і скорочувальна здатність серця; це призводить до терапевтичного ефекту у покращенні переносимості фізичного навантаження при хронічній стабільній стенокардії [27].

Фармакологічні властивості.

Фармакокінетика

Дилтіазем добре всмоктується зі шлунково-кишкового тракту та має виражений ефект першого проходження, що забезпечує абсолютну біодоступність (порівняно з внутрішньовенним введенням) приблизно на 40%. Дилтіазем піддається екстенсивному метаболізму, під час якого від 2% до 4% незміненого препарату виявляється в сечі. Дослідження зв'язування *in vitro* показують, що дилтіазем зв'язується з білками плазми на 70-80%. Конкурентні *in vitro* дослідження зв'язування ліганду також показали, що зв'язування дилтіазем не змінюється під впливом терапевтичних концентрацій дигоксину, гідрохлортіазиду, фенілбутазону, пропранололу, саліцилової кислоти або варфарину. Період напіввиведення з плазми після одноразового або багаторазового прийому препарату становить приблизно 3,0-4,5 години. Мінімальні терапевтичні рівні дилтіазем у плазмі крові знаходяться в діапазоні від 50 до 200 нг/мл [28].

Дилтіазем всмоктується з таблетованої форми приблизно на 98% розчину порівняння. Разові пероральні дози від 30 до 120 мг таблеток дилтіазем призводять до виявлених рівнів у плазмі крові протягом 30-60 хвилин, а максимальні рівні в плазмі досягаються через 2-4 години після прийому препарату. При збільшенні дози таблеток дилтіазем із добової дози 120 мг (30 мг 4 рази на день) до 240 мг (60 мг 4 рази на день) спостерігається збільшення площі під кривою в 2,3 рази. При збільшенні дози з 240 мг до 360 мг на добу спостерігається збільшення площі під кривою в 1,8 рази [26-28].

Фармакодинаміка.

Дилтіазем чинить гіпотензивну дію, знижуючи як систолічний, так і діастолічний артеріальний тиск, не впливає при цьому на нормальний рівень артеріального тиску. На відміну від більшості периферичних вазодилататорів, не спричиняє розвитку рефлекторної тахікардії [27]. Незважаючи на слабку негативну інотропну дію препарату, при його застосуванні не зменшується ударний об'єм серця і фракція викиду лівого шлуночка. При тривалому систематичному застосуванні дилтіазем може спричиняти регресію гіпертрофії лівого шлуночка. Препарат можна застосовувати як монотерапію, а також і з іншими гіпотензивними засобами у складі комбінованої терапії, особливо з діуретиками та інгібіторами АПФ. Дилтіазем можна призначати в тих випадках, коли застосування блокаторів β -адренорецепторів протипоказане (лікування хворих з бронхіальною астмою, цукровим діабетом або периферичними ангіопатіями). Дилтіазем не чинить негативної дії на ліпідний спектр плазми крові [25-28].

Метаболізм

Дилтіазем піддається інтенсивному метаболізму першого проходження, що пояснює його відносно низьку абсолютну біодоступність при пероральному прийомі. Він піддається N-деметилуванню в основному за допомогою CYP3A4. CYP2D6 відповідає за O-деметилування, а естерази опосередковують деацетилювання [29].

Основними циркулюючими метаболітами в плазмі є N-монодесметил дилтіазем, деацетил дилтіазем і деацетил N-монодесметил дилтіазем, які є фармакологічно активними [28]. Деацетил дилтіазем зберігає приблизно 25-50% фармакологічної активності порівняно з вихідна сполука [27, 28]. Деацетилдилтіазем можна далі перетворити на N-оксид деацетилдилтіазему або деацетилO-десметилдилтіазем. N-монодесметил дилтіазем може бути далі метаболізований до N,O-дидесметил дилтіазему. Деацетил N-монодесметил дилтіазем може далі метаболізуватися до деацетил N,O-дидесметил дилтіазему, який може бути глюкуронованим або сульфатованим [28, 29].

Дилтіазем може бути О-деметильований СYP2D6 з утворенням О-десметил дилтіазему [29].

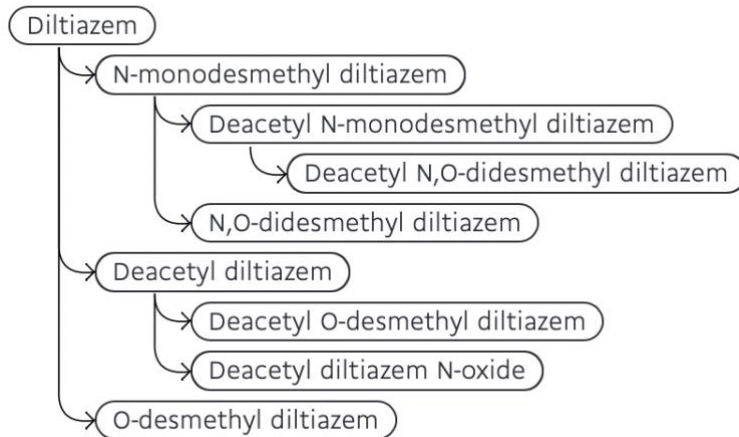


Рис. 1.5. Метаболізм дилтіазему гідрохлориду

Взаємодія з іншими лікарськими засобами та інші види взаємодій.

Встановлено несумісність верапамілу з розчинами нафциліну натрію [29], амінофіліну та натрію гідрокарбонату, що проявляється утворенням осаду в лужних розчинах [28, 29].

Метаболізм

Усі БКК є субстратами цитохрому P450 3A4 (CYP3A4); отже, одночасне застосування з індукторами або інгібіторами CYP3A4, ймовірно, призведе до зміни концентрації у плазмі. Крім того, верапаміл і дилтіазем є інгібіторами CYP3A4 і P-глікопротеїну (P-gp). Одночасне застосування з препаратами, які є субстратами CYP3A4 та/або P-gp, може призвести до підвищення концентрації препарату внаслідок інгібування CYP3A4 верапамілом або дилтіаземом. Верапаміл також є інгібітором CYP2C9, CYP2C19 і CYP1A2 [29, 30].

Взаємодія з іншими лікарськими засобами

ДИГОКСИН

Верапаміл і дилтіазем підвищують пікові та стабільні концентрації дигоксину в сироватці крові. Верапаміл і дилтіазем знижують нирковий і позанирковий кліренс дигоксину. Під час терапії періодично контролювати

концентрацію дигоксину в сироватці крові. Крім того, верапаміл і дилтіазем мають адитивний ефект для сповільнення атріовентрикулярної провідності [30, 31].

БЕТА-БЛОКАТОРИ

Адитивні гіпотензивні ефекти виникають, коли БКК застосовують одночасно з бета-блокаторами, що часто є бажаним терапевтичним ефектом. Проте бета-блокатори, а також верапаміл і дилтіазем є негативними інотропами та хронотропами, і сумісне застосування може спричинити значну блокаду AV-вузлів, що проявляється блокадою серця, брадикардією, порушеннями серцевої провідності та/або подовженим інтервалом PR. Крім того, було показано, що дилтіазем підвищує концентрацію пропранололу на 50%, [30, 31], а верапаміл знижує кліренс метопрололу та пропранололу.

ІМУНОДЕПРЕСАНТИ

Одночасне застосування верапамілу, дилтіазему з циклоспорином може призвести до підвищення концентрації циклоспорину та токсичності. Також циклоспорин може підвищувати концентрацію ніфедипіну. Використовуйте обережно у пацієнтів, стабілізованих на циклоспорині; може знадобитися зміна дози. Одночасне застосування дилтіазему або верапамілу та такролімусу може підвищити концентрацію такролімусу в плазмі крові; може знадобитися коригування дози [27-30].

СИМВАСТАТИН

Через підвищений ризик міопатії, включаючи рабдоміоліз, існують добові обмеження дози для деяких блокаторів кальцієвих каналів при прийомі з симвастатином, і навпаки. Для пацієнтів, які приймають верапаміл, не слід перевищувати дозу симвастатину 10 мг/добу. У пацієнтів, які приймають дилтіазем, не перевищуйте дозу дилтіазему 240 мг/добу та/або дозу симвастатину 10 мг/добу. Пацієнтам, які приймають симвастатин у дозі 80 мг/добу, слід розглянути можливість переходу на альтернативний статин із меншим потенціалом взаємодії. Дилтіазем і верапаміл збільшують експозицію симвастатину приблизно в 1,5 раза, 5 разів і 2 рази відповідно [29-30].

Висновки до розділу 1

У даному розділі докладно представлені фармакологічні властивості, особливості фармакокінетики та фармакодинаміки блокаторів кальцієвих каналів – верапаміл, дилтіазем.

РОЗДІЛ 2

ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Об'єкт дослідження

Верапамілу гідрохлорид – білий кристалічний порошок, практично без запаху [33]. Містить не менше 99,0 % і не більше 101,0 % рацемічного верапамілу гідрохлорид, визначеного у відношенні до висушеної речовини [34]. Хімічні структури двох ізомерів верапамілу гідрохлорид зображені на рис. 2.1

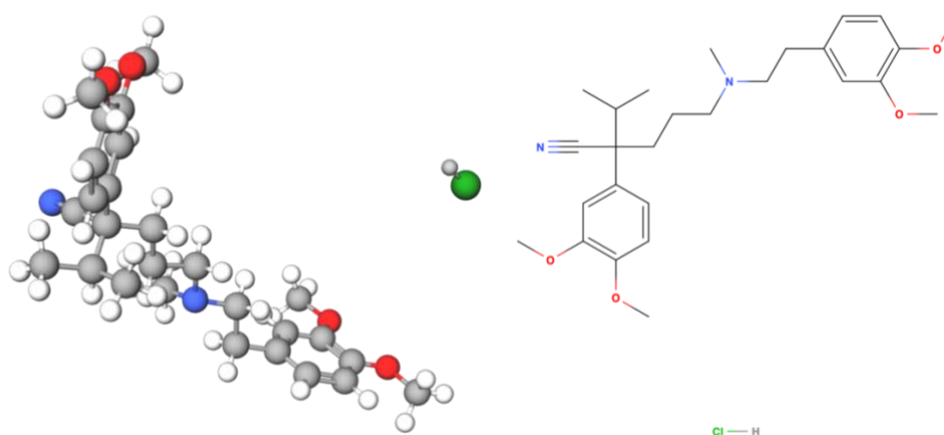


Рис. 2.1. 5-[N-(3,4-диметоксифенетил)метиламіно]-2-(3,4-диметоксифеніл)-2-ізопропілвалеронітрилу гідрохлорид

α -[3-[[2-(3,4-Диметоксифеніл)етил]-метиламіно]пропіл]-3,4-диметокси- α -(1-метилетил) бензолацетонітрилу гідрохлорид

α -ізопропіл- α -[(N-метил-N-гомовератрил)-у-амінопропіл]-3,4-диметоксифенілацетонітрилу гідрохлорид

- **Оптичне обертання:**

1% метанольний розчин верапамілу гідрохлорид не виявляв оптичної активності при вимірюванні при 589 нм в кюветі 1 дм при 25°C [34].

- **pH розчину**

pH 0,1 % водного розчину верапамілу гідрохлорид становить 4,5-6,0 [33].

- **Розчинність (21°C)**

Розчинність верапамілу гідрохлорид як функція pH зображена на рис. 2.2, а в таблиці 2.1 наведено розчинність сполуки в різних розчинниках. Розчинність становить приблизно 80-90 мг/мл у розчині з pH від 2,3 до 6,4, де переважають іонізовані види, які швидко зменшуються при лужному pH. Розчинником, який використовували, була вода, pH якої довели до бажаного значення за допомогою 0,1 н. NaOH і 0,1 н. розчинів HCl для цього дослідження [34].

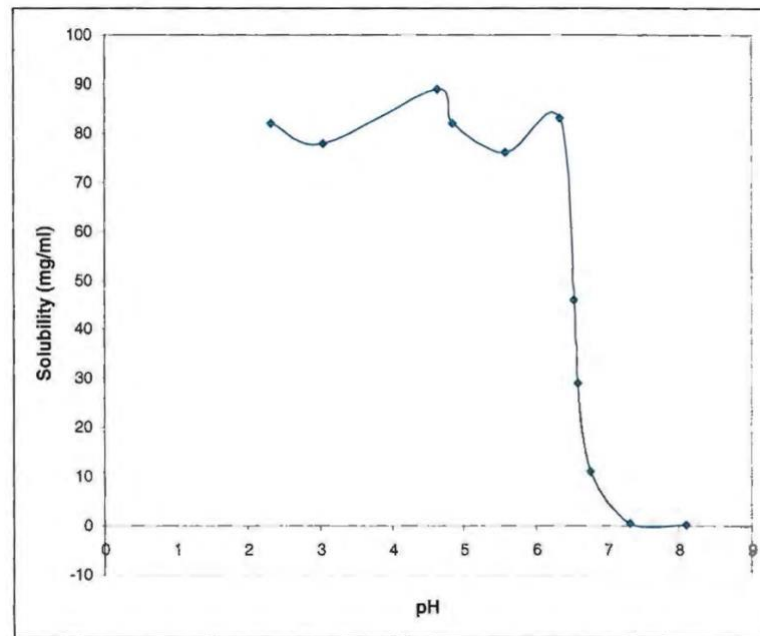


Рис. 2.2. Розчинність верапамілу гідрохлорид в залежності від pH.

Таблиця 2.1

Розчинність верапамілу гідрохлорид

Розчинник	Розчинність (мг/мл)
Вода очищена	83
Етанол	26
Пропіленгліколь	93
Метанол	>100
2-пропанол	4,6
Етилацетат	1,0
Диметилформамід	>100

Хлористий метилен	>100
Гексан	0,001

- **pKa**

Титрування верапамілу гідрохлорид (розчиненого у метанолі та воді) 0,1М гідроксидом калію (KOH) у метанолі дало значення pKa 8,6 при екстраполяції на чисту воду [34].

- **Гігроскопічність**

Зразок верапамілу гідрохлорид, підданий 79% відносної вологості при кімнатній температурі протягом 24 годин, поглинув 0,47% мас. води, що свідчить про те, що верапамілу гідрохлорид не є гігроскопічним [35].

- **Спектр ультрафіолетового поглинання**

0,002% розчин верапамілу гідрохлорид у метанолі (рис. 2.3) дає дві довжини хвилі максимуму поглинання, які відбуваються при 230 нм ($\epsilon = 16\,700$) і 278 нм ($\epsilon = 6\,090$) [35], λ_{\max} 278 нм для верапамілу гідрохлорид у воді [36].

