

УДК 615.9:615.07:615.212.7:54-438

<https://doi.org/10.24959/ubphj.18.176>

О. О. МАМІНА, В. І. КАБАЧНИЙ, Т. О. ТОМАРОВСЬКА

Національний фармацевтичний університет

ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОПРАНОЛОЛУ ВЕРХ-МЕТОДОМ, ПРИДАТНІ ДЛЯ ХІМІКО-ТОКСИКОЛОГІЧНОГО АНАЛІЗУ

Актуальність. Терапевтичний моніторинг при використанні пропранололу гідрохлориду, аналіз препарату в лікарських формах та біологічних об'єктах, ідентифікація та кількісне визначення препарату при інтоксикації проводяться за допомогою чутливих та селективних методів. Серед сучасних методів аналізу для створення бази даних – параметрів ідентифікації та кількісного визначення масивів аналітів у біологічних об'єктах метод ВЕРХ є одним із найбільш придатних методів з високою чутливістю та селективністю. Пропранололу гідрохлорид (анаприлін) – (\pm) 1-ізопропіламіно-3-(1-нафтилокси)-2-пропанолу гідрохлорид – неселективний блокатор β -адренорецепторів, який характеризується антиангінальним, антигіпертензивним та антиаритмічним ефектами та застосовується при лікуванні ішемічної хвороби серця, порушеннях серцевого ритму та деяких формах гіпертонічної хвороби. Розроблені раніше ВЕРХ-методики аналізу пропранололу базуються на застосуванні різноманітних умов хроматографування (склад рухомої фази, ізократичне або градієнтне елюювання, детектування при одній або декількох довжинах хвилі, вибір чутливого та селективного детектора), які зумовлені індивідуальними властивостями речовини. Враховуючи можливість комплексного лікування захворювань серцево-судинної системи при використанні різних лікарських препаратів, проведення аналізу за уніфікованою ВЕРХ-методикою є актуальною задачею дослідження.

Метою даної роботи є ідентифікація та кількісне визначення пропранололу гідрохлориду за уніфікованою ВЕРХ-методикою, яка дозволяє отримувати надійні та відтворювані результати досліджень, придатні для аналізу препарату у біологічних об'єктах.

Матеріали та методи. Хроматографування досліджуваної речовини проводили на мікроколоночному рідинному хроматографі «Міліхром А-02» («ЕкоНова», м. Новосибірськ, Росія) в обернено-фазному варіанті при застосуванні металеві колони з неполярним сорбентом Prontosil 120-5C 18 AQ, 5 мкм. При елююванні препарату застосовували суміші розчинників – ацетонітрилу з 0,2 М розчином літію перхлорату у 0,005 М розчині кислоти хлорної. Лінійний градієнт – від елюенту А (5 % ацетонітрилу та 95 % буферного розчину) до елюенту Б (100 % ацетонітрилу) впродовж 40 хв створював умови для виходу з колонки усіх складових частин проби у вигляді вузьких зон. Швидкість надання розчинника в колонку складала 100 мкл/хв; температура колонки –37-40 °С; тиск насосу – 2,8-3,2 МПа; об'єм проби для введення – 4 мкл. Багатоканальне детектування речовини виконували УФ-детектором за 8 значеннями довжини хвилі: 210, 220, 230, 240, 250, 260, 280 та 300 нм.

Результати та їх обговорення. При проведенні ідентифікації пропранололу встановлені абсолютні часи утримування (19,40-19,54 хв) та об'єми утримування (1940,8-1955,2 мкл), спектральні відношення, межа виявлення препарату у пробі (4,0 мкг/мл або 16,0 нг у пробі), значення коефіцієнтів симетрії піків речовини (0,94-1,10) та коефіцієнтів ємності (11,94-12,04). Методом найменших квадратів розраховані коефіцієнти регресії градувального графіка, якому відповідало рівняння прямої $S = 0,00565 C$. Коефіцієнт кореляції дорівнював 0,9987. Розраховані валідаційні характеристики ВЕРХ-методики визначення пропранололу: діапазон лінійності (5,0-100,0 мкг/мл), межу кількісного визначення (5,0 мкг/мл або 20 нг у пробі), правильність і точність за результатами кількісного визначення препарату ВЕРХ-методом у модельних розчинах. Встановлено, що відносна невизначеність середнього результату не перевищувала $\pm 2,11$ % при використанні запропонованої методики ВЕРХ-аналізу пропранололу гідрохлориду у модельних розчинах.

Висновки. Проведено ідентифікацію та кількісне визначення пропранололу гідрохлориду при використанні уніфікованої ВЕРХ-методики, придатної для хіміко-токсикологічного дослідження.

Ключові слова: пропранололу гідрохлорид; ідентифікація; кількісне визначення; високоефективна рідина хроматографія

О. О. Mamina, V. I. Kabachny, T. O. Tomarovsky

The investigations of propranolol by HPLC method suitable for a chemical-toxicological analysis

Topicality. Therapeutic monitoring when using propranolol hydrochloride, analysis of the drug in dosage forms and biological objects, identification and quantitative determination of the drug during intoxication are carried out using sensitive and selective methods. Among the modern methods of analysis for creating a database of parameters of identification and quantitative determination of analytes arrays in biological objects HPLC method is one of the most suitable methods with high sensitivity and selectivity. Propranolol hydrochloride (anaprilin) – (\pm)1-isopropylamino-3-(1-naphthylxy)-2-propanol hydrochloride – non-selective β -adrenoceptor blocker, which is characterized by antianginal, antihypertensive and antiarrhythmic effects and is used for treatment of coronary heart disease, heart rhythm disorders and some forms of hypertension. Previously developed HPLC methods of propranolol analysis are based on the application of various chromatographic conditions (mobile phase composition, isocratic or gradient elution, detecting at one or several wavelengths, selection of sensitive and selective detector) due to individual properties of a substance. Taking into account the possibility of complex treatment of diseases of the cardiovascular system with the use of different drugs, the analysis by a unified HPLC methodology is an actual task of the study.