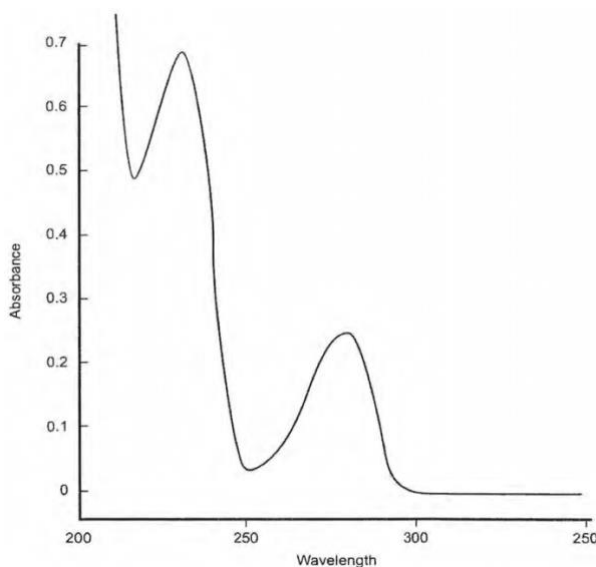


Рис. 2.3. УФ-спектр поглинання верапамілу гідрохлорид у метанолі

- **Температура плавлення**

Верапамілу гідрохлорид плавиться в діапазоні 140-144°C

- **Синтез верапамілу гідрохлорид**

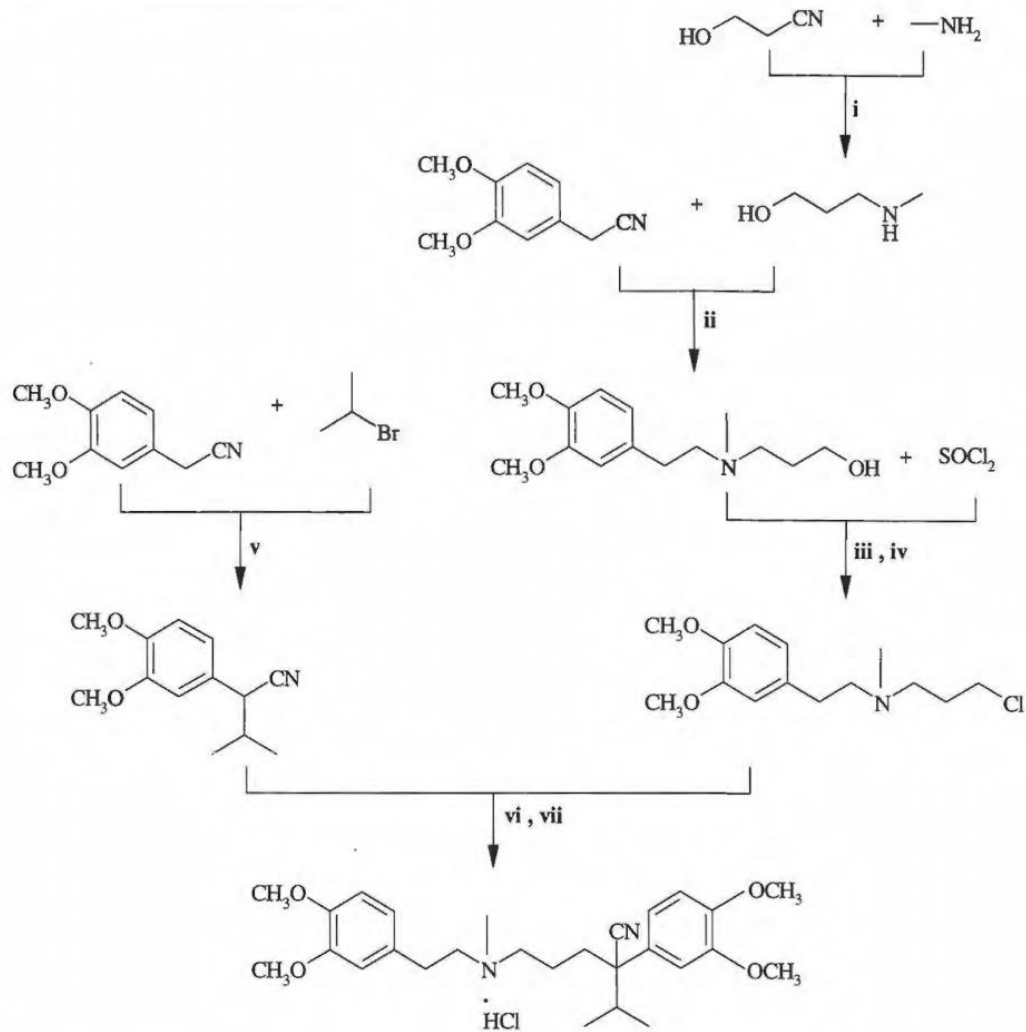


Рис. 2.4. Шлях синтезу верапамілу гідрохлорид

Де,

i – H_2 , 5% Pd/ Al_2O_3

ii – H_2 , 20% Pd/C

iv – NaOH- H_2O

v – Амід натрію толуол

vi – Амід натрію толуол

iii – CH_2Cl_2

vii – кислота хлористоводнева

- **Стереоспецифічність**

Наявність хірального центру у верапамілу гідрохлорид призводить до наявності стереоізомерів, і в усіх лікарських формах верапамілу гідрохлорид присутній у вигляді рацемічної суміші, тобто R та S енантіомерів [36]. Багато

антиаритмічних препаратів, представлених на ринку протягом останніх трьох десятиліть, мають хіральний центр у своїх структурах і, отже, доступні у вигляді рацематів [35, 36]. Існує значна стереоселективність в одній або кількох фармакологічних діях верапамілу гідрохлорид, при цьому активність кожного енантіомера відрізняється у 20 і більше разів для цього препарату. Біологічне поглинання хірального верапамілу гідрохлорид є нестереоселективним, однак розподіл, метаболізм і ниркова екскреція зазвичай сприяють одному енантіомеру над іншим [36].

Існує нестача досліджень взаємозв'язку структура-активність щодо антагоністів кальцієвих каналів, незважаючи на велику кількість даних, опублікованих у літературі [37]. Автори [38] повідомили, що метоксигрупи в бензольному кільці поблизу асиметричного атома вуглецю та ізопропільна група не є істотними для частотно-залежної негативної інотропної дії верапамілу гідрохлорид, але мають сильний вплив на ефективність сполуки. . Як третинний аміноазот, так і два бензольні кільця важливі для частотно-залежної негативної інотропної дії верапамілу гідрохлорид. Молекулярне значення N-метильної групи, ймовірно, пояснюється її впливом на стеричний ефект у молекулі.

- **Стабільність**

Верапамілу гідрохлорид стабільний у високих термічних і фотохімічних умовах, коли він піддається впливу в твердому стані. Він також стабільний у нейтральних, кислих і основних водних умовах кипіння. Однак, коли верапамілу гідрохлорид розчиняють у метанолі та піддають УФ-опроміненню протягом 2 годин, він швидко розкладається [39].

Верапамілу гідрохлорид у розчинах різного рН не розкладався через 105 днів при зберіганні при 50°C. Значення Q10 використовували для наближення довгострокової стабільності верапамілу гідрохлорид у розчині, і було оцінено, що він буде стабільним протягом 4,5 років, хоча повідомлялося про 5% розкладання за масою/об'ємом у розчинах з рН 1,4, 6,5 та 7,3. Повідомляється, що оптимальний діапазон рН верапамілу гідрохлорид становить від 3,2 до 5,6

[40]. Також проводилися досліджування на стабільність пероральної рідкої лікарської форми верапамілу гідрохлорид і повідомили, що розчини були стабільними до 60 днів при зберіганні при температурі від 5°C до 25°C за відсутності світла [39, 40].

Ділтiazему гідрохлорид

Молекулярна формула: $C_{22}H_{26}N_2O_4S$;

Молекулярна маса: 414,52.

Температура плавлення: 209,5 – 212

Оптичні ізомери отримані 1973 року, а стереоспецифічний синтез основ ділтiazему здійснено 1984 року у лабораторії фірми Shionogi [41].

D-цис гідрохлорид: $C_{22}H_{27}ClN_2O_4S$; М.М. 450,98; Т. пл. 207-212°C (з суміші етанол-ізопропанол), $[\alpha]_D + 98,30$ (у метанолі). Біла кристалічна речовина добре розчинна у воді, метанолі, хлороформі; помірно розчинний в абсолютному етанолі, практично не розчинний у бензолі та ефірі [40, 41].

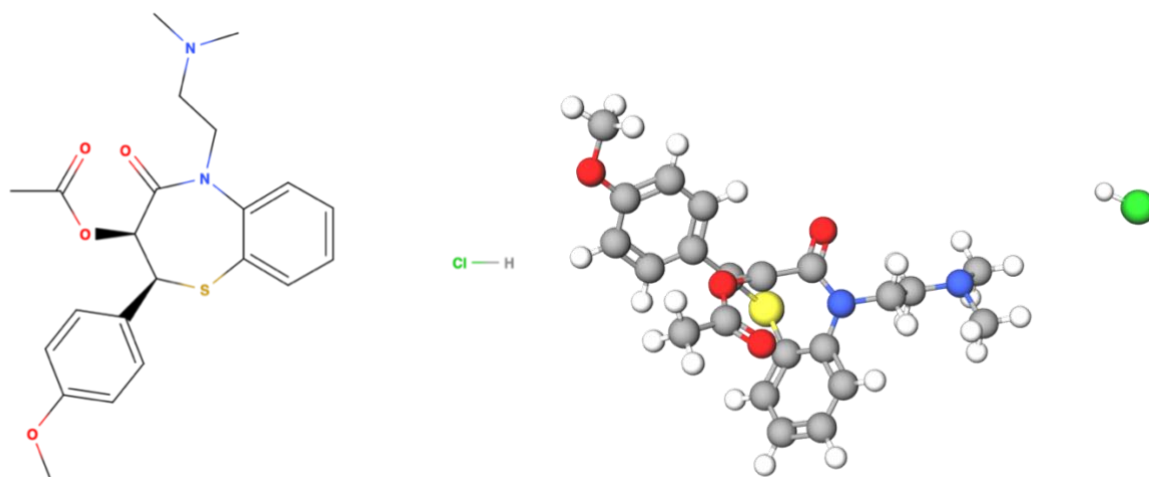


Рис. 2.5. (2S,3S)-3-ацетиокси-5-[2-(диметиламіно)етил]-2-(4-метоксифеніл)-2,3-дигідро-1,5-бензотіазепін-4(5H)-ону гідрохлорид

- **pH розчину**

pH насиченого водного розчину ділтiazему гідрохлориду у воді становить 3,0. 1% (мас./мас.) розчин препарату у воді має pH 4,2. Повідомлялося, що pH $4,7 \pm 0,3$ для 1,0% (маса/об'єм) розчину ділтiazему гідрохлориду у воді [41].

- **pKa – 8,91**

- **Стабільність**

Зберігати в герметичному контейнері при температурі від 15 до 30°C.

Берегти від світла.

Синтез

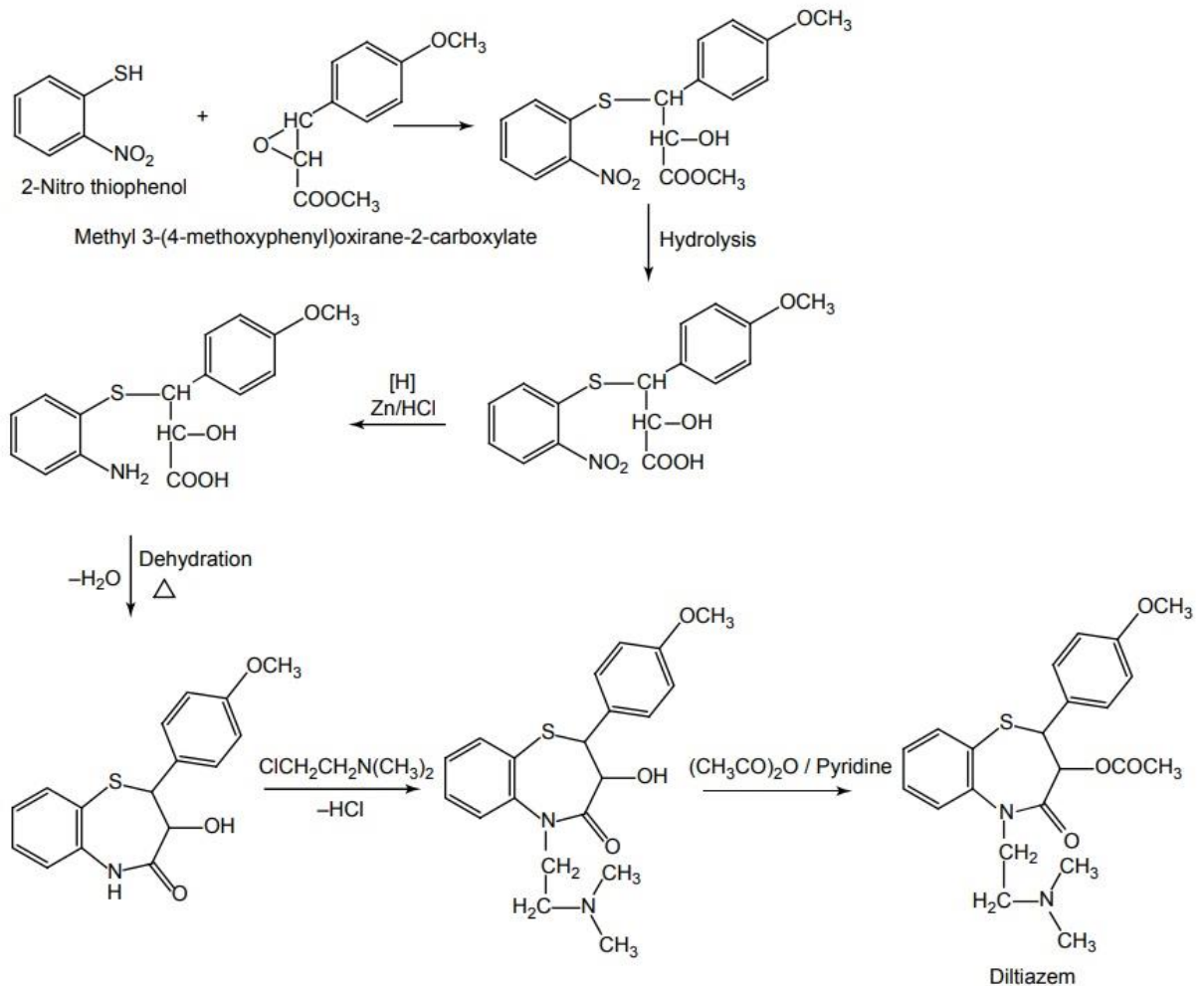


Рис. 2.6. Шлях синтезу ділтіазему гідрохлорид

2.2. Методи дослідження

У галузі фармацевтичних досліджень дуже важливим є аналітичне дослідження лікарських матеріалів, проміжних продуктів, субстанцій, лікарських форм, домішок і продуктів розпаду, а також біологічних зразків, що містять ліки та їх метаболіти. З початку офіційного фармацевтичного аналізу аналітичні методи аналізу були включені до збірних монографій з метою охарактеризувати якість основних лікарських засобів шляхом

встановлення меж вмісту їх активних інгредієнтів. В останні роки методи аналізу в монографіях включають титриметрію, спектрометрію, хроматографію та капілярний електрофорез; також електроаналітичні методи можна побачити в літературі. Поточний стан техніки відтворюється у виданнях Європейської (Європейська фармакопея та Рада Європи, 2002 р.) та фармакопеї США (Фармакопея США, 2004 р.).