Aim. To identify and to make quantitative determination of propranolol hydrochloride by a unified HPLC methodology, which allows obtaining reliable and reproducible research results that are suitable for drug analysis in biological objects.

Materials and methods. Chromatography of the investigated substance was performed on a microcolumn liquid chromatograph "Milichrome A-02" ("EcoNova", Novosibirsk, Russia) in an reverse-phase variant using a metal column with a nonpolar sorbent Prontosil 120-5C 18 AQ, 5 μm . For elution of the drug were used a mixture of solvents - acetonitrile with 0.2 M solution of lithium perchlorate in 0.005 M solution of acid perchloric. The linear gradient from eluent A (5 % acetonitrile and 95 % buffer solution) to eluent B (100 % acetonitrile) for 40 minutes created conditions for the exit from the column of all component parts of the sample as narrow zones. The flow rate of the mobile phase has been formed 100 $\mu\text{l}/\text{min}$, column temperature – 37-40 $^{\circ}\text{C}$; pump pressure – 2.8-3.2 MPa; injection volume – 4 μl . Multi-channel detection of a substance was performed by a UV detector in 8 wavelengths: 210, 220, 230, 240, 250, 260, 280 and 300 nm.

Results and discussion. While carrying out identification of propranolol, it was established absolute parameters of retention time (19.40-19.54 min) and retention volume (1940.8-1955.2 μl), spectral relationships, detection limit of the substance in the sample (4.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ or 16.0 ng in the sample), the values of the coefficients of the symmetry of the peaks of the substance (0.94-1.10) and the coefficients of capacity ratio (11.94-12.04). The regression coefficients of the calibration graph, which corresponds to the equation of the straight line $S = 0.00565 C$ were calculated by the least squares method. The correlation coefficient was equal to 0.9987. Validation characteristics of HPLC-method for determination of propranolol: linearity range (5.0-100.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$), limit of quantitative determination (5.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ or 20 ng in the sample), correctness and accuracy on the basis of the results of the quantitative determination of the preparation by the HPLC method in model solutions were calculated. It was established that the relative uncertainty of the average result did not exceed $\pm 2,11$ % when using the proposed method of HPLC analysis of propranolol hydrochloride in model solutions.

Conclusions. Identification and quantitative determination of propranolol hydrochloride with the use of a unified HPLC method suitable for a chemical toxicological study was carried out.

Key words: *propranolol hydrochloride; identification; quantitative determination; high performance liquid chromatography*

Е. А. Мамина, В. И. Кабачный, Т. А. Томаровская

Исследования пропранолола ВЭЖХ-методом, пригодные для химико-токсикологического анализа

Актуальность. Терапевтический мониторинг при использовании пропранолола гидрохлорида, анализ препарата в лекарственных формах и биологических объектах, идентификация и количественное определение препарата при интоксикации проводятся при помощи чувствительных и селективных методов. Среди современных методов анализа для создания базы данных – параметров идентификации и количественного определения мас-сивов аналитов в биологических объектах метод ВЭЖХ является одним из наиболее пригодных методов с высокой чувствительностью и селективностью. Пропранолола гидрохлорид (анаприлин) – (\pm) 1-изопропиламино-3-(1-нафтилокси)-2-пропанола гидрохлорид – неселективный блокатор β -адренорецепторов, который характеризуется антиангинальным, антигипертензивным и антиаритмическим эффектами и используется при лечении ишемической болезни сердца, нарушениях сердечного ритма и некоторых формах гипертонической болезни. Разработанные ранее ВЭЖХ-методики анализа пропранолола основываются на применении разнообразных условий хроматографирования (состав подвижной фазы, изократическое или градиентное элюирование, детектирование при одной или нескольких длинах волны, выбор чувствительного и селективного детектора), которые обусловлены индивидуальными свойствами вещества. Учитывая возможность комплексного лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы при использовании различных лекарственных препаратов проведение анализа по унифицированной ВЭЖХ-методике является актуальной задачей исследования.

Целью данной работы является идентификация и количественное определение пропранолола гидрохлорида по унифицированной ВЭЖХ-методике, которая позволяет получать надежные и воспроизводимые результаты исследований, пригодные для анализа препарата в биологических объектах.

Материалы и методы. Хроматографирование исследуемого вещества проводили на микроколоночном жидкостном хроматографе «Миллихром А-02» («ЭкоNova», Новосибирск, Россия) в обращенно-фазном варианте при использовании металлической колонки с неполярным сорбентом Prontosil 120-5C 18 AQ, 5 μm . При элюировании препарата применяли: смеси растворителей (ацетонитрила с 0,2 М раствором лития перхлората в 0,005 М растворе кислоты хлорной). Линейный градиент – от элюента А (5 % ацетонитрила и 95 % буферного раствора) до элюента Б (100 % ацетонитрила) в течение 40 мин создавал условия для выхода из колонки всех составных частей пробы в виде узких зон. Скорость подачи растворителя в колонку составляла 100 $\mu\text{л}/\text{мин}$; температура колонки – 37-40 $^{\circ}\text{C}$; давление насоса – 2,8-3,2 МПа; объем пробы для введения – 4 $\mu\text{л}$. Многоканальное детектирование вещества выполняли УФ-детектором по 8 значениям длины волны: 210, 220, 230, 240, 250, 260, 280 и 300 нм.

Результаты и их обсуждение. При проведении идентификации пропранолола установлено абсолютные время удерживания (19,40-19,54 мин) и объем удерживания (1940,8-1955,2 $\mu\text{л}$), спектральные отношения, предел обнаружения препарата в пробе (4,0 $\mu\text{г}/\text{мл}$ или 16,0 нг в пробе), значения коэффициентов симметрии пиков вещества (0,94-1,10) и коэффициентов емкости (11,94-12,04). Методом наименьших квадратов рассчитаны коэффициенты регрессии градуировочного графика, которому соответствовало уравнение прямой $S = 0,00565 C$. Коэффициент корреляции был равен 0,9987. Рассчитаны валидационные характеристики ВЭЖХ-методики определения пропранолола: диапазон линейности (5,0-100,0 $\mu\text{г}/\text{мл}$), предел количественного определения (5,0 $\mu\text{г}/\text{мл}$ или 20 нг в пробе), правильность и точность по результатам количественного определения препарата ВЭЖХ-методом в модельных растворах. Установлено, что относительная неопределенность среднего результата не превышала $\pm 2,11$ % при использовании предложенной методики ВЭЖХ-анализа пропранолола гидрохлорида в модельных растворах.

Выводы. Проведено идентификацию и количественное определение пропранолола гидрохлорида при использовании унифицированной ВЭЖХ-методики, пригодной для химико-токсикологического исследования.

Ключевые слова: *пропранолола гидрохлорид; идентификация; количественное определение; высокоэффективная жидкостная хроматография*

ВСТУП

Пропранололу гідрохлорид (анаприлін) – (\pm) 1-ізо-пропіламіно-3-(1-нафтилокси)-2-пропанолу гідрохлорид – неселективний блокатор β -адренорецепторів, який характеризується антиангінальним, антигіпертензивним та антиаритмічним ефектами та застосовується при лікуванні ішемічної хвороби серця, порушеннях серцевого ритму та деяких формах гіпертонічної хвороби [1].

Серед сучасних напрямків використання пропранололу та інших неселективних β -блокаторів важливим є лікування ракових захворювань. Атауа С. N. і співавтори вказували, що неселективні бета-блокатори пригнічують життєздатність клітин ангіосаркоми і збільшують загальну виживаність у пацієнтів з метастатичною ангіосаркомою [2]. Brohée L. і співавтори також підтверджували, що пропранолол сенсibiliзує клітини раку передміхурової залози до пригнічення метаболізму глюкози і запобігає прогресуванню раку [3]. Впродовж останніх років багато досліджень показали ефективність пропранололу при лікуванні інфантильних гемангіом [4, 5].

При застосуванні пропранололу можливі побічні ефекти: бронхоспазм, брадикардія, м'язова слабкість, серцева недостатність, підвищена стомлюваність, головний біль, запаморочення свідомості, нудота, алергічні реакції організму [1].

При використанні пропранололу в комбінаціях з іншими лікарськими препаратами необхідно враховувати токсичні ефекти. Так, антигіпертензивний ефект пропранололу посилюється при поєднанні з діуретиками, іншими гіпотензивними, антиаритмічними засобами, а також етанолом. Jovic-Stosic J. і співавтори вказували на використання жінкою пропранололу разом з етанолом у суїцидальних цілях. Клінічні прояви отруєння включали кому, судоми, респіраторну недостатність, гіпоглікемію і судинний шок [6]. Garg A. і співавтори повідомляли про спробу суїциду чоловіком, який споживав великі дози дигоксину і пропранололу одночасно [7].

При передозуванні або при самолікуванні пропранололом вражається серцево-судинна система, пригнічується діяльність ЦНС, порушується дихальна система [8].

Лікувальна концентрація пропранололу в плазмі складала від 0,05 до 1 мг/л. Встановлено, що токсичні ефекти були пов'язані з концентрацією пропранололу в плазмі більше 2 мг/л і смертельним результатом в концентраціях більше 4 мг/л [8].

Постановка проблеми у загальному вигляді, актуальність теми та її зв'язок з важливими науковими чи практичними питаннями

Терапевтичний моніторинг при використанні пропранололу гідрохлориду, аналіз препарату в лікарських формах та біологічних об'єктах, ідентифікація та кількісне визначення препарату при інтоксикації проводяться за допомогою чутливих та селективних ме-

тодів. Серед сучасних методів аналізу для створення бази даних параметрів ідентифікації та кількісного визначення масивів аналітів у біологічних об'єктах метод ВЕРХ є одним із найбільш придатних методів з високою чутливістю та селективністю.