Від етапів розробки ліків до маркетингу та постмаркетингу аналітичні методи відіграють велику роль, будь то розуміння фізичної та хімічної стабільності препарату, вплив на вибір і дизайн лікарської форми, оцінка стабільності молекул препарату, кількісне визначення домішок та ідентифікація тих домішок, які перевищують встановлений поріг, що є необхідним для оцінки профілів токсичності цих домішок, щоб відрізнити їх від профілів токсичності активного фармацевтичного інгредієнту та оцінки вмісту препарату в продуктах, що продаються. Аналіз препарату та його метаболіту, який може бути кількісним або якісним, широко використовується у фармакокінетичних дослідженнях.

Контроль якості включає використання класичних, фізико-хімічних та інструментальних методів. Осади, екстракція та дистиляція є класичними якісними методами, що використовуються при розподілі. Інші методи ідентифікації включають відмінності в залежності від кольору, температури плавлення, кипіння, розчинності або радіоактивності. Крім того, загальні аналітичні кількісні методи використовують зміни маси або обсягу для кількісної оцінки суми.

Як правило, хроматографія, електрофорез або фракціонування потоку поля є основними інструментальними методами, які використовуються для аналізу. Після аналізу, визначення концентрації можуть бути використані якісні і кількісні методи. Це часто досягається або за допомогою одного й того ж інструменту після аналізу, або з використанням альтернативних методів спектроскопії для подальшої характеристики і аналізу. Часто класичні

інструментальні методи використовують один і той же інструмент для аналізу, виявлення та кількісної оцінки зразків.

Тим не менш, спектроскопічне приладування часто використовується як додатковий метод, тому що воно має перевагу в диференціації молекул, які можуть мати однаковий час елюювання з хроматографією, але різні молекулярні характеристики. Крім того, хемометрія та багатовимірні статистика використовуються у поєднанні з цими методами для подальшого з'ясування структури та виявлення основних компонентів при низьких концентраціях. Це особливо важливо у фармацевтичній промисловості.

Висновки до розділу 2

Об'єктами дослідження – блокатори кальцієвих каналів верапаміл та ділтіазем. Аналіз у фармацевтичній промисловості в основному полягає в ефективному та дієвому виявленні та характеристиці фармацевтичних інгредієнтів для підтримки високої якості та контролю якості.

РОЗДІЛ 3

МЕТОДИ ІДЕНТИФІКАЦІЇ ТА КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ БЛОКАТОРІВ КАЛЬЦІЄВИХ КАНАЛІВ

Критеріями пошуку був аналітичний метод розробки ліків із групи блокаторів кальцієвих каналів. Літературне дослідження проводилося в діапазоні 2000-2022 років, щоб зробити огляд оновленим та всеосяжним та показати нові підходи до розробки методів аналізу блокаторів кальцієвих каналів. Джерелами були всесвітньо визнані журнали, і ключовими словами, що використовуються як фільтр, були блокатори кальцієвих каналів верапаміл, дилтіазем розробка методів, спектрофотометрія, ВЕРХ [42]. Хроматографічні методи аналізу, серед іншого, мають найбільшу специфічність та об'єктивність і дозволяють якісно та кількісно визначати активні фармацевтичні інгредієнти у комбінованих лікарських формах та біологічних рідинах без попереднього поділу компонентів [43].

Можна зробити висновок, що вчені постійно працюють над розробкою нових методів аналізу та їх оптимізацією, щоб заощадити час та витратні матеріали, що також забезпечує ефективність розробленого методу.

Основним недоліком описаних методів аналізу активних фармацевтичних інгредієнтів (АФІ) можна вважати в довгостроковій перспективі від початку хроматографії до випуску АФІ і конкретних розчинників, що використовуються як мобільна фаза в ВЕРХ. Необхідно розробити методи та вибрати такі хроматографічні умови, які забезпечать високу швидкість та високу ефективність при нижчому тиску системи. Це зменшує кількість використовуваної мобільної фази, що відповідно знижує аналіз витрат, забезпечуючи при цьому необхідну специфіку, точність та відтворюваність результатів аналізу під час контролю якості. Також скорочення часу аналізу досягається з допомогою спрощення умов підготовки проб [43, 44].

3.1 Огляд аналітичного визначення верапамілу

У Державній Фармакопеї України (ДФУ) є монографія про субстанцію верапамілу гідрохлориду та про верапамілу гідрохлорид у таблетках (ДФУ 2015). Для ідентифікації субстанції верапамілу гідрохлориду ДФУ пропонує УФ-спектрофотометрію, абсорбційну спектрофотометрію в інфрачервоній області, ТШХ (рухома фаза – діетиламін Р – циклогексан (15:85)), кількісне визначення – алкаліметрію, потенціометричне титрування [44].

Для ідентифікації верапамілу гідрохлориду в таблетках ДФУ пропонує УФ-спектрофотометрію ВЕРХ/УФ (рухома фаза – суміш гептиламін ПН – оцтова кислота льоду Р – ацетонтрил Р – розчин 1,36 г/л натрію ацетату Р (1:4.7:58:1.37)), якісна реакція на хлориди. Для кількісного визначення верапамілу гідрохлориду в таблетках – УФ-спектрофотометрія [44, 45].

Фармакопея США регулює визначення верапамілу гідрохлориду в субстанції, таблетках і розчині для ін'єкцій. Для виявлення верапамілу гідрохлориду в субстанції визначають абсорбційну спектрофотометрію в інфрачервоному діапазоні, ВЕРХ/УФ (рухома фаза – аналог ДФУ), якісну реакцію на хлориди, для кількісного визначення – ацидиметрію в неводному середовищі. Для ідентифікації верапамілу гідрохлориду в таблетках Фармакопея США пропонує метод абсорбційної спектрофотометрії в інфрачервоному діапазоні та ВЕРХ/УФ. Лікарський засіб «Верапамілу гідрохлорид, таблетки», описаний у монографії Фармакопеї США. Відповідно до цієї статті ВЕРХ/УФ регулюється такими хроматографічними умовами: хроматографічна колонка категорії L1 (фіксована фаза C18) розміром 4,6 мм × 125 або 150 мм; рухома фаза – ацетонітрил: 2-аміногептан: розчин А (0,015 М розчин ацетату натрію, що містить 33 мл/л оцтової кислоти) у співвідношенні (30:0,5:70); довжина хвилі – 278 нм, швидкість потоку – 0,9 мл/хв [46].

Європейська фармакопея пропонує визначати субстанцію верапамілу гідрохлорид УФ-спектрофотометрією, спектрофотометрією поглинання в інфрачервоній області, ТШХ (рухома фаза – діетиламін Р – циклогексан

(15:85)) та якісною реакцією на хлориди, кількісним визначенням – алкаліметричним потенціометричним титруванням [47].

Методи кількісного визначення верапамілу гідрохлориду в лікарських формах та біологічних рідинах спектрофотометричним, електрохімічним методом, капілярний електрофорез, тандемне мас-спектроскопічне детектування (РХ-МС/МС), ВЕРХ та зворотний вольт-амперний метод та методами хроматографії описано в науковій літературі.

Мас-спектр (електронна іонізація, рис. 3.1.)

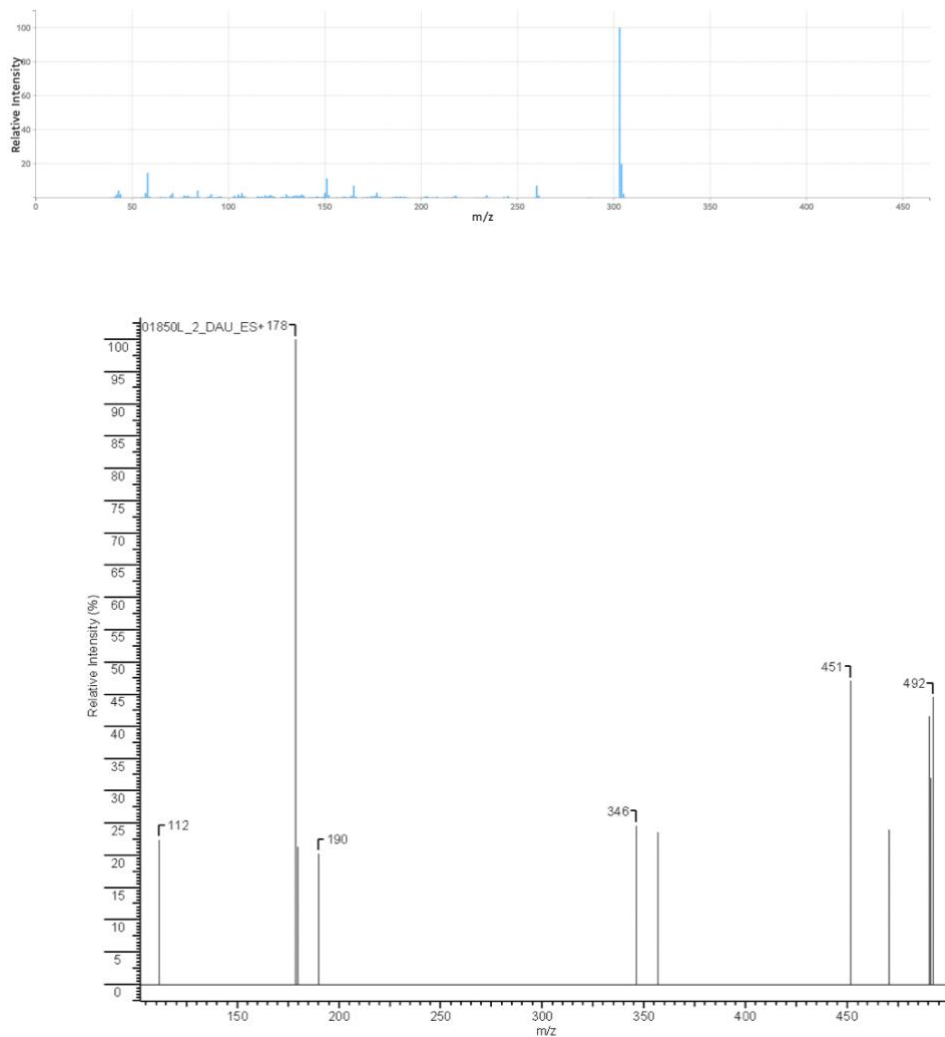


Рис. 3.1. Мас-спектр верапамілу гідрохлорид

Методи дослідження верапамілу з моношарів клітин Сасо-2 не розроблені [47]. Розуміння ролі, яку транспортери, зокрема Р-глікопротеїн (Р-gp), можуть відігравати в поглинанні, розподілі, метаболізмі та виведенні

(ADME) лікарських засобів-кандидатів, а також оцінка того, як ці процеси можуть впливати на токсичність і потенціал взаємодії між ліками в клініці, необхідний для підтримки розробки та реєстрації ліків. Тому необхідно підтвердити доклінічні аналізи для оцінки *in vitro* препаратів-кандидатів як субстратів або інгібіторів P-гр людини [46, 47]. Розроблено простий швидкий метод ВЕРХ MS/MS для визначення верапамілу гідрохлориду з злитих моношарів Сасо-2 і з водного розчину.

Хроматографію проводили на колонці Discovery C18, 50 × 2,1 мм, 5 мкм. Зразки хроматографували в градієнтному режимі (елюент А (ацетонітрил – вода – мурашина кислота, 5 : 95 : 0,1 об./об.), елюент Б (ацетонітрил – мурашина кислота, 100 : 0,1 об./об.)). Початковий вміст елюенту В становить 0%, який лінійно зростає на 1,0 хв до 100% і до 1,01 хв повертається до початкового 0%. Рухому фазу подавали зі швидкістю потоку 0,4 мл/хв у камеру ESI мас-спектрометра. Об'єм зразка становив 5 мкл. За цих умов верапамілу гідрохлорид елюювався через 1,08 хв. Лінійну функцію відповіді було встановлено при 1–100 нг/мл. Рівняння регресії для аналізу було $Y = 0,0162x + 0,00391$ з коефіцієнтом корекції (R^2) = 0,9992. За результатами тесту Сасо-2 верапаміл показав низьку проникність. Слід зазначити, що коефіцієнт вилучення верапамілу гідрохлориду становить 102,69%. Коефіцієнти варіації в межах серії коливалися від 0,336% до 0,617% для верапамілу. Відсоткове співвідношення номінальних концентрацій верапамілу коливалося від 98,82% до 100,62%. Міжсерійні коефіцієнти варіації коливалися від 0,334% до 0,612% для верапамілу. Відсоткове співвідношення номінальних концентрацій верапамілу коливалося між 98,97% і 101,76%. Встановлено, що значення аналізу в обох випадках (внутрішньоденний і міжденний) перебувають у прийнятних межах [48].

За результатами аналізу можна зробити висновок, що розроблений метод є простим і швидким для визначення верапамілу гідрохлориду з конфлюентних моношарів Сасо-2 і з водного розчину. Отримані результати демонструють, що запропоновану стратегію можна легко та вигідно

застосувати для дослідження гідрохлориду верапамілу з моношарів клітин Caco-2 [47, 48].

Спектрофотометричні методи

Широкий пошук у літературі показав багато спектрофотометричних методів для визначення верапамілу гідрохлорид [48, 49]. Серед них, як використовувати спектрофлюорометричну та видиму спектрофотометрію з різними типами оптимізації для дотримання закону пива та обмеження лінійності в межах 0–340 мкг мл⁻¹ [49] (таб. 3.1).

Таблиця 3.1

Порівняльний аналіз спектрофотометричних методик

Реактиви	Лінійність	λ_{\max}
N-бромсукцинімід у хлорній кислоті	10-200	415 нм
Бромкрезоловий зелений в середовищі ацетону	1,9648-4,4208	409 нм
Бромтимоловий синій і рН доводять до 4 за допомогою NaOH і HCl	0,08-0,8	420 нм
0,1M HCl і 0,1M NaOH (диференціальна спектроскопія)	5-25	278 нм
Хлорамін-Т в середовищі HCl	0-340	425 нм

Метою поточних досліджень є розробка простого, швидкого та чутливого диференціального спектрофотометричного методу для визначення верапамілу в таблетованій лікарській формі. У цьому методі використовували два середовища: кислотне і лужне, і розраховували різницю спектрів. У цьому диференціальному методі використовували 0,1 М HCl і 0,1 М NaOH. Показано λ_{\max} 278, обмеження за законом Бірса 5-25 мкг/мл, рівняння регресії $Y = 0,024x - 0,009$, нахил 0,024, перетин 0,09, коефіцієнт кореляції (r^2) 0,998, %RSD <1,5, % відновлення (планшет) 100,46 %. хороша ефективність і результати. Цей метод є простим, точним і економічним для контролю якості верапамілу, а також рекомендований для рутинного аналізу якості лікарських засобів [49].

Верапамілу гідрохлорид визначали спектрофотометрично за допомогою метилового оранжевого. Метод базувався на комплексоутворенні між

верапамілу та метиловим оранжевим. Після струшування та розведення розчину комплексу рН доводили за допомогою NaOH і HCl до рН 4. Забарвлений комплекс переносили в розділові воронки та екстрагували за допомогою 4,5 мл CH_2Cl_2 і струшували протягом 4 хвилин. Екстрагований органічний шар використовували для підготовки калібрувальних кривих для спектрофотометричних вимірювань верапамілу при 437 нм. Заготовки виконувалися в точно так само протягом усієї процедури. Молярна абсорбція (ϵ л.моль⁻¹/см⁻¹), межа виявлення, межа лінійності (мкг/мл⁻¹) і r^2 становили 1,75*10⁵, 0,009253, 0,08 і 0,993 відповідно. Метод застосовувався з достатньою точністю та прецизійністю для визначення верапамілу у таблетках, капсулах та ін'єкційних розчинах [50].