Розроблені раніше ВЕРХ-методи аналізу пропранололу базуються на застосуванні різноманітних умов хроматографування (склад рухомої фази, ізократичне або градієнтне елюювання, детектування при одній або декількох довжинах хвилі, вибір чутливого та селективного детектора), які зумовлені індивідуальними властивостями речовини. Враховуючи можливість комплексного лікування захворювань серцево-судинної системи при використанні різних лікарських препаратів проведення аналізу за уніфікованою ВЕРХ-методикою є актуальною задачею дослідження.

Результати досліджень за уніфікованою ВЕРХ-методикою можуть бути рекомендовані для впровадження у практику бюро судово-медичної експертизи, токсикологічних центрів, клінічних лабораторій стосовно вивчення лікарських речовин у біологічних об'єктах.

Аналіз останніх досліджень і публікацій

У літературі описані методики ідентифікації та кількісного визначення пропранололу гідрохлориду ВЕРХ-методом при застосуванні різних варіантів хроматографування.

Silva Gracia M. і співавтори вказували на ВЕРХ-умови дослідження бета-блокаторів (метопрололу, тимололу, бісопрололу, пропранололу, карведилолу та небівололу). Лікарські засоби розділяли на колонці Phenomenex Gemini Fenyl Hexyl 110 A (250 \times 4,6 мм, 5 мкм), використовуючи градієнтну суміш ацетонітрилу та фосфатного буфера (рН 3,1), що містила 10 % метанолу. Швидкість потоку рухомої фази складала 1 мл/хв. Для виявлення аналітів використовували 4 довжини хвилі: 215, 226, 242 і 299 нм [9]. Недоліками методики є відсутність чіткої характеристики складу рухомої фази та градієнту при її наданні у колонку. Детектування препаратів за 4 довжинами хвилі має обмеження при ідентифікації за спектральними відношеннями.

Згідно з даними Santos M. G. і співавтори прямиї допінг-аналіз бета-блокаторів (атенололу, пропранололу, надололу, піндололу, лабеталола та метопрололу) із зразків сечі при використанні твердофазної екстракції та рідинної хроматографії з мас-спектрометрією проводили при застосуванні рухомої фази: форміатний буфер (рН 5,0); 0,01 % водний розчин кислоти мурашиної – метанол (30 : 70) [9]. Saleem K. і співавтори рекомендували для дослідження β -адренергічних блокаторів рухому фазу: ацетатний буфер (рН 4); ацетонітрил – 0,25 М розчин калію ацетату (30 : 70). Швидкість потоку рухомої фази складала 1 мл/хв. Для детектування використовували мас-спектрометрію [10]. Недоліками наведених методик є застосу-

вання ізократичного режиму надання рухомої фази до колонки, що обмежує використання методики для аналізу різних лікарських засобів та їх сумішей.

Кокоріна Н. О. і співавт. ВЕРХ-дослідження лікарських препаратів проводили на колонці 2 × 75 мм, 5 мкм з обернено-фазним сорбентом Prontosil 120-5 C18. Елюенти: 0,1 % розчин кислоти трифторооцтової в дистильованій воді (елюент А) і 0,1 % розчин кислоти трифторооцтової в ацетонітрилі (елюент Б). Градієнт концентрації елюенту Б від 2 % до 100 % за 3000 мкл. Швидкість потоку рухомої фази складала 150 мкл/хв. Робочі довжини хвилі УФ-детектора: 220, 230, 240, 250, 270, 280 нм, базова – 210 нм [11].

Недоліками методики є включення до складу рухомої фази розчину кислоти трифторооцтової, яка може осаджувати білкові домішки, що має негативний вплив на кінцевий результат ВЕРХ-дослідження. Відсутність у складі рухомої фази іон-парного компонента знижує ефективність хроматографічного розділення у колонці.

Виділення не вирішених раніше частин загальної проблеми

Метою даної роботи є ідентифікація та кількісне визначення пропранололу гідрохлориду за уніфікованою ВЕРХ-методикою, яка дозволяє отримувати надійні та відтворювані результати досліджень, придатні для аналізу препарату у біологічних об'єктах.

Формулювання цілей (задачі) статті

Для досягнення цієї мети необхідно було розв'язати такі задачі:

1. Встановити параметри утримування пропранололу гідрохлориду, спектральні відношення та межі виявлення препарату у пробі.
2. Опрацювати ВЕРХ-методику кількісного визначення пропранололу гідрохлориду на модельних розчинах з використанням різних концентрацій препарату.
3. Розрахувати валідаційні характеристики ВЕРХ-методики визначення пропранололу гідрохлориду: діапазон лінійності, межі кількісного визначення, правильність і точність за результатами кількісного визначення препарату ВЕРХ-методом у модельних розчинах.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Пропранололу гідрохлорид виділяли з таблеток «Анаприлін» (50 шт.) по 40 мг (Фармацевтична компанія «Здоров'я», м. Харків, Україна) наступним чином: 5 таблеток переносили до порцелянової ступки та розтирали до однорідного стану, потім додавали 50,0 мл метанолу та ретельно перемішували. Отриману суміш фільтрували через паперовий фільтр у порцелянову чашку та випаровували на водяній бані при температурі, не вищій ніж 40 °С, до видалення органічного розчинника; залишок висушували. Чистоту субстанції перевірено методами ТШХ та УФ-спектроскопії і встановлено відповідність якості щодо вимог ДФУ.

Реактиви для дослідження ВЕРХ-методом відповідали кваліфікації «для ВЕРХ»: ацетонітрил (Sigma-Aldrich Laborchemikallen, GmbH), метанол (Merk, Darmstadt, Germany), вода бідистильована (Merk, Darmstadt, Germany). Реактиви відповідали кваліфікації «ЧДА»: літію перхлорат тригідрат (Sigma-Aldrich, США), кислота перхлорна (70 %) (Chimmed, Москва, Росія).

ВЕРХ-методика дослідження

ВЕРХ-хроматографування проводили на мікроколоночному рідинному хроматографі «Міліхром А-02» («ЕкоНова» Новосибірськ, Росія) в обернено-фазному варіанті при використанні металевої колонки з неполярним сорбентом Prontosil 120-5C 18 AQ, 5 мкм. Досліджувану речовину елюювали у режимі лінійного градієнту: від елюенту А (5 % ацетонітрилу та 95 % буферного розчину, який мав склад – 0,2 М розчин літію перхлорату у 0,005 М розчині кислоти перхлорної) до елюенту Б (100 % ацетонітрилу) впродовж 40 хв.

Регенерація колонки проводилась впродовж 2 хв сумішшю розчинників. Швидкість надання рухомої фази в колонку складала 100 мкл/хв; температура колонки –37-40 °С; тиск насосу – 2,8-3,2 МПа; об'єм проби для введення – 4 мкл [12] (рис. 1).

Детектування проводили із застосуванням двопробного мультихвильового УФ-спектрофотометра за 8 значеннями довжини хвилі: 210, 220, 230, 240, 250, 260, 280 та 300 нм.

Методика проведення ідентифікації пропранололу гідрохлориду ВЕРХ-методом. 0,0250 г досліджуваної речовини вносили в мірну колбу місткістю 500,0 мл, розчиняли у розчиннику – 5 % ацетонітрилу та 95 % буферного розчину. Об'єм розчину доводили до позначки розчинником (стандартний розчин з концентрацією 50,0 мкг/мл). У ряд мірних колб місткістю 100,0 мл вносили із бюретки 10,0; 20,0; 40,0; 60,0 та 80,0 мл стандартного розчину і доводили об'єми розчинів до позначки відповідним розчинником (розчини 1-5 мали відповідно концентрації 5,0-40,0 мкг/мл).

При хроматографуванні за уніфікованою ВЕРХ-методикою розчинів пропранололу гідрохлориду (не менше 5 хроматограм для кожного дослідження) отримані симетричні, гострі за формою піки, що дозволило обчислювати результати за допомогою комп'ютерної програми «МультиХром» («Амперсенд», м. Москва, Росія), яка входила до комплекту хроматографа.

Методика кількісного визначення пропранололу гідрохлориду методом абсолютного калібрування: 0,1000 г пропранололу гідрохлориду вносили в мірну колбу місткістю 500,0 мл, розчиняли у розчиннику – 5 % ацетонітрилу та 95 % буферного розчину та доводили об'єм розчину до позначки відповідним розчинником (стандартний розчин, концентрація 200,0 мкг/мл).

У ряд мірних колб місткістю 100,0 мл вносили із бюретки 2,5; 5,0; 15,0; 25,0; 35,0; 45,0 та 50,0 мл стандартного розчину і доводили об'єми розчинів до по-

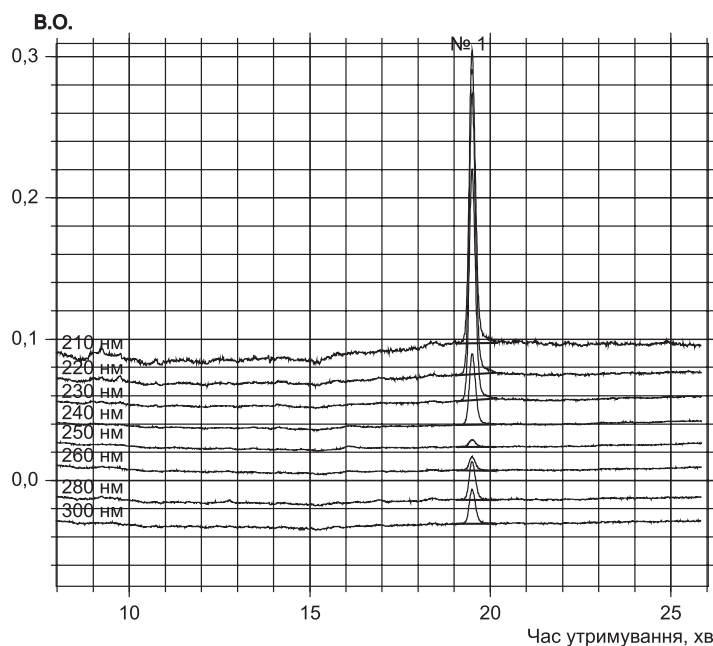


Рис. 1. Хроматограма пропранололу гідрохлориду (концентрація 10,0 мкг/мл)

значки відповідним розчинником (робочі стандартні розчини 1-7 з концентраціями 5,0; 10,0; 30,0; 50,0; 70,0; 90,0 та 100,0 мкг/мл відповідно). Результати ВЕРХ-аналізу застосовували для побудови градуального графіка в координатах: S , мм² (площа піку) – C , мкг/мл (концентрація розчинів досліджуваної речовини).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Ідентифікацію пропранололу проводили за параметрами утримування – абсолютні часи утримування ($t_{\text{абс}}$) та об'єми утримування ($V_{\text{абс}}$) (табл. 1). Для отримання надійних результатів ідентифікації речовини визначені спектральні відношення при значеннях довжини хвилі – від 220 до 300 нм ($S_{220-300}/S_{210}$), які дорівнювали: 0,951; 0,788; 0,244; 0,028; 0,049; 0,135; 0,120.