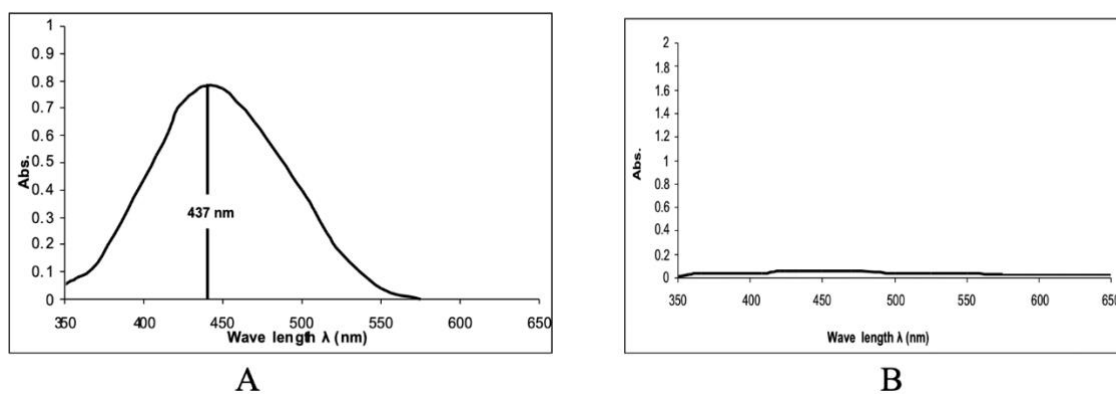


Рис. 3.2. Абсорбційний спектр верапамілу гідрохлорид з метиловим оранжевим

Верапамілу гідрохлорид визначали спектрофотометрично за допомогою бромтимолового синього. Метод, заснований на комплексоутворенні. Після струшування та розведення розчину комплексу, рН доводили за допомогою NaOH і HCl до рН 4. Забарвлений комплекс, що утворився між верапамілом і реагентом, переносили в розділові воронки та екстрагували за допомогою 4,5 мл CCl_4 і струшували протягом 5 хвилин. Екстрагований органічний шар використовували для підготовки калібрувальних кривих для спектрофотометричних вимірювань верапамілу при 420 нм. Заготовки проводили точно так само протягом всієї процедури. Молярна абсорбція (ϵ

л.моль⁻¹/см⁻¹), межа виявлення, межа лінійності (мкг.мл⁻¹) і r² становили 1,74*10⁵, 0,009253, 0,08 і 0,9951 відповідно. Метод використовувався з достатньою точністю та прецизійністю для визначення верапамілу у синтетичних зразках таблеток, капсул та ін'єкційних розчинах [51].

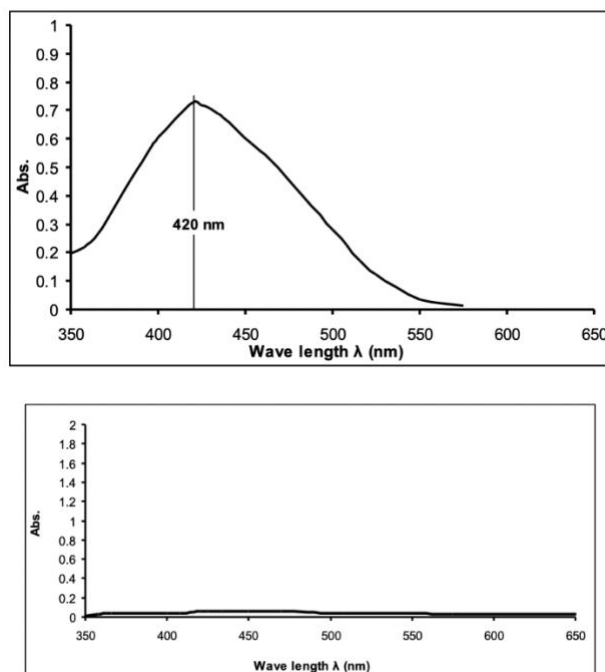


Рис. 3.3. Абсорбційний спектр верапамілу гідрохлорид з бромтимоловим синім

Швидкий, простий і чутливий валідований спектрофотометричний метод був описаний для аналізу верапамілу гідрохлориду у субстанціях та у готових лікарських формах. Спосіб полягає в окисленні верапамілу гідрохлориду N-бромсукцинімідом у середовищі хлорної кислоти при кімнатній температурі, що призводить до утворення продукту жовтого кольору, який максимально поглинає при 415 нм. За оптимізованих експериментальних умов забарвлення стабільне до 45 хв, а закон Бугера-Ламберта-Бера виконується в діапазоні концентрацій 10,0-200,0 мкг/мл з молярним поглинанням і чутливістю Санделла $2,55 \times 10^3$ л моль⁻¹/см⁻¹ і 0,192 мкг/см⁻² на 0,001 одиниці поглинання відповідно. Метод успішно застосований для визначення препарату в готових лікарських формах. Результати аналізів були оптимізовані та підтверджені статистично та за

допомогою досліджень відновлення. Експериментальне справжнє зміщення всіх зразків менше $\pm 2\%$ [52].

У цьому експерименті досліджували інтенсивність електрохімічної та електрохемілюмінесценції (ECL) системи $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ - uswlpm на електроді Au при концентрації додецилсульфату натрію (SDS) 0,3125 мМ. Результати показали, що порівняно з відсутністю SDS інтенсивність ECL була в 3 рази вищою на Au електроді. На цій основі був створений метод ECL для ефективного та простого визначення концентрації верапамілу гідрохлориду. За оптимальних експериментальних умов підвищена інтенсивність ECL мала хорошу лінійну залежність від концентрації верапамілу гідрохлориду в діапазоні $1,0 \times 10^{-4}$ - $1,0 \times 10^{-7}$ М, і рівняння лінійної регресії було отримано таким чином: $I = 40,389 \times 10^6 C + 232,64$ ($r = 0,9958$), а межа виявлення для uswlpm становила $5,20 \times 10^{-10}$ М. RSD, отриманий у п'яти повторних експериментах при концентрації $1,0 \times 10^{-5}$ М, становив 3,1 %. Результати тесту на відновлення були в діапазоні 98,7%-106,5%, а RSD ($n = 5$) становив 3,0% [53].

Хроматографія

Найстарішим методом хроматографії в цьому огляді була газорідинна хроматографія з використанням азотно-фосфорної детекції, яка застосовувалася для визначення верапамілу в плазмі людини [54] і була опублікована в (1984). Пізніше було описано багато хроматографічних методів (табл. 3.2) для визначення цього препарату та його метаболітів [54, 55], в яких намагалися змінити метод для підвищення чутливості, скорочення етапів аналізу або інших удосконалень, з межею лінійності в межах (2 mg L^{-1} – 1000 mg L^{-1}).

Таблиця 3.2

Огляд методів рідинної хроматографії

Досліджувані зразки	Рухома фаза (об./об.)	Колонка	Лінійність (мкг/мл)
Людська плазма	Ацетонітрил : 0,025М КН ₂ РO ₄ буфер (рН 2,5)	C18 Ліхросфера 60	0,01 – 0,5
Таблетки	Метанол : вода : триетиламін (70:30:0,2)	Hypersil ODS	-
Людська плазма	Рухома фаза А : 50 мМ фосфат амонію (рН 4,5) Рухома фаза В : 50 мМ фосфат амонію : ацетонітрил (70:30)	Carcell Pak C18	0,01-2,5
Таблетки, людська сироватка	Ацетонітрил : вода (рН 2,7) (55:45)	RP-CLC ODS	2,5-25
Таблетки	Метанол : вода (рН 7,4) (70:30)	A HIQ sil ODS C-18	10-60
Таблетки	Формат амонію : ортофосфорна кислота : ацетонітрил	Shimpak XR ODS	-
Людська плазма	Ацетат амонію : метанол (20:80)	Purosphere C18	1-496
Людська плазма	0,1% форміат амонію : ацетонітрил (35:65)	Thermo Hypurity C 18	0,0004575- 0,2342
Людська плазма	Рухома фаза А : ацетонітрил : вода : мурашина кислота (5:95:0,1) Рухома фаза В: Ацетонітрил : мурашина кислота (100:0,1)	Discovery C18	0,001-0,1
Людська плазма	5 мМ ацетат амонію : ацетонітрил	LUNA C8	-

Представлена високоефективна рідинна хроматографія з двома детекторами для визначення верапамілу у фармацевтичних лікарських формах. Процедура заснована на використанні обернено-фазової

високоєфективної рідинної хроматографії з УФ- і флуориметричними детекторами. Кожен аналіз потребував не більше 6 хвилин для обох процедур виявлення. Кількісне визначення було досягнуто шляхом вимірювання співвідношення площі піку препарату до внутрішнього стандарту (флуоксетину), а межа виявлення становила 10 нг/мл для УФ-детектора та 750 пг/мл для флуориметричного детектора. Не було суттєвої різниці між міжденними та внутрішньоденними дослідженнями для верапамілу, визначеного для двох різних концентрацій (0,05 та 1,00 мікрограм/мл). Цей процес можна використовувати для визначення концентрації верапамілу в діапазоні 0,025-50 і 0,0008-20 мікрограмів/мл для УФ- та флуориметричного визначення відповідно. Ці методи застосовувалися без будь-якого втручання з боку допоміжних речовин для визначення препарату в таблетках і в дослідженнях розчинення препарату. Передбачається, що запропоновані процедури ВЕРХ можна використовувати для звичайного контролю якості та аналізу лікарської форми верапамілу гідрохлориду [55].

Валідація аналітичного методу, визначення швидкості відновлення з поверхні обладнання та стабільність потенційного забруднення є важливими етапами процесу перевірки очищення. Описано метод ВЕРХ для визначення залишків верапамілу на поверхнях з нержавіючої сталі обладнання, що використовується у виробництві ліків. Домішки валідаційного зразка очищення, а також допоміжні речовини комерційного зразка не вплинули на аналіз, що підтвердило селективність методу. Валідація методу продемонструвала прийнятні рівні лінійності, прецизійності та точності. Ватні тампони, змочені метанолом, використовувалися для видалення будь-яких залишків ліків з поверхонь з нержавіючої сталі, що дало вихід понад 78,59% для трьох різних рівнів концентрації. Точність результатів, представлена, як відносне стандартне відхилення (RSD, %), була нижче 1,58%. Невеликі кількості залишків препарату визначали за допомогою ВЕРХ з використанням колонки Hypersil ODS (125 x 4,0 мм, 5 мкм) при 25°C з рухомою фазою

метанол-вода-триетиламін (70:30:0,2, об./об./об.) зі швидкістю потоку 0,6 мл/хв, об'ємом ін'єкції 50 мкл і детектуванням при 278 нм [56].

Різні аналітичні методи використовувалися на різних етапах розробки препарату для оцінки взаємодії та якості протягом життєвого циклу мінітаблеток верапамілу гідрохлориду. На початковій стадії досліджень розробки використовувалися аналітичні методи попереднього формулювання, такі як інфрачервоне перетворення Фур'є і диференціальна скануюча калориметрія, які використовувалися для оцінки взаємодії між лікарською речовиною та різними неактивними інгредієнтами та фізико-хімічними властивостями лікарської речовини, що забезпечило основу для розробки міцної рецептури. Частина фізико-хімічних властивостей, дані розчинності верапамілу гідрохлориду показали, що рН-залежна розчинність у фізіологічному буферному середовищі від рН 1,2 до 6,8, оскільки рН середовища збільшується, розчинність зменшується через слабку основну природу верапамілу. Щоб покращити розчинність верапамілу, до складу ввели фумарову кислоту. Аналітичні дані показали відсутність хімічної взаємодії з обраними допоміжними речовинами [57].

Розроблено високочутливий спектрофлуориметричний метод для визначення верапамілу гідрохлориду у фармацевтичних препаратах і біологічних рідинах. Запропонований метод базується на дослідженні спектральної поведінки флуоресценції верапамілу гідрохлорид в міцелярних системах, таких як додецилсульфат натрію і бета-циклодекстрин. У водних розчинах боратного буфера з рН 9 і 8,5 верапамілу гідрохлорид добре включався в SDS і бета-CD відповідно з посиленням його нативної флуоресценції. Флуоресценцію вимірювали при 318 нм після збудження при 231 нм. Підвищення інтенсивності флуоресценції становило 183 і 107% у SDS і в бета-CD відповідно. Графіки концентрації флуоресценції були прямолінійними в діапазоні 0,02-0,2 і 0,02-0,25 мкг/мл, з нижніми межами виявлення $5,58 \times 10^{-3}$ і $3,62 \times 10^{-3}$ мкг/мл у SDS і бета-CD, відповідно. Цей метод було успішно застосовано для аналізу комерційних таблеток, і

результати добре узгоджувалися з результатами, отриманими за допомогою офіційного методу. Далі цей метод було застосовано для визначення VP HCl у реальній плазмі та плазмі людини з додаванням. Середній % відновлення у випадку доданої плазми людини (n=4) становив 92,59 +/- 3,11 і 88,35 +/- 2,55 з використанням SDS і бета-CD відповідно, тоді як у реальній плазмі людини (n=3) становив 90,17 +/- 6,93 і 89,17 +/- 6,50 з використанням SDS і бета-CD відповідно. Застосування методу поширено на дослідження стабільності VP HCl після дії ультрафіолетового випромінювання та при окисленні пероксидом водню [58].

У цій роботі його визначали у зразках сироватки та сечі за допомогою чутливої та точної хроматографічної процедури без будь-якої попередньої обробки в колонці C18 з використанням міцелярної рухомої фази 0,15 М додецилсульфату натрію та 5% пентанолу при рН 7. Флуоресцентне виявлення було використано значення 230 нм (збудження) і 312 нм (випромінювання). Верапаміл елююється через 12,5 хв без впливу білкової смуги або ендогенних сполук. Лінійність ($r > 0,998$), а також внутрішньоденна та міжденна точність вивчалися під час валідації методу. LOD також були розраховані як 11,0, 18,5 і 20,2 нг/мл у міцелярному розчині, сироватці та сечі відповідно. Відновлення в біологічних матрицях було в діапазоні 97-99%. Екскрецію препарату із сечею вивчали у добровольця, який отримував лікування гіпертензії, і верапаміл, як незмінений препарат, відокремлювали від інших метаболітів. Розроблена процедура може бути корисною в галузі токсикології та клінічного аналізу [59].

3.2 Огляд аналітичного визначення дилтіазему

Огляд літератури показав, що ряд методів аналізу використовувався для аналізу дилтіазему в лікарських засобах, фармацевтичних препаратах і сироватці з використанням різних методів, включаючи рідинну

хроматографію – мас-спектрометрію [53], газову хроматографію [54], електронну хроматографію, газовадсорбційну хроматографію [55].