Придатність хроматографічної системи для ВЕРХ-досліджень пропранололу гідрохлориду була підтверджена при визначенні коефіцієнтів симетрії піків речовини (K_s) (не перевищували оптимальні значення 2,0-2,5) та коефіцієнтів ємності (k') (були не менше значень 0,5-2,0). Встановлено, що межа виявлення

пропранололу гідрохлориду ВЕРХ-методом дорівнює 4,0 мкг/мл або 16,0 нг у пробі.

При кількісному визначенні пропранололу гідрохлориду лінійність градуального графіка у координатах (S , мм²) – (C , мкг/мл) спостерігалась в інтервалі концентрацій 5,0-100,0 мкг/мл, що відповідає вмісту пропранололу гідрохлориду в пробі від 20,0 нг до 400,0 нг відповідно. Нижня межа визначення пропранололу гідрохлориду ВЕРХ-методом складала 5,0 мкг/мл, що відповідає 20,0 нг у пробі (рис. 2).

Методом найменших квадратів розраховані коефіцієнти регресії градуального графіка $S = vC + a$ (табл. 2). Наведеному градуальному графіку відповідає рівняння прямої $S = 0,00565 C - 0,00038$.

У результаті перевірки значущості вільного члена рівняння градуального графіка було встановлено, що він мало відрізняється від нуля, тому для визначення вмісту речовини в об'єктах дослідження застосовували рівняння вигляду $S = 0,00565 C$; коефіцієнт кореляції (R) дорівнював 0,9987.

При проведенні ВЕРХ-аналізу пропранололу гідрохлориду у модельних розчинах при використанні запропонованої методики відносна невизначеність

Таблиця 1

ПАРАМЕТРИ УТРИМУВАННЯ, КОЕФІЦІЄНТИ СИМЕТРІЇ ТА КОЕФІЦІЄНТИ ЄМНОСТІ ПРОПРАНОЛУ ГІДРОХЛОРИДУ (n = 5, P = 95 %)

Параметри	Значення параметра	Метрологічні характеристики						
		\bar{X}	S^2	S	$RSD, \%$	$S_{\bar{x}}$	$\Delta \bar{x}$	$\bar{\epsilon}, \%$
$t_{\text{абс}}, \text{хв}$	19,40-19,54	19,47	0,0033	0,057	0,13	0,026	0,072	0,37
$V_{\text{абс}}, \text{мкл}$	1940,8-1955,2	1948	33,18	5,76	0,13	2,58	7,16	0,37
K_s	0,94-1,10	1,02	0,0040	0,063	2,77	0,028	0,079	7,71
k'	11,94-12,04	11,99	0,0015	0,039	0,15	0,017	0,048	0,40

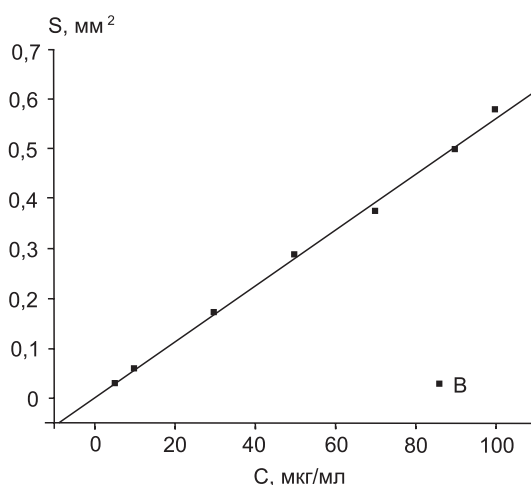


Рис. 2. Градувальний графік кількісного визначення пропранололу гідрохлориду ВЕРХ-методом

Таблиця 2

КОЕФІЦІЄНТИ РЕГРЕСІЇ ГРАДУВАЛЬНОГО ГРАФІКА $S = \nu C + A$ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ПРОПРАНЛОЛУ ГІДРОХЛОРИДУ ВЕРХ-МЕТОДОМ ($n = 9, P = 95 \%$)

Коефіцієнти регресії градувальних графіків		Довірчі інтервали коефіцієнтів регресії		Коефіцієнт кореляції (R)	Інтервал лінійності графіка, (межа визначення, мкг/мл)
a	b	Δa	Δb		
-0,00038	0,00565	0,00803	0,00013	0,9987	5,0-100,0 мкг/мл, 5,0 мкг/мл

Таблиця 3

РЕЗУЛЬТАТИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ПРОПРАНЛОЛУ ГІДРОХЛОРИДУ ВЕРХ-МЕТОДОМ У МОДЕЛЬНИХ РОЗЧИНАХ ($n = 5, P = 95 \%$)

Внесено речовини, мкг	S, мм ²	Виділено речовини				
		мкг	%			
20,0	0,1141	20,2	101,0			
40,0	0,2209	39,1	97,8			
60,0	0,3407	60,3	100,5			
80,0	0,4464	79,0	98,8			
100,0	0,5763	102,0	102,0			
Вміст речовини у модельних розчинах, %	Метрологічні характеристики, %					
	\bar{X}	S^2	S	$S_{\bar{x}}$	$\Delta \bar{x}$	$\bar{\epsilon}$
	97,9-102,3	100,02	2,88	1,70	0,76	2,11
$RSD_{\bar{x}} = 0,76 \%, \bar{X} \pm \Delta \bar{x} = 100,02 \pm 2,11 \%$						

середнього результату не перевищувала $\pm 2,11 \%$ (табл. 3).