У багатьох дослідницьких роботах описано спектрофотометричні методи виявлення дилтіазему в субстанції та різних фармацевтичних композиціях. Нещодавно Ayad та ін. автори розробили метод кінетичної спектрофотометрії та спектрофлуориметрії з використанням 4-хлор-7-нітробензол-2-окса-1,3-діазол (NBD-Cl). Заявлений метод має багато переваг порівняно з іншими методами з точки зору чутливості та вибіркості за рахунок високої точності [56]. У роботі автор Носну повідомив про метод аналізу дилтіазему у складі лікарського засобу з утворення комплексу іонної пари за допомогою хромотропа 2R і реактивів Rose Bengal [57]. Інше спектрофотометричне визначення дилтіазему шляхом реакції утворення потрійного комплексу з тіоціанатом кобальту у кислому середовищі рН 3-5. Після екстракції вимірювали оптичну густину комплексу за довжині хвилі 627 нм [58]. Pietras та ін. автори [59] порівняли класичний та похідний спектрофотометричний метод для кількісного визначення дилтіазему в субстанції та у лікарській формі. Аналіз проводили методом першого та другого порядку із застосуванням методів «пік-нуль» і «пік-пік».

Сабіно та ін. автори [60] представили дуже чутливе визначення дилтіазему шляхом відновлення Cu(II) у буфері рН 7 і міцелярному середовищі, повному 4,4-дикарбокси-2,2 біхінолінової кислоти. Cu(I), що утворюється в результаті відновлення Cu(II), реагує з кислотно-утвореними комплексами 4,4-дикарбокси-2,2 біхіноліну, які кількісно вимірювали за довжині хвилі 558 нм. Подібним чином, хлорпохідне лікарського засобу дилтіазему було утворено шляхом реакції за участю третинної аміногрупи дилтіазему та гіпохлориту натрію. Потім новоутворена похідна реагувала з крохмалем і йодидом калію в розчині бікарбонату натрію, отримуючи синій колір комплексу, який кількісно вимірювали за довжини хвилі 540 нм.

Лейтаоа та Естевес да Сілва розробили спектрофотометричний метод, заснований на кінетичному дослідженні шляхом факторного аналізу.

Препарат реагував у дві стадії з гідроксиламіном і сіллю заліза; в результаті утворилася відповідно гідроксамова кислота та гідроксамат заліза. Дилтіазем кількісно досліджували в капсульній і таблетованій лікарських формах за допомогою реакції з метаванадатом натрію в кислому середовищі (використовували сірчану кислоту) і вимірювали спектрофотометрично за довжини хвилі 750 нм [60]. Ayad та ін. автори [61] описують аналітичний метод за допомогою реакції окислення дилтіазему залізом (III) у кислому середовищі, у той час як залізо (III) перетворюється на залізо (II), яке реагує з 1,10-фенантроліном або 2,2-біпіридил у напрямку стабільних комплексів, за довжин хвиль при 510 і 520 нм відповідно. Таким же чином, інша окислювально-відновна реакція дилтіазему була встановлена Ель-Дідамонією з N-бромсукцинімідом, залишок якого потім вимірювали за зниженням поглинання барвника амаранту або сульфату амонію церію [62].

Простий і відтворюваний метод, заснований на утворенні гідроксамової кислоти, яка реагує із залізом (III), утворюючи комплекс з максимальним поглинанням при 525 нм, кольоровий комплекс препарату з тіоціанатом кобальту та метиловим оранжевим, показав лінійність в діапазоні 60-600 та 5-60 мкг мл⁻¹ з максимумами поглинання при 630 та 420 нм відповідно [55]. Непряме визначення дилтіазему в субстанції та у лікарських засобах представив Kamath і Shivram [56]. Kamath також розробив селективний метод із застосуванням методу гідроксамату заліза та виявлення при 500 нм у діапазоні 50-800 мкг/мл⁻¹ [57]. Спектрофотометричний метод у фармацевтиці базувався на реакції гідролізованого дилтіазему з реактивом Фоліна-Чокальтеу та вимірюванні забарвленої сполуки за довжини хвилі при 750 нм [63]. У готових лікарських формах дилтіазем також визначали екстракційними спектрофотометричними методами з використанням бромтимолового синього, бромфенолового синього та бромкрезолового зеленого [63]. Абу-Шаді та ін. автори [65] встановили два точні та селективні методи, які включають реакцію 2,3-дихлор-5,6-діціанохінону з дипіридамом, целіпрололом і дилтіаземом для утворення сильно забарвлених аніон-

радикалів. У другому методі гідроксамат Fe (III) реагує з дилтіаземом з утворенням червоних комплексів. Дослідження розчинення *in vitro* проводили протягом 240 хвилин і вимірювали спектрофотометрично при 240 нм. Також визначено параметри середнього часу розчинення та часу для 70% розчинення (T_{70}).

Кілька методів ультрафіолетового спектрофотометричного аналізу використовували для визначення рівнів дилтіазему у фармацевтичних препаратах (табл. 3.3).

Таблиця 3.3

Аналіз дилтіазему за допомогою ультрафіолетової спектрофотометрії

№	Досліджуваний зразок	Розчинник	Діапазон	Концентрація
1	Субстанція, таблетка	Вода очищена	226-246 нм (λ_{\max} 236 нм)	6-16 $\mu\text{g/ml}$
2	Субстанція, таблетка	0,1 М HCl	238 нм	2-25 $\mu\text{g/ml}$
3	Субстанція, таблетка	0,1 М HCl	237 нм	5-15 $\mu\text{g/mL}$

Стаття описує розробку та валідацію УФ-спектрофотометричних методів для оцінки дилтіазему гідрохлориду в таблетованих композиціях за допомогою методу площі під кривою. Стандартні розчини та проби дилтіазему гідрохлориду готують у дистильованій воді. Вимірюється площа під кривою від 226 до 246 нм. Цей метод відповідає лінійності в діапазоні 6-16 мкг/мл із значенням коефіцієнта кореляції 0,999. Цей метод підтверджено для різних параметрів відповідно до вказівок ICH Q2 (R₁). Відносні відсотки внутрішньоденної та міжденної точності вказують на те, що метод підходить. Було встановлено, що відсоток відновлення дослідження склав 105,69%. Межа виявлення та межа кількісного визначення становили 0,3197 мкг/мл та 0,9689 мкг/мл відповідно [66].

Розроблено новий швидкий, чутливий, економічний і простий спектрофотометричний метод визначення дилтіазему гідрохлориду у

таблетках і чистих лікарських формах. У цьому методі розроблено простіші прямі спектрофотометричні вимірювання в ультрафіолетовій області для визначення дилтіазему гідрохлориду без будь-яких хімічних реагентів. Розчин дилтіазему гідрохлориду в 0,1 М НСІ демонструє максимальне поглинання при 238 нм. Після оптимізації система відповідає закону Бугера-Ламберта-Бера в діапазоні концентрацій 2-25 мкг/мл. Молярне поглинання – 1837×10^4 л.моль⁻¹/см⁻¹. У цьому методі також розраховуються чутливість Санделла, нахил, інтерсепт, коефіцієнт кореляції, відносне стандартне відхилення (RSD), межа виявлення та квантування ($n = 5$). Звичайні допоміжні речовини, присутні у фармацевтичних композиціях, не впливають [67].

Дослідження описувало розробку спектрофотометричних методів і валідацію дилтіазему гідрохлориду та його складів з більшою точністю та точністю. Спектрофотометричні вимірювання проводили з використанням подвійного променя JASCO (модель V-530) УФ-видимого спектрофотометра з парою кварцових кювет, які відповідають 1 мм і 0,1 М НСІ як гідрохлоридний буфер. Максимальна довжина хвилі 237 нм. Лінійність спостерігалася в діапазоні концентрацій 5-15 мкг/мл. Відсоток вилучення дилтіазему гідрохлориду знаходиться в межах 98,9-101,7 %. Встановлено, що точність не перевищує 2,0% RSD (відносне стандартне відхилення). Запропонований метод був валідований відповідно до рекомендацій Міжнародної конференції з гармонізації (ICH). Дослідження перевірки показують, що цей метод є простим, точним, точним, конкретним, швидким, надійним і відтворюваним [67].

Для кількісного аналізу рівнів дилтіазему було використано кілька методів видимої спектрофотометрії (табл. 3.4).

Таблиця 3.4

Аналіз дилтіазему з використанням видимої спектрофотометрії

№	Досліджуваний зразок	Розчинник	Діапазон	Концентрація
1	Таблетка, капсула	Cu (II) у буферному розчині рН 7 і 4,4'-дикарбокси-2,2'-біхінолінову кислоту	558	20-100 µg/mL
2	Таблетки, капсули, субстанція	4-хлор-7-нітробензофуразан	481	16-96 мкг/мл
3	Субстанція, таблетки, біологічні рідини	бромкрезоловий фіолетовий	399	2,26-27,06 µg/mL
4	таблетки, біологічні рідини	хлорфеноловий червоний	402	2,26-48,48
5	Субстанція, таблетка	феноловий червоний	390	11,28-112,75
6	Субстанція, таблетка	Сульфохлорфенол-С	600	200-700
7	Субстанція, таблетка	Бромпірогалол червоний	440	200-700
8	Субстанція, таблетка	Еріохромціанін-Р	462	50-150
9	Субстанція, таблетка	Пірокатехол фіолетовий	442	200-500
10	Субстанція, таблетка	Паладій(II) хлорид	400	1,01 x10 – 2,77 x10 ²

Розроблено простий метод визначення кількості дилтіазему, заснований на відновленні міді (II) у буферному розчині (рН 7,0) і використанні міцеллярного середовища, що містить 4,4-дикарбонову-2,2-біхінолінову кислоту. Утворена мідь (I) реагує з 4,4'-дикарбоною-2,2'біхіноліною кислотою, і утворений комплекс вимірюють спектрофотометрично при 558 нм. Типовий калібрувальний графік демонструє хорошу лінійність ($r = 0,993$) від 20 до 100 мг/мл дилтіазему. Межа виявлення та відносне стандартне відхилення були розраховані як 12 мг/мл (рівень достовірності 99 %) та 3,5 %

(40 мг/мл; n=6), відповідно, із середнім значенням відновлення 96,5 %, знайденим у фармацевтичних дозах [66].

Розроблено простий, чутливий, точний і недорогий спектрофотометричний метод визначення рівня дилтіазему гідрохлорид з використанням 4-хлор-7-нітробензофуразану, як для субстанцій, так і готових лікарських форм. У цьому дослідженні цей препарат реагує з реактивом у присутності боратного буфера рН = 7,6 протягом фіксованого часу 30 хвилин на водяній бані з термостатом при 75-80°C. Поглинання вимірювали за допомогою спектрофотометричного методу при 481 нм. Лінійні калібрувальні криві знаходяться в діапазоні 16-96 мкг/мл при використанні спектрофотометричного методу. Також обчислюється межа квантування та межа виявлення. Цей метод може бути застосований для широкомасштабного визначення в лабораторіях контролю якості [65].

Розроблено два швидкі, прості, точні та чутливі методи екстракційної спектрофотометрії (А і В) для визначення вмісту дилтіазему гідрохлориду в субстанціях, таблетованих лікарських формах і біологічних рідин. Обидва методи (А і В) передбачають утворення інтенсивного жовтого комплексу асоціації іонів між препаратом і одним із фіолетових бромкрезолових реагентів (ВСР) або червоного хлорфенолу (СРР) з подальшою екстракцією метиленхлоридом. Іонна асоціація показала максимальне поглинання при 399 і 402 нм з ВСР і СРР. Калібрувальна крива, отримана в результаті вимірювання співвідношення абсорбція-концентрація (за оптимальних умов реакції) комплексу екстрагованої іонної асоціації, є лінійною в діапазоні концентрацій 2,26-27,06 і 2,26-48,48 мкг/мл відповідно з ВСР і СРР. Розраховували молярну абсорбцію та чутливість Санделла до продукту реакції. У методах А і В також розраховуються нахил, відрізок, коефіцієнт кореляції, відносне стандартне відхилення (RSD), межа виявлення та квантування (n = 5). Отримані результати порівнюють з еталонним методом за допомогою t-критерію та F-тесту [64].

Розроблено два нових, швидких, чутливих, економних і простих спектрофотометричних методів В і С для визначення мікродилтіазему гідрохлориду у таблетках. Методи В і С передбачають утворення комплексу інтенсивних асоціацій жовтих іонів між цим препаратом і одним із реагентів фенолового червоного (PR) або хлорфенолового червоного (CPR) з подальшою екстракцією метиленхлоридом. Іон-асоціати демонструють максимальне поглинання при 390 і 402 нм для PR і CPR відповідно. Після оптимізації система підкоряється закону Бера в діапазоні концентрацій 11,28-112,75 і 2,26-48,48 мкг/мл з PR і CPR відповідно. Виявлені молярні поглинання становили 4086×10^3 і 9919×10^3 л моль⁻¹ см⁻¹ з PR і CPR відповідно. У цьому методі також розраховуються чутливість Санделла, нахил, інтерсепт, коефіцієнт кореляції, відносне стандартне відхилення (RSD), межа виявлення та квантування ($n = 5$) [66].

Чотири прості, чутливі та точні спектрофотометричні методи були розроблені для визначення блокаторів кальцієвих каналів: дилтіазем гідрохлорид у фармацевтичних композиціях. Ці методи засновані на утворенні комплексних іонних пар із сульфохлорфенолом-S (SCPS), бромпірогалоловим червоним (BPR), ериохромціаніном-R (ECC) і пірокатехоловим фіолетовим (PCV) у кислому середовищі. Забарвлений продукт екстрагували хлороформом і вимірювали спектрофотометрично при 462, 600, 440 і 442 нм для ECC, SCPS, BPR і PCV відповідно. Виходячи з низьких правил для пива, діапазони концентрацій дилтіазему становлять 50-150, 200-700, 200-700 та 200-500 мкг/мл для ECC, SCPS, BPR та PCV відповідно з молярною здатністю поглинання для ECC, SCPS, BPR та PCV відповідно становлять $2,1 \times 10^4$, $5,6 \times 10^3$, $4,8 \times 10^3$, $19,5 \times 10^3$, $6,6 \times 10^3$ л/моль/см, а відносне стандартне відхилення становить 0,86 %, 0,96 %, 0,95 % і 0,65 % для ECC, SCPS, BPR та PCV відповідно. Ці методи були успішно застосовані для тестування цих ліків у готових лікарських формах [61].

Розроблено аналітичні методи для кількісного визначення дилтіазему через комплексоутворення з Pd (II) методом спектрофотометрії. Дилтіазем

утворює стабільний помаранчевий комплекс 1 : 2 з хлоридом паладію (II) з λ_{\max} 400 нм, комплексний молярний коефіцієнт поглинання $\epsilon = 8,5 \times 10^2$ л/моль/см, допустимий діапазон від 3413×10^1 мкг/мл до 2722×10^2 мкг/мл з перехопленням регресії 0,019 і коефіцієнтом кореляції 0,989. Було також вивчено руйнування іонів сторонніх металів і вплив температури та рН. Комплексна характеристика включає аналіз елементів, FTIR, ¹H ЯМР, ESR, спектр Рамана, вимірювання магнітної сприйнятливості та термічні дослідження. На основі вищевказаних досліджень були запропоновані складні структури. Розроблений аналітичний метод був застосований до зразків крові *in vivo* цільної крові та зразків сироватки. Для повних зразків крові допустимий діапазон Beer становить від $1,01 \times 10^2$ мкг/мл до $2,77 \times 10^2$ мкг/мл з коефіцієнтом дисперсії $\pm 1,49$ і відносним стандартним відхиленням 0,64 %, а для зразків сироватки допустимий діапазон становить від $1,79 \times 10^2$ до $2,47 \times 10^2$ мкг /мл з коефіцієнтом дисперсії $\pm 1,03$ і відносним стандартним відхиленням 0,79 % [62].