Методика ВЕРХ-аналізу пропранололу гідрохлориду валідована за параметрами – діапазон лінійності, межі виявлення та кількісного визначення, правильності та точності за результатами кількісного визначення пропранололу гідрохлориду ВЕРХ-методом у модельних розчинах ($RSD_{\bar{x}} = 0,76 \%$).

Встановлено, що правильність та прецизійність результатів застосування розробленої методики для концентрацій пропранололу гідрохлориду в інтервалі лінійності градувального графіка в модельних розчинах не перевищувала 1,0, що свідчило про близькість результатів аналізу до їх справжнього значення.

Дослідження проводили на зразках препарату однієї серії одним аналітиком в однакових умовах (реактиви, обладнання, лабораторія) впродовж короткого інтервалу часу, що підтверджувало збіжність отриманих результатів.

ВИСНОВКИ

1. Проведено ідентифікацію та кількісне визначення пропранололу при використанні уніфікованої ВЕРХ-методики, придатної для дослідження лікарських речовин та їх сумішей у біологічних об'єктах.
2. Розраховані валідаційні характеристики ВЕРХ-методики визначення пропранололу гідрохлориду: діапазон лінійності, межі виявлення та кількісно-

го визначення, правильність і точність за результатами кількісного визначення препарату ВЕРХ-методом у модельних розчинах.

3. Результати досліджень за уніфікованою ВЕРХ-методикою можуть бути рекомендовані для впро-

вадження у практику бюро судово-медичної експертизи, токсикологічних центрів, клінічних лабораторій стосовно вивчення лікарських речовин у біологічних об'єктах.

Конфлікт інтересів: відсутній.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Машковский, М. Д. Лекарственные средства : 16-е изд., перераб., испр. и доп. / М. Д. Машковский. – М. : Новая Волна, 2012. – 1216 с.
2. Non-selective beta blockers inhibit angiosarcoma cell viability and increase progression free- and overall-survival in patients diagnosed with metastatic angiosarcoma / C. N. Amaya // *Oncosci.* – 2018. – Vol. 5, No. 3–4. – P. 109–119. <https://doi.org/10.18632/oncoscience.413>
3. Propranolol sensitizes prostate cancer cells to glucose metabolism inhibition and prevents cancer progression / L. Brohée // *Sci. Rep.* – 2018. – Vol. 8, No. 1. – P. 7050. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25340-9>
4. Effectiveness of propranolol in the treatment of infantile hemangioma beyond the proliferation phase / G. V. Vivas-Colmenares // *Pediatr Dermatol.* – 2015. – Vol. 32, No. 3. – P. 348–352. <https://doi.org/10.1111/pde.12520>
5. Large Doses of Propranolol for the Treatment of Infantile Cephalic and Facial Hemangiomas : A Clinical Report of 38 Cases / K. Jianguo.] // *J. Clin. Pediatr. Dent.* – 2015. – Vol. 39, No. 3. – P. 268–271. <https://doi.org/10.17796/1053-4628-39.3.268>
6. Severe propranolol and ethanol overdose with wide complex tachycardia treated with intravenous lipid emulsion : a case report / J. Jovic-Stosic // *Clin. Toxicol. (Phila).* – 2011. – Vol. 49, No. 5. – P. 426–430. <https://doi.org/10.3109/15563650.2011.583251>
7. Severe suicidal digoxin and propranolol toxicity with insulin overdose / A. Garg // *Ind. J. Crit. Care Med.* – 2014. – Vol. 18, No. 3. – P. 173–175. <https://doi.org/10.4103/0972-5229.128709>
8. Clarke, E. J. C. Isolation and Identification of Drugs in Pharmaceuticals, Body Fluids and Postmortem Material / E. J. C. Clarke. – London : The Pharm. Press, 2011. – 2463 p.
9. Development and validation of an HPLC-UV method for the simultaneous determination of the antipsychotics clozapine, olanzapine and quetiapine, several beta-blockers and their metabolites / M. Silva Gracia, A. Köppl, S. Unholzer, E. Haen // *Biomed. Chromatogr.* – 2017. – Vol. 31, No. 10. <https://doi.org/10.1002/bmc.3968>
10. Recent Developments in HPLC Analysis of β -Blockers in Biological Samples / K. Saleem, I. Ali, U. Kulsum, H. Y. Aboul-Enein // *J. Chromatogr Sci.* – 2013. – Vol. 51, No. 8. – P. 807–818. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmt030>
11. Кокорина, Н. О. Определение лекарственных препаратов в биожидкостях методом высокоэффективной жидкостной хроматографии / Н. О. Кокорина, В. П. Новоселов, М. А. Ханина // *Сибирский мед. журн. (Томск)*. – 2008. – Вып. 2, № 4. – С. 51–53.
12. Барам, Г. И. Хроматограф «Миличром А-02». Определение веществ с применением баз данных «ВЭЖХ-УФ» / Г. И. Барам. – Новосибирск : ЗАО Институт хроматографии, 2005. – 64 с.