Спектрофлуориметричний аналіз

Розроблено простий, чутливий, точний і недорогий спектрофлуориметричний метод визначення дилтіазему гідрохлорид з використанням 4-хлор-7-нітробензофуразану із кінетичними дослідженнями як у субстанції, так і у лікарських засобах. На підставі цього дослідження препарат реагував з реактивом при рН 7,6 за допомогою боратного буфера протягом 30 хвилин на термостатованій водянній бані при 75-80°C. Поглинання вимірювалось після розведення на певних довжинах хвиль збудження та випромінювання. Лінійні калібрувальні криві в діапазоні 1,6-8,8 мкг/мл. Також обчислюється межа квантування та межа виявлення. Цей метод був успішно застосований до готових лікарських засобів і може бути застосований для широкомасштабного визначення в лабораторіях контролю якості [63].

Аналіз високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ)

У серії «Аналітичний профіль лікарських речовин» опубліковано монографії для дилтіазему [51]. Європейська фармакопея [54] рекомендує аналіз ВЕРХ на дилтіазем у лікарських формах. Метод індикатора стабільності для визначення дилтіазему гідрохлориду у багатокомпонентних лікарських засобів препаратів методом ВЕРХ рекомендовано в USP 29 [55]. Хроматографічні умови офіційних методів представлені в таблиці 1.

В даний час високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ) є найбільш широко використовуваною технікою для аналізу готових лікарських засобів [55]. Дериватизація препаратів перед аналізом зазвичай не потрібна. Підготовка зразка надзвичайно проста, а помилки, пов'язані з нею, зазвичай зведені до мінімуму за допомогою ВЕРХ [55]. Повідомлялося про декілька досліджень із застосуванням ВЕРХ для визначення дилтіазему (таблиця 2) у субстанціях та у готових лікарських формах. Індійські автори, Сумар та ін., [56] задокументували аналітичний метод відповідно до рекомендацій ІСН для субстанції та таблетованої лікарської форми на колонці Zorbax-SB Phenyl за допомогою УФ-детектора. Лінійність проводили в діапазоні 50-150 мкг/мл⁻¹, тоді як кореляція коефіцієнта була встановлена на рівні 0,9987.

Проведено кілька досліджень [57] щодо розробки методів ВЕРХ для визначення лікарських речовин у біологічних рідинах. Лі та ін. автори [58] представили метод ВЕРХ і застосували його у фармакокінетичних дослідженнях. Препарат екстрагували сумішшю гексану, хлороформу та ізопропанолу (60 : 40 : 5 об./об./об.) і розділяли в ізократичному режимі. Метод був лінійним у клінічному діапазоні 0-300 нг мл⁻¹ з 3 нг мл⁻¹ LOD. Встановлено, що витяг дилтіазему при екстракції становить 91,4–104,0%.

Кілька авторів проводили визначення дилтіазему в біологічних зразках після рідинно-рідинної екстракції за допомогою етилацетату [60], метил-трет-бутилового ефіру [61], суміші н-гексан-метилетанол-дихлорметан-моніак [62], а також гексан і ізопропанол [65].

Багато методів високоефективної рідинної хроматографії, які використовувалися для кількісного аналізу рівнів дилтіазему, підсумовані нижче (табл. 3.5).

Таблиця 3.5

Аналіз дилтіазему за допомогою ВЕРХ

№	Досліджувані зразки	Колонка	Рухома фаза	Детектор, нм	Хроматографічні умови
	Субстанція, таблетка	50 × 4,6 мм; 1,8 μm; Zorbax SB-Phenyl	ацетонітрил-вода (60 : 40) + 1 мл трифтороцтової кислоти	238	
	Субстанція, таблетка	Hypersil, ODS, C-18 (150 × 4,6 мм)	метанол : вода 80 : 20 об./об., рН 3,1	236	
	Субстанція, таблетка	3,9 мм x 30 см	Буфер (1,16 г d-10-камферсульфонової кислоти Р в 1000 мл 0,1 М ацетату натрію): ацетонітрил Р: метанол Р (50:25:25 об./об./об., рН 2,6)	240	Швидкість потоку: 1,6 мл/хв
	Субстанція, таблетки, людська сироватка	Hiber, колонка 250-4,6 RP-18	ацетонітрил-вода (85 : 15 об./об., рН 2,6 ± 0,02)	230	Швидкість потоку: 1,0 мл/хв.
	Таблетована лікарська форма, людська сироватка	Колонка C18	метанол-вода (80 : 20 об./об., рН 3,1 ± 0,02)		Швидкість потоку: починати з 0,5 мл/хв, потім збільшити до 1 мл/хв.
	Субстанція, таблетки, людська сироватка	Hiber, колонка 250-4,6 RP- 18	ацетонітрил-метанол-вода (30:20:50, об./об., рН 2,59 ± 0,02)	230	Швидкість потоку: 1,0 мл/хв.
	Таблетка	Hypersil BDS C18 (150 мм x 4,6 мм, 5,0 мкм)	0,2% триетиламін у поєднанні з ацетонітрилом	240	Швидкість потоку: 1,0 мл/хв

Таблетка	Інерціл ODS-3, 5 мкм (4,6 x 250 мм) колонка	Буфер – ацетонітрил – метанол (500:250:250 об./об., рН 6,2 ± 0,05)	240	Швидкість потoku: 1,6 мл/хв
Людська плазма	Zorbax SB- C18 (4,6 мм x 250 мм, 5 мкм)	0,2 М дигідрофосфат амонію : ацетонітрил : ізопропіловий спирт : триетиламін (55:43:1,7:0,3, об/об, рН 4,5)	240	Швидкість потoku: 0,7 мл/хв
Субстанція, таблетка, людська сироватка	Pruospher Star RP-18 з торцевою кришкою (250 мм x 4,6 мм внутр.)	Ацетонітрил: метанол: вода (5:45:50 об./об., рН 2,5)	230	Швидкість потoku: 1 мл/хв Температура: кімнатна 25°C
Таблетка	RP C-18	0,01 М ацетат амонію у воді : метанол : ацетонітрил (700 : 240 : 60 об./об.)	295	Швидкість потoku: 1 мл/хв
Таблетка, людська сироватка	C-18 (250×4,6 мм)	ацетонітрил : метанол : вода : (10:55:35 об/об, рН 2,65 ± 0,02)	240	Швидкість потoku: 1 мл/хв
Субстанція	Колонка Kromasil C18 (300мм x 4мм)	метанол: вода (90:10: об./об.)	237	Швидкість потoku: 1 мл/хв
Людська сироватка, готова лікарська форма	Пуросферна зірка, C18 (5 мкм, 25 x 0,46 см)	метанол : вода (80:20 об./об., рН 3,4)	220	Швидкість потoku: 1,0 мл/хв.
Діюча речовина в зразках стічних вод	Agilent, Zorbax, SB-C8 (100 мм × 2,1 мм × 3,5 мкм)	рухома фаза А (0,10% мурашиної кислоти + 5,0 мМ форміату амонію в надчистій воді) і рухома фаза В	Квадрупольн ий MS- детектор типу 6410А	Швидкість потoku: 0,5 мл/хв

			(0,10% мурашиної кислоти + 5,0 мМ форміату амонію в метанолі)		
	Субстанція, таблетки, сироватка крові людини	Нуклеозил С18 (10 мкм, 25 × 0,46 см)	метанол : вода: ацетонітрил (55:35:10 об./об.; рН 2,65)	238	Швидкість потоку: 1,0 мл/хв.

Електрохімічний аналіз

Для кількісного аналізу рівнів дилтіазему було використано декілька електрохімічних методів.

Розроблено нове застосування вісмуткових плівкових електродів для визначення антигіпертензивних і коронарних вазодилататорів за допомогою прямокутної катодної вольтамперометрії. Плівку вісмуту наносили зовні на скловугільний електрод протягом 90 секунд при -1,4 В проти Ag/AgCl з ацетатного буфера (рН 4,5; 0,10 моль/л), що містить 5 або 30 мг/л Ві. Аналітичний сигнал дилтіазему отримують у фосфатному буфері (рН 7,4; 0,25 моль/л), де відновлення відбувається при -1,5 В порівняно з Ag/AgCl. Запропонована методологія застосована для кількісного визначення дилтіазему у готових лікарських формах (динамічний лінійний діапазон становить 90 і 900 мкг/л) і в сечі людини (динамічний лінійний діапазон становить 45 і 270 мкг/л, а межа виявлення становить 12 мкг /л) [60].

Хімічно модифікований електрод виготовлено на основі вугільних електродів, модифікованих оксидом графену ($\text{nanoFe}_3\text{O}_4/\text{GO-GC}$). Спочатку електроди оцінювали як електрохімічні сенсори для одночасного визначення дилтіазему та тимололу у водних розчинах. Вимірювання проводили методом диференціальної імпульсної вольтамперометрії у фосфатному буферному розчині з рН 6. Результати показали, що $\text{nanoFe}_3\text{O}_4/\text{GO}$ збільшив швидкість окислення за рахунок збільшення пікових струмів. $\text{nanoFe}_3\text{O}_4$, завантажений в GO, може збільшити анодний піковий струм від дилтіазему та тимололу на поверхні електрода. Електростатичні взаємодії між катіоном дилтіазему та тимололом і висока електронна щільність гідроксильної групи $\text{nanoFe}_3\text{O}_4/\text{GO}$

спричинять збільшення концентрації дилтіазему навколо поверхні модифікованого електрода, а піковий струм значно зростає. Підготовлені електроди продемонстрували вольтамперометричну реакцію з хорошою селективністю щодо дилтіазему та тимололу в оптимальних умовах, що зробило їх дуже придатними для одночасного визначення цього препарату. Практична аналітична корисність модифікованого електрода проілюстрована одночасним визначенням дилтіазему в зразках сироватки з шипами [61].

У дослідженні описана електрохімічна активність наночастинок золота, покритих додекантіолом (AuNP), отриманих модифікованим двофазним методом. Варіації стехіометричного співвідношення між (AuCl₄⁻) і додекантіолом створили наноструктури різних розмірів і різної електрохімічної активності. Використовуючи молярне співвідношення Au: додекантіол (Au: Thiol) 1: 1, 2: 1 і 4: 1, були отримані наночастинки золота із середнім діаметром $2,3 \pm 0,7$; $3,1 \pm 0,5$ та $4,3 \pm 0,7$ нм. Був проведений циклічний вольтамперометричний експеримент (CV) з використанням скляних вуглецевих електродів, модифікованих наночастинками золота, і проаналізовано вплив кількості AuNP, рН, ходу сканування та стабільності струму на відгук вольтамперометрії. Система, яка показала найкращу електроактивність для утворення оксиду, оцінюється як датчик для визначення дилтіазему. Відповідь вольтамперометрії спостерігалася в присутності дилтіазему, яка була пов'язана з електрохімічно-хімічним механізмом між аналітом і поверхнею електрода. Катодні пікові струми, отримані за допомогою лінійної розгортки вольтамперометрії (LSV), лінійно зменшуються зі збільшенням концентрації дилтіазему, отримуючи лінійні профілі для розчинів дилтіазему в діапазоні від 4,0 до 13,5 нмоль/л з межами виявлення та межами кількісного визначення 0,5 та 1,7 нмоль/л відповідно [58].

Досліджено метод анодної стріппінг-вольтамперометрії для визначення наномолярного дилтіазему з хімічно модифікованими електродами з вугільної пасти (CMCPE), що містять нанопорошки Co₃O₄/SnO₂. Накопичення

потенціалу та час вибрано $-0,2$ В та 190 с відповідно. Електроаналітичну продуктивність СМСРЕ оцінювали щодо складу вугільної пасти, рН розчину, часу та потенціалу накопичення та потенціалу перешкод. Нові електроди показали лінійну реакцію на діапазон концентрацій дилтіазему 50-650 нМ з найнижчим значенням межі виявлення 15 нМ. Точність для шести визначень 350 і 550 нМ дилтіазему становила 3,2 і 2,5 % відповідно. Це показує, що запропонований метод вільний від більшості перешкод. Нарешті, цей метод ефективно застосовується для визначення дилтіазему у фармацевтичних таблетках і біологічних зразках [59].

У цій статті дилтіазем гідрохлорид визначається електрохімічним шляхом на катодно легованому алмазному електроді. Стійкий метод показує потенційні застосування з використанням двох допоміжних електролітів, оцінюючи два різні піки окислення препарату. Для визначення вольтамперометрії дилтіазему оптимізуються всі робочі параметри вольтамперометрії прямокутної форми та будується аналітична крива. Внутрішній метод вольтамперометрії перевірено з точки зору лінійності, меж виявлення, меж кількісного визначення, точності, точності та вибіркової. Фармацевтичні зразки аналізували офіційними методами, і результати були статистично подібними до отриманих методом вольтамперометрії. Для визначення дилтіазему у біологічних рідинах із чудовими показниками вилучення також застосовується справді вольтамперометрія [50].

Електрофорезний аналіз

Для кількісного аналізу дилтіазему використано метод електрофорезу. Просте, чутливе та селективне визначення дилтіазему гідрохлориду пояснюється за допомогою електрохемілюмінесцентного капілярного електрофорезу (ЕКЕ). За оптимізованих умов лінійний діапазон дилтіазему гідрохлориду становить від 0,02 до 100 моль/л ($r^2=0,9983$), з межею виявлення 5,1 нмоль/л. Відносне стандартне відхилення від інтенсивності ЕКЕ і часу міграції становить < 2 % для 0,1 моль/л і 22 моль/л дилтіазему гідрохлориду ($n=11$). Час, необхідний для ультразвукового мікродіалізу, в 10 разів менше,

ніж для традиційного діалізу. У порівнянні з традиційним діалізом, ультразвуковий мікродіаліз є простим, швидким і повинен застосовуватися до різних лікарських і біомакромолекулярних взаємодій [65].

Для кількісного визначення рівнів дилтіазему використовувався метод аналізу потоку. Мікроекстракція рідина-рідина без фазової сегментації реалізована в багатокомутованій системі потоку для визначення антигіпертензивного дилтіазему. Ця процедура заснована на утворенні іонних пар між препаратом і барвником бромтимоловим синім при рН 3,5. Детектування здійснюється без поділу фаз у скляній трубці, поєднаній із волоконно-оптичним спектрофотометром. Загальний об'єм хлороформу було зменшено до 50 мкл порівняно з 10 мл, споживаними партіями. Лінійні відповіді спостерігалися між 9 і 120 мкмоль/л, з межею виявлення 0,9 мкмоль/л (рівень довіри 99,7 %). Коефіцієнт варіації ($n = 10$), частота відбору проб та ефективність екстракції оцінюються як 0,6 %, 78 визначень на годину та 61 % відповідно. Витрачається близько 30 мкг бромтимолового синього, а об'єм відходів становить 380 мкл на відлік. Результати для фармацевтичних зразків були затверджені з приростом 98 % на рівні достовірності референтної процедури [66].