REFERENCES

1. Mashkovskiy, M. D. (2012). *Lekarstvennyye sredstva*. Moscow: Novaya Volna, 1216.
2. Amaya, C. N., Perkins, M., Belmont, A., Herrera, C., Nasrazadani, A. (2018). Non-selective beta blockers inhibit angiosarcoma cell viability and increase progression free- and overall-survival in patients diagnosed with metastatic angiosarcoma. *Oncoscience*, 5 (3–4), 109–119. <https://doi.org/10.18632/oncoscience.413>
3. Brohée, L., Peulen, O., Nussgens, B., Castronovo, V., Thiry, M., Colige, A. C., & Deroanne, C. F. (2018). Propranolol sensitizes prostate cancer cells to glucose metabolism inhibition and prevents cancer progression. *Scientific Reports*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25340-9>
4. Vivas-Colmenares, G. V., Bernabeu-Wittel, J., Alonso-Arroyo, V., Matute de Cardenas, J. A., Fernandez-Pineda, I. (2015). Effectiveness of Propranolol in the Treatment of Infantile Hemangioma Beyond the Proliferation Phase. *Pediatric Dermatology*, 32(3), 348–352. <https://doi.org/10.1111/pde.12520>
5. Jianguo, K., Xichun, W., Mingkun, Z., Qiaoling, C., & Wenjin, L. (2015). Large Doses of Propranolol for the Treatment of Infantile Cephalic and Facial Hemangiomas: A Clinical Report of 38 Cases. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 39(3), 268–271. <https://doi.org/10.17796/1053-4628-39.3.268>
6. Jovic-Stosic, J., Gligic, B., Putic, V., Brajkovic, G., & Spasic, R. (2011). Severe propranolol and ethanol overdose with wide complex tachycardia treated with intravenous lipid emulsion: A case report. *Clinical Toxicology*, 49(5), 426–430. <https://doi.org/10.3109/15563650.2011.583251>
7. Garg, A., Panda, S., Dalvi, P., Mehra, S., Ray, S., & Singh, V. (2014). Severe suicidal digoxin and propranolol toxicity with insulin overdose. *Indian Journal of Critical Care Medicine*, 18(3), 173–175. <https://doi.org/10.4103/0972-5229.128709>
8. Clarke, E. J. C. (2011). *Isolation and Identification of Drugs in Pharmaceuticals. Body Fluids and Postmortem Material*. London: The Pharm. Press, 2463.
9. Silva Gracia, M., Köppl, A., Unholzer, S., & Haen, E. (2017). Development and validation of an HPLC-UV method for the simultaneous determination of the antipsychotics clozapine, olanzapine and quetiapine, several beta-blockers and their metabolites. *Biomedical Chromatography*, 31(10), e3968. <https://doi.org/10.1002/bmc.3968>
10. Saleem, K., Ali, I., Kulsum, U., & Aboul-Enein, H. Y. (2013). Recent Developments in HPLC Analysis of β -Blockers in Biological Samples. *Journal of Chromatographic Science*, 51(8), 807–818. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmt030>
11. Kokorina, N. O., Novoselov, V. P., Khanina, M. A. (2008). *Sibirskii meditsinskii zhurnal (Tomsk)*, 2 (4), 51–53.
12. Baram, G. I. (2005). *Khromatograf "Milikhrom A-02". Opredelenie veshchestv s primeneniem baz dannykh «VEZhKh-UF»*. Novosibirsk : ZAO Institut khromatografii, 64 .

Відомості про авторів:

Мамина О. О., д-р фарм. наук, професор кафедри фізичної та колоїдної хімії, Національний фармацевтичний університет.

E-mail: a_mamina@ukr.net. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6673-1488>

Кабачный В. І., д-р фарм. наук, професор, завідувач кафедри фізичної та колоїдної хімії, Національний фармацевтичний університет.

E-mail: vikpharm@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8620-2225>

Томаровська Т. О., канд. фарм. наук, доцент кафедри фізичної та колоїдної хімії, Національний фармацевтичний університет.

E-mail: tomarovskaya63@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1599-2685>.

Information about the authors:

Mamina O. O., Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor of the Department of Physical and Colloid Chemistry, National University of Pharmacy.

E-mail: a_mamina@ukr.net. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6673-1488>

Kabachny V. I., Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Head of the Department of Physical and Colloid Chemistry,

National University of Pharmacy. E-mail: vikpharm@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8620-2225>

Tomarovska T. O., Candidate of pharmaceutical sciences, Assistant professor of the Department of Physical and Colloid Chemistry,

National Pharmaceutical University. E-mail: tomarovskaya63@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1599-2685>.

Сведения об авторах:

Мамина Е.А., д-р фарм. наук, профессор кафедры физической и коллоидной химии, Национальный фармацевтический университет.

E-mail: a_mamina@ukr.net. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6673-1488>

Кабачный В. И., д-р фарм. наук, профессор, заведующий кафедрой физической и коллоидной химии, Национальный фармацевтический университет.

E-mail: vikpharm@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8620-2225>

Томаровская Т. А., канд. фарм. наук, доцент кафедры физической и коллоидной химии, Национальный фармацевтический университет.

E-mail: tomarovskaya63@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1599-2685>.

Надійшла до редакції 25.06.2018 р.