Загалом, різні аналітичні методи використовувалися для оцінки рівнів дилтіазему з 2010 по 2020 рік. Спектрофотометрія, спектрофлуориметрія, вольтамперометрія, електрофорез і методи аналізу потоку є простішими та легшими у застосуванні, але аналіз ВЕРХ часто використовується в дослідженнях, оскільки він може виявити зразки з концентрацією до рівня нанограмів і дуже підходить для біологічних зразків [67].

Висновки до розділу 3

Фізико-хімічні методи все ширше впроваджуються в фундаментальні фармацевтичні дослідження і в практику фармацевтичного аналізу. Вони використовуються для ідентифікації та кількісного визначення різних груп лікарських речовин, їх стандартних зразків, а також діючих речовин у лікарських препаратах різного технологічного виготовлення. Найбільш доступні для використання у фармацевтичному аналізі є спектрофотометрія в ІЧ-, УФ- та видимій області спектра, які включені до Європейської, Американської фармакопей, Державної фармакопеї України, Міжнародної фармакопеї і національних фармакопей багатьох країн та ін.

ВИСНОВКИ

1. Вивчено та узагальнено дані літератури за фармакологічною активністю блокаторів кальцієвих каналів.

2. За даними літератури в аналізі блокаторів кальцієвих каналів широко використовуються хімічні, фізико-хімічні методи, причому аналітична документація розвинених країн світу віддає перевагу інструментальним методам аналізу.

3. Проведений огляд літератури свідчить, що найбільш популярні хроматографічні методи, вони складають більше 60 % від усіх методик визначення, у всіх різноманітних проявах (газова, рідинна, тонкошарова, ВЕРХ). Методи досить чутливі, точні і селективні, але великі витрати на матеріали знижує їх доступність. Не менш популярні оптичні методи (35 % від загальної кількості методик), а саме колориметрія, фотометрія, спектрофотометрія, флуориметрія. Як правило, вони засновані на вже раніше відомих реакціях. Методики чутливі, досить точні, дають можливість економно витратити реактиви та досліджувані речовини. Однак, як і оптичні методи в цілому недостатньо селективні. Електрохімічні методи менш популярні 5 % від загальної кількості методик. З нашої точки зору варто вивчати і розвивати дуже перспективні, чутливі, специфічні, швидкі методи аналізу.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. FDA Approved Drug Products: Verapamil HCl ER tablets
https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2019/020591s0301bl.pdf
2. Diabetes, hypertension, and cardiovascular disease: an update / J. R. Sowers, M. Epstein, E. D. Frohlich // Hypertension. – 2001. – 37(4). – P. 1053-1059.
3. Discovery and Development of Calcium Channel Blockers / T. Tansey, C. Siu-Lung, S. Holger, A. Pupo // Front Pharmacol. – 2017. – 8(286). – P. 1-25.
4. Clinical pharmacokinetics of verapamil, nifedipine and diltiazem / H. Echizen, M. Eichelbaum // Clin Pharmacokinet. – 1986. – 11 (6). – P. 425-49.
5. The cardiovascular pharmacology of lidoflazine, a long-acting coronary vasodilator / W. K. Schaper, R. Xhoneux, A. H. Jageneau, P. Janssen // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 1966. – 152. – P. 265-274.
6. Iproveratril: experimental data on coronary dilatation and antiarrhythmic action / K. I. Melville, H. E. Shister, S. Huq // Can. Med. Assoc. J. – 1964. – 90. – P. 761-770.
7. Calcium channel blockers in hypertension. Stephanie Lip, Sandosh Padmanabhan, Hypertension (Oxford Cardiology Library) 3E (3 edn), 2022. – P. 147-156.
8. Calcium channel blockers, 2012. – <https://elsevier.health/en-US/preview/calcium-channel-blockers>
9. Disposition and pharmacologic effects of R/S-verapamil in patients with chronic atrial fibrillation: an investigation comparing single and multiple dosing / M. V. Eichelbaum // Clin Pharmacol Ther. – 2001. – 69(5). P. 324-32.
10. Verapamil for cluster headache. Clinical pharmacology and possible mode of action / P. Tfelt-Hansen, J. Tfelt-Hansen // Headache. – 2009. – 49(1). – P. 117-125.
11. Pharmacology of L-type Calcium Channels: Novel Drugs for Old Targets? / J. Striessnig, N. J. Ortner, A. Pinggera // Curr Mol Pharmacol. – 2015. – 8(2). – P. 110-122.

12. Verapamil block of T-type calcium channels / P. Bergson, G. Lipkind, S. P. Lee, M. E. Duban, D. A. Hanck // *Mol Pharmacol.* – 2011. – 79(3). – P.411-419.
13. Molecular pharmacology of human Cav3.2 T-type Ca²⁺ channels: block by antihypertensives, antiarrhythmics, and their analogs / E. Perez-Reyes, A. L. Van Deusen, I. Vitko // *J Pharmacol Exp Ther.* – 2009. – 328(2). – P. 621-627.
14. State-dependent verapamil block of the cloned human Ca(v)3.1 T-type Ca(2+) channel / B. S. Freeze, M. M. McNulty, D. A. Hanck // *Mol Pharmacol.* – 2006. – 70(2). – P. 718-726.
15. Verapamil, a Ca²⁺ entry blocker, targets the pore-forming subunit of cardiac type KATP channel (Kir6.2) / T. Ninomiya, M. Takano, T. Haruna, Y. Kono, M. Horie // *J Cardiovasc Pharmacol.* – 2003. – 42(2). – P. 161-168.
16. Verapamil blocks HERG channel by the helix residue Y652 and F656 in the S6 transmembrane domain / J. J. Duan, J. H. Ma, P. H. Zhang, X. P. Wang, A. R. Zou, D. N. Tu // *Acta Pharmacol Sin.* – 2007. – 28(7). – P. 959-967.
17. The effects of verapamil and diltiazem on N-, P- and Q-type calcium channels mediating dopamine release in rat striatum / D. Dobrev, A. S. Milde, K. Andreas, U. Ravens // *Br J Pharmacol.* – 1999. – 127(2). – P. 576-582.
18. Effects of quinidine and verapamil on human cardiovascular alpha1-adrenoceptors / K. Shibata, A. Hirasawa, R. Foglar, S. Ogawa, G. Tsujimoto // *Circulation.* – 1998. – 97(13). – P. 1227-1230.
19. Interaction of verapamil and other calcium channel blockers with alpha 1- and alpha 2-adrenergic receptors / H. J. Motulsky, M. D. Snavely, R. J. Hughes, P. A. Insel // *Circ Res.* – 1983. – 52(2). – P. 226-231.
20. Substrates, inducers, inhibitors and structure-activity relationships of human Cytochrome P450 2C9 and implications in drug development / S. F. Zhou, Z. W. Zhou, L. P. Yang, J. P. Cai // *Curr Med Chem.* – 2009. – 16(27). – P. 3480-3675.
21. A comparison between the effects of diltiazem and isosorbide dinitrate on digoxin pharmacodynamics and kinetics in the treatment of patients with chronic

ischemic heart failure / A. A. Mahgoub, A. H. El-Medany, A. S. Abdulatif // Saudi Med J. – 2002. – 23(6). – P. 725-731.

22. Comparative effects of verapamil and isradipine on steady-state digoxin kinetics / S. M. Rodin, B. F. Johnson, J. Wilson, P. Ritchie, J. Johnson // Clin Pharmacol Ther. – 1988. – 43(6). – P. 668-672.

23. Cardizem CD (diltiazem) package insert. Bridgewater, NJ: Bausch Health US, LLC.; 2020 Mar.

24. Erythromycin and verapamil considerably increase serum simvastatin and simvastatin acid concentrations / T. Kantola, K. T. Kivisto, P. J. Neuvonen // Clin Pharmacol Ther. – 1998. – 64. – P.177-82.

25. Studies to investigate the pharmacokinetic interactions between ranolazine and ketoconazole, diltiazem, or simvastatin during combined administration in healthy subjects / M. Jerling, B. Huan, K. Leung [et al.] // J Clin Pharmacol. – 2005. – 45. – P. 422-433.

26. DeSchryver N, Wittebole X, VandenBergh P, et al. Severe rhabdomyolysis associated with simvastatin and role of ciprofloxacin and amlodipine coadministration. Case Rep Nephrol 2015.

27. Sandimmune (cyclosporine) package insert. East Hanover, NJ: Novartis Pharmaceuticals Corporation; 2015 Mar.

28. Disposition and pharmacologic effects of R/S-verapamil in patients with chronic atrial fibrillation: an investigation comparing single and multiple dosing / D. Busse, M. F. Fromm, K. Morike, S. Drescher, V. Kuhlkamp, M. Eichelbaum // Clin Pharmacol Ther. – 2001. – 69(5). – P. 324-332.

29. FDA Approved Drug Products: Verapamil HCl for intravenous injection

https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2016/018925s010lbl.pdf

30. An Overview of Analytical Determination of Diltiazem, Cimetidine, Ranitidine, and Famotidine by UV Spectrophotometry and HPLC Technique / S. Nighat [et. al.] // Journal of Chemistry. – 2013. – 16 p.

31. The State Pharmacopeia of Ukraine [in 3 vol.] (2015) State Enterprise “Ukrainian Scientific Expert Pharmacopoeial Center of the Quality of Medicines” (2nd iss.). Kharkiv: State Enterprise “Ukrainian Scientific and Experimental Pharmacopoeial Center for the Quality of Medicinal Products”, 1128 pp.
32. European Pharmacopoeia (2016) European Pharmacopoeia (9th edn.). <https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia-ph-eur-9th-edition>
33. UV spectrophotometric estimation of diltiazem hydrochloride in bulk and tablet dosage form using area under curve method / A. Nikhade, S. V. Mulgund // *World J Pharm Pharm Sci.* – 2014. – 3(8). – P. 1217-1224.
34. Nonlinear calibrations on the assay of diltiazem and two of its metabolites from plasma samples by means of liquid chromatography and ESI/MS2 detection: application to a bioequivalence study / C. Georgita, F. Albu, V. David, A. Medvedovici // *Biomedical Chromatography.* – 2008. – Vol. 22 (3). – P. 289-297.
35. Development and validation of zero-order derivative by UV-spectrophotometric method for determination of diltiazem HCl in bulk and its formulation / R. Patil, V. Patil, S. Bhosale // *Int J Univers Pharm bio Sci.* – 2014. – 3(4). – P. 1-12.
36. Application of 4-chloro-7-nitrobenzofurazan for the analysis of propafenone and diltiazem hydrochlorides using kinetic spectrophotometric and spectrofluorimetric methods / M. M. Ayad [et. al.] // *European Journal of Chemistry.* – 2013. – Vol. 4 (1). – P. 35-43.
37. NIST Mass Spec Data Center, S.E. Stein, director, "Mass Spectra" in NIST Chemistry WebBook, NIST Standard Reference Database Number 69, Eds. P.J. Linstrom and W.G. Mallard, National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg MD, 20899, <http://webbook.nist.gov>, (retrieved September 6, 2014).
38. Determination of diltiazem based on the reduction of Cu (II) – BCA complexes in the micellar medium / L.Z.L. Sabino, D. C. Marino, H. D.Moya // *Can J Chem.* – 2010. – 88. – P. 533-539.
39. Extractive spectrophotometric methods for determination of diltiazem HCl in pharmaceutical formulations using bromothymol blue, bromophenol blue

and bromocresol green / N. Rahman, S. N. Hejaz-Azmi // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 2000. – Vol. 24 (1). – P. 33-41.

40. Shrivastava R. Spectrophotometric determination of diltiazem in pharmaceutical and in-vivo samples with Pd(II) / R. Shrivastava // Int J Pharm Sci Res. – 2013. – 4(12). – P. 4676-4681.

41. A validated method for the analysis of diltiazem in raw materials and pharmaceutical formulations by RP-HPLC / N. Sultana [et. al.] // Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2007. – Vol. 20 (4). – P. 279-284.

42. Development of a RP-HPLC method for the simultaneous analysis of diltiazem and statin: application in pharmaceuticals and human serum / N. Sultana, M. S. Arayne, N. Shafi, F. A. Siddiqui, A. Hussain // Analytical Methods. – 2010. – Vol. 2(10). – P. 1571-1576.

43. Abu-nameh ESM. Validated stability-indicating HPLC method for the determination of diltiazem hydrochloride in the tablet dosage form / E.S.M Abu-nameh // Aust J Basic Appl Sci. – 2013. – 7(6). – P. 730-736.

44. Development of chromatographic technique for simultaneous estimation of lovastatin and diltiazem hydrochloride / A. S. Kulkarni, S. D. Jadhav, S. S. Khetmar, M. S. Bhatia // Mahidol University Journal of Pharmaceutical Sciences. – 2012. – Vol. 39. – P. 17-23.

45. Analytical method development and validation for the estimation of diltiazem hydrochloride in bulk and pharmaceutical dosage form by RP- HPLC / R. P. Bhagyashree, O. G. Bhusnure, B. N. Paul, A. Y. Ghodke, S. M. Suraj // International Journal of Drug Regulatory Affairs. – 2014. – 2(2). – P. 78-84

46. A novel micellar per aqueous liquid chromatographic method for simultaneous determination of diltiazem hydrochloride, metoprolol tartrate, and isosorbide mononitrate in human serum / N. Li, C. Li, N. Lu, Y. Dong // J Chromatogr. – 2014. – P. 90-97.

47. Review of diltiazem analysis methods during 2010-2020 / Rivai [et. al.] // World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences. – 2020. – Vol. 9(7). – P. 352-372.

48. A validated RP-HPLC method for the determination of diltiazem in the raw Material and pharmaceutical dosage form / B.M.S Kumar, B. Rajkamal, B. Chandramowli // *Int J Pharm Sci Drug Res.* – 2018. – 10(6). – P. 487-491.
49. Antihypersive medicines mixtures analysis blood plasma using chromatographic methods / L. Valintelis, M. Marksa, A. Zevzikovas, A. Zevzikoviene, V. Skyrius // *Acta Pol. Pharm.* – 2018. – 75(2). – P. 305-312.
50. HPLC MS/MS method development for the quantitative determination of verapamil hydrochloride from Caco-2 cell monolayers / L. Logoyda [et al.] // *Pharmacia.* – 2020. – 67(2). – P. 63-69.
51. Differential spectrophotometric method for estimation and validation of Verapamil in Tablet dosage form / T. Roshan [et al.] // *Int J. Pharm. Drug. Anal.* – 2017. – Vol. 5(11). – P. 419-422.
52. Spectrophotometric Determination of Isoptin (Verapamil Hydrochloride) in Pharmaceutical Preparations using Bromothymol Blue Reagent / D. M. Salh // *International Journal of Chemical and Environmental Engineering.* – 2012. – Volume 3(2). – P. 15-20.
53. Spectrophotometric method for the determination of verapamil hydrochloride in pharmaceutical formulations using N-bromosuccinimide as oxidant / N. Rahman, S. N. Hejaz Azmi // *Farmaco.* – 2004. – Vol. 59. – P. 529-536.
54. Electrochemiluminescence of Sodium Dodecyl Sulfate-Ru(bpy)₃²⁺-Verapamil Hydrochloride System and Its Application / Li-Jun Li, Wen [et al.] // *Chinese Journal of Analytical Chemistry.* – 2011. – Vol. 39(7). – P. 1033-1037.
55. Quantitative analysis of therapeutic drugs in dried blood spot samples by paper spray mass spectrometry: an avenue to therapeutic drug monitoring / N. E. Manicke, P. Abu-Rabie, N. Spooner, Z. Ouyang, R. G. Cooks // *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* – 2012. – 22(9). – P. 1501-1507.
56. Paper spray for direct analysis of complex mixtures using mass spectrometry / H. Wang, J. Liu, R. G. Cooks, Z. Ouyang // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* – 2010. – 49(5). – P. 877-880.

57. Analytical techniques for the determination of verapamil in biological samples and dosage forms: an overview / O. Yalcin [et al.] // *Farmaco.* – 2000. – Vol. 55(5). – P. 376-382.

58. Analytical techniques for the determination of verapamil in biological samples and dosage forms: an overview / K. Dorota // *Bioanalysis.* – 2005. – Vol. 88. – P. 1525-1529.

59. Development and validation HPLC method for the determination of verapamil residues in supports of cleaning procedure / D. M. Milenovic // *J. Anal. Chem.* – 2013. – 68. – P. 545-551.

60. Spectrofluorometric determination of verapamil hydrochloride in pharmaceutical preparations and human plasma using organized media: Application to stability studies / M. Walash, F. Belal, N. El-Enany, A. Abdelsalam // *J. AOAC Int.* – 2006. – 89. – P. 1565-1572.

61. Direct determination of verapamil in urine and serum samples by micellar liquid chromatography and fluorescence detection / M. Rambla-Alegre, M.T. Gil-Agusti, M.E. Capella-Peiro, S. Carda-Broch, J. S. Esteve-Romero // *J. Chromatogr. B.* – 2006. – 839. – P. 89-94.

62. Selective determination of verapamil in pharmaceuticals and urine using a boron-doped diamond electrode coupled to flow injection analysis with multiple-pulse amperometric detection / L. A. Barbosa, [et al.] // *Electroanalysis.* – 2018. – 30(8). – P. 1880-1885.

63. A chemiluminescence method for the determination of verapamil hydrochloride in pharmaceutical and environmental samples based on an Fe₃O₄ nanoparticles enhanced NaHCO₃-H₂O₂ system / M. Iranifam, N. R. Hendekhale // *Anal. Methods.* – 2017. – 9(47). – P. 6705-6712.

64. Ag nanoparticles/ZnO nanorods for highly sensitive detection of small molecules with laser desorption/ionization mass spectrometry / J. Du, Q. Zhu, F. Teng, Y. Wang, N. Lu // *Talanta.* – 2019. – 192. – P. 79-85.

65. Determination of verapamil by adsorptive stripping voltammetry in urine and pharmaceutical formulations / E. A. Kasim, M. A. Ghandour, M. T. El-Haty, M. M. Ahmed // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2002. – 30(4). – P. 921-929.

66. Electroanalytical characterization of verapamil and its voltammetric determination in pharmaceuticals and human serum / S. Demircan, S. Kir, S. A. Ozkan // *Anal. Lett.* – 2007. – 40(6). – P. 1177-1195.

67. Dispersive micro-solid-phase extraction using carbon-based adsorbents for the sensitive determination of verapamil in plasma samples coupled with capillary electrophoresis / A. Jouyban, S. Hamidi // *J. Sep. Sci.* – 2017. – 40(16). – P. 3318-3326.

Національний фармацевтичний університет

Факультет фармацевтичних технологій та менеджменту

Кафедра медичної хімії

Ступінь вищої освіти магістр

Спеціальність 226 Фармація, промислова фармація

Освітня програма Фармація

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувачка кафедри
медичної хімії

Ліна ПЕРЕХОДА

«22» серпня 2022 року

ЗАВДАННЯ
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА ВИЩОЇ ОСВІТИ

Олени ЯЦКО

1. Тема кваліфікаційної роботи: «Порівняльна характеристика сучасних методів аналізу блокаторів повільних кальцієвих каналів – верапаміл, дилтіазем»
керівник кваліфікаційної роботи: Ольга ВІСЛОУС, к.фарм.н., асистент
затверджений наказом НФаУ від «14» жовтня 2022 року № 227.
2. Строк подання здобувачем вищої освіти кваліфікаційної роботи: грудень 2022 р.
3. Вихідні дані до кваліфікаційної роботи: вивчення літературних даних щодо методик ідентифікації та кількісного визначення блокаторів кальцієвих каналів – верапаміл, дилтіазем. Проведений огляд літератури свідчить, що найбільш популярні хроматографічні методи, вони складають більше 60 % від усіх методик визначення.
4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити):
 - аналіз причин виникнення серцево-судинних захворювань та ризики їх розвитку;
 - аналіз фармакологічного спектру блокаторів кальцієвих каналів;
 - проаналізувати та узагальнити літературні та патентні джерела щодо існуючих методик ідентифікації та кількісного визначення лікарських засобів, блокаторів кальцієвих каналів
5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов'язкових креслень): таблиць 8, рисунків 14.

6. Консультанти розділів кваліфікаційної роботи

Розділ	Ім'я, ПРІЗВИЩЕ, посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
1	Ольга ВІСЛОУС, асистент кафедри медичної хімії	05.09.2022 р.	05.09.2022 р.
2	Ольга ВІСЛОУС, асистент кафедри медичної хімії	10.10.2022 р.	10.10.2022 р.
3	Ольга ВІСЛОУС, асистент кафедри медичної хімії	07.11.2022 р.	07.11.2022 р.

7. Дата видачі завдання: «22» серпня 2022 року.

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Термін виконання етапів кваліфікаційної роботи	Примітка
1	Вибір теми.	вересень 2022 р.	виконано
2	Аналіз літературних джерел.	жовтень 2022 р.	виконано
3	Проведення експериментальних досліджень.	жовтень-листопад 2022 р.	виконано
4	Оформлення роботи.	листопад-грудень 2022 р.	виконано
5	Надання готової роботи до комісії.	грудень 2022 р.	виконано

Здобувач вищої освіти

Олена ЯЦКО

Керівник кваліфікаційної роботи

Ольга ВІСЛОУС

ВИТЯГ З НАКАЗУ № 227
по Національному фармацевтичному університету
від 14 жовтня 2022 року

Про затвердження тем кваліфікаційних робіт

Затвердити теми кваліфікаційних робіт, керівників-консультантів та рецензентів здобувачам вищої освіти 2 курсу, спеціальність – 226 Фармація, промислова фармація, освітня програма – Фармація, ступінь вищої освіти – магістр, термін навчання – 1 р. 6 міс., заочна форми.

Прізвище, ім'я по батькові здобувача вищої освіти	Тема кваліфікаційної роботи (українською мовою)	Тема кваліфікаційної роботи (англійською мовою)	Керівник кваліфікаційної роботи	Рецензент кваліфікаційної роботи
Кафедра медичної хімії				
Яцко Олена Анатоліївна	Порівняльна характеристика сучасних методів аналізу блокаторів повільних кальцієвих каналів – верапаміл, дилтіазем	Comparative characteristics of modern methods of analysis of blockers of slow calcium channels – verapamil, diltiazem	к.фарм.н., асистент кафедри медичної хімії Віслоус О.О.	к.фарм.н., доцент закладу вищої освіти кафедри загальної хімії Бондаренко Н.Ю.

Ректор

Алла КОТВИЦЬКА

Вірно:
Декан факультету фармацевтичних технологій та менеджменту



Наталія ЖИВОРА

ВИСНОВОК

Комісії з академічної доброчесності про проведену експертизу щодо академічного плагіату у кваліфікаційній роботі здобувача вищої освіти

№ 110303 від «21» грудня 2022 р.

Проаналізувавши випускну кваліфікаційну роботу за магістерським рівнем здобувача вищої освіти заочної форми навчання Яцко Олени Анатоліївни, 2 курсу, _____ групи, спеціальності 226 Фармація, промислова фармація, на тему: «Порівняльна характеристика сучасних методів аналізу блокаторів повільних кальцієвих каналів – верапаміл, дилтіазем / Comparative characteristics of modern methods of analysis of blockers of slow calcium channels – verapamil, diltiazem», Комісія з академічної доброчесності дійшла висновку, що робота, представлена до Екзаменаційної комісії для захисту, виконана самостійно і не містить елементів академічного плагіату (компіляції).

**Голова комісії,
професор**



Інна ВЛАДИМИРОВА

1%

21%

ВІДГУК

**наукового керівника на кваліфікаційну роботу ступеня вищої освіти
магістр, спеціальності 226 Фармація, промислова фармація**

Олени ЯЦКО

**на тему: «Порівняльна характеристика сучасних методів аналізу
блокаторів повільних кальцієвих каналів – верапаміл, дилтіазем».**

Актуальність теми. Серцево-судинні захворювання займають одне із перших місць серед причин інвалідності та смертності населення, у всіх економічних країнах, в тому числі і в Україні. Серед лікарських засобів першої лінії – блокатори кальцієвих каналів. Однією з умов їх раціонального, ефективного та безпечного застосування є забезпечення контролю якості, що досягається підвищенням вимог до існуючих та розробкою нових методик кількісного аналізу.

Практична цінність висновків, рекомендацій та їх обґрунтованість. Під час роботи здобувач вищої освіти опрацював літературні джерела свідчать про те, що аналіз верапамілу та дилтіазему здійснюються в основному спектрофотометричними та хроматографічними методами. Результати досліджень знайдуть практичне застосування у фармацевтичному аналізі.

Оцінка роботи. Кваліфікаційна робота за об'ємом теоретичних і практичних досліджень повністю відповідає вимогам до оформлення кваліфікаційних робіт.

Загальний висновок та рекомендації про допуск до захисту. Кваліфікаційна робота Олени ЯЦКО може бути представлена до захисту в Екзаменаційну комісію Національного фармацевтичного університету на присвоєння ступеня вищої освіти магістр.

Науковий керівник

Ольга ВІСЛОУС

«05» грудня 2022 р.

РЕЦЕНЗІЯ

на кваліфікаційну роботу ступеня вищої освіти магістр, спеціальності 226
Фармація, промислова фармація

Олени ЯЦКО

на тему: «Порівняльна характеристика сучасних методів аналізу
блокаторів повільних кальцієвих каналів – верапаміл, дилтіазем».

Актуальність теми. Кількість блокаторів повільних кальцієвих каналів на фармацевтичному ринку з кожним роком збільшується, що потребує систематизації методик їх стандартизації.

Теоретичний рівень роботи. Аналітичний огляд літературних джерел інформації щодо дослідження верапамілу та дилтіазему фізичними, хімічним та фізико-хімічним методами аналізу.

Пропозиції автора з теми дослідження. Приведені дані можуть бути застосовані для подальшого пошуку оптимальних методик ідентифікації та кількісного визначення верапамілу та дилтіазему як чистому вигляді, так і в суміші з іншими діючими та допоміжними речовинами.

Практична цінність висновків, рекомендацій та їх обґрунтованість. Під час роботи здобувач вищої освіти проаналізував літературні дані, освоїв фізичні, фізико-хімічні, фармакотехнологічні методи досліджень, які представляють практичний інтерес.

Недоліки роботи. За змістом роботи зустрічаються орфографічні помилки, технічні помилки.

Загальний висновок і оцінка роботи. Кваліфікаційна робота Олени ЯЦКО може бути представлена до захисту в Екзаменаційну комісію Національного фармацевтичного університету на присвоєння ступеня вищої освіти магістр.

Рецензент _____

доц. Наталія БОНДАРЕНКО

«13» грудня 2022 р.

ВИТЯГ
з протоколу засідання кафедри медичної хімії
№ 5 від 23 грудня 2022 р.

ПРИСУТНІ:

проф. Ліна ПЕРЕХОДА, доц. Вадим ЗУБКОВ, доц. Ірина СИЧ, доц. Віталій ЯРЕМЕНКО, доц. Ілля ПОДОЛЬСЬКИЙ, доц. Наталія КОБЗАР, доц. Марина РАХІМОВА, доц. Маргарита СУЛЕЙМАН, ас. Олена БЕВЗ, ас. Ольга ВІСЛОУС.

ПОРЯДОК ДЕННИЙ:

Звіт про стан виконання кваліфікаційної роботи здобувача вищої освіти факультету фармацевтичних технологій та менеджменту групи ФМ21(1,5з)-01а (226 Фармація, промислова фармація, освітньої програми Фармація) Олени ЯЦКО на тему: «Порівняльна характеристика сучасних методів аналізу блокаторів повільних кальцієвих каналів – верапаміл, дилтіазем».

СЛУХАЛИ: доповідь здобувача вищої освіти факультету фармацевтичних технологій та менеджменту ФМ21(1,5з)-01а Олени ЯЦКО на тему: «Порівняльна характеристика сучасних методів аналізу блокаторів повільних кальцієвих каналів – верапаміл, дилтіазем», керівник: асистент каф. медичної хімії, к.фарм.н. Ольга ВІСЛОУС.

УХВАЛИЛИ: рекомендувати кваліфікаційну роботу Олени ЯЦКО до офіційного захисту в Екзаменаційній комісії.

**Зав. кафедри медичної хімії,
професор**

Ліна ПЕРЕХОДА

**Секретар кафедри медичної хімії,
доцент**

Марина РАХІМОВА

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ПОДАННЯ ГОЛОВІ ЕКЗАМЕНАЦІЙНОЇ КОМІСІЇ ЩОДО ЗАХИСТУ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ

Направляється здобувач вищої освіти Олена ЯЦКО до захисту кваліфікаційної роботи за галуззю знань 22 Охорона здоров'я спеціальністю 226 Фармація, промислова фармація освітньою програмою Фармація на тему: «Порівняльна характеристика сучасних методів аналізу блокаторів повільних кальцієвих каналів – верапаміл, дилтіазем».

Кваліфікаційна робота і рецензія додаються.

Декан факультету _____ / Наталія ЖИВОРА /

Висновок керівника кваліфікаційної роботи

Здобувач вищої освіти Олена ЯЦКО представила кваліфікаційну роботу, яка за об'ємом теоретичних і практичних досліджень повністю відповідає вимогам до оформлення кваліфікаційних робіт.

Керівник кваліфікаційної роботи

Ольга ВІСЛОУС

«05» грудня 2022 р.

Висновок кафедри про кваліфікаційну роботу

Кваліфікаційну роботу розглянуто. Здобувач вищої освіти Олена ЯЦКО допускається до захисту даної кваліфікаційної роботи в Експертній комісії.

Завідувачка кафедри
медичної хімії

Ліна ПЕРЕХОДА

«23» грудня 2022 року

Кваліфікаційну роботу захищено

у Екзаменаційній комісії

«09» лютого 2023 р.

З оцінкою _____

Голова Екзаменаційної комісії,

доктор фармацевтичних наук, професор

_____ / Володимир ЯКОВЕНКО /