

УДК 615.453.7

<https://www.doi.org/10.34907/JPQAI.2026.74.54.007>

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ РИБОФЛАВИНА МОНОНУКЛЕОТИДА В ПАСТИЛКАХ ЖЕВАТЕЛЬНЫХ ДЛЯ ОЦЕНКИ ОДНОРОДНОСТИ ДОЗИРОВАНИЯ

А.Д. Инкин, аспирант кафедры фармацевтической химии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский химико-фармацевтический университет», г. Санкт-Петербург

aleksandr.inkin@spcpu.ru

Н.А. Криштанова, канд. фарм. наук, доцент кафедры фармацевтической химии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский химико-фармацевтический университет», г. Санкт-Петербург

nadezhda.krishtanova@pharminnotech.com

Е.И. Саканян, доктор фарм. наук, профессор ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский химико-фармацевтический университет», г. Санкт-Петербург

Пастилки жевательные широко применяются в современной медицинской практике. Для контроля качества лекарственных препаратов в этой лекарственной форме требуется количественное определение действующих веществ. Пастилки жевательные, содержащие рибофлавин, нуждаются в разработке методики количественного определения активной фармацевтической субстанции, которая в последующем будет востребована для определения таких показателей качества, как «Однородность дозирования» и тест «Растворение». В качестве такой методики целесообразно использовать методику спектрофотометрического определения, так как она содержит гораздо меньшее число ограничений. Цель работы – разработать и валидировать спектрофотометрическую методику количественного определения рибофлавина моноклеотида в пастилках жевательных, пригодную в дальнейшем для оценки других показателей качества на примере показателя «Однородность дозирования». В качестве объекта исследования использовали пастилки с рибофлавина моноклеотидом. Пробоподготовка заключалась в расплавлении навески пастилок в воде очищенной на водяной бане при температуре 60°C. Оптическую плотность раствора пастилок измеряли при 445 нм; в качестве стандартного раствора использовали стандартный образец рибофлавина моноклеотида. В ходе разработки контролировали pH анализируемых образцов. Валидацию проводили в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи РФ по следующим параметрам: специфичность, линейность

и аналитическая область, правильность, прецизионность (повторяемость и внутрилабораторная сходимость). Поддержание слабокислого pH (4,4–5,0) обеспечивало высокую открываемость (~100%) и стабильность аналитического сигнала; при pH около 7 открываемость снижалась. Растворение пастилок при температуре в диапазоне от 40 до 100°C не влияло на результат количественной оценки рибофлавина моноклеотида в пастилках жевательных. Минимальное время растворения достигалось при ≥60°C. Методика специфична, линейна, правильна и прецизионна. Однородность дозирования соответствовала требованиям ($AV < L1$). Разработанная спектрофотометрическая методика с предложенными условиями пробоподготовки является воспроизводимой, точной и применимой для количественного определения рибофлавина моноклеотида и оценки однородности дозирования в пастилках жевательных на желатиновой основе.

Ключевые слова: пастилки жевательные, рибофлавина моноклеотид, валидация, спектрофотометрия, пробоподготовка лекарственной формы, количественное определение, однородность дозирования

Пастилки жевательные представляют собой удобную лекарственную форму для витаминно-минеральных комплексов и биологически активных добавок, обеспечивая точное дозирование и высокую приверженность терапии [1]. Основой таких пастилок часто являются гидроколлоидные гели на основе желатина или пектина. Технология

получения пастилок проста и может быть реализована как в аптечных условиях (для экстенпорального изготовления), так и в промышленном производстве [2,3].

Ключевыми аспектами контроля качества пастилок жевательных являются количественное определение рибофлавина мононуклеотида и оценка однородности дозирования. Неравномерное распределение действующего вещества между единицами дозирования способно приводить к колебаниям терапевтической эффективности и безопасности. В соответствии с требованиями Государственной фармакопеи Российской Федерации XV издания (ГФ РФ XV изд.) [4] контроль однородности дозирования обязателен для твердых лекарственных форм, включая пастилки. Вместе с тем для пастилок жевательных с рибофлавина мононуклеотидом на основе желатина отсутствуют стандартные методики количественного анализа и оценки однородности дозирования, что обуславливает необходимость их разработки.

Среди возможных методов количественного определения рибофлавина мононуклеотида выделяют высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ), флуоресцентную спектроскопию и спектрофотометрию. ВЭЖХ обеспечивает высокую точность и разделение компонентов, но требует дорогостоящего оборудования, квалифицированного персонала и органических растворителей особой степени чистоты, что ограничивает ее применение. Флуоресцентная спектроскопия также требует больших затрат на материальное обеспечение [5,6].

В качестве метода количественного определения выбрана спектрофотометрия в видимой области (445 нм), поскольку рибофлавин мононуклеотид имеет характерный максимум поглощения в данном диапазоне. Это обеспечивает высокую специфичность и чувствительность без необходимости предварительного разделения компонентов [7]. Метод отличается простотой и экономичностью, не требует специализированного оборудования, кроме спектрофотометра. Кроме того, после растворения пастилок спектрофотометрия позволяет минимизировать влияние желирующей матрицы и получать воспроизводимые результаты.

Цель работы — разработка и валидация спектрофотометрической методики количественного определения рибофлавина мононуклеотида в пастилках жевательных на основе желатина, пригодной для оценки однородности дозирования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служили пастилки жевательные с рибофлавина мононуклеотидом на желатине. Состав пастилок жевательных разработан авторами статьи и включает в себя рибофлавина мононуклеотид в качестве активной фармацевтической субстанции и классическую желатиновую основу с добавлением других вспомогательных веществ, а именно: желатин пищевой П-220 (ОАО «Можелит», Республика Беларусь), глюкозный сироп (ИП Шапаренко, Россия), воду очищенную (ФС.2.2.0020 «Вода очищенная» [4]), глицерин пищевой (ООО «Глицерин солюшен», Россия), кислоту лимонную (ООО «Стандарт», Россия), сукралозу (ИП Семисотов А.В., Россия) и апельсиновый ароматизатор (ИП Корольков А.М., Россия). Витамин В2 был выбран в форме рибофлавина мононуклеотида (ООО «Полисинтез», Россия), поскольку он лучше растворим в воде. Для приготовления стандартного раствора использовали стандартный образец рибофлавина мононуклеотида (Supriya Lifescience, Ltd, Индия).

Технология получения пастилок осуществлялась по следующему принципу: субстанцию рибофлавина и вспомогательные вещества отвешивали на весах SBS-LW-500 (Steinberg Systems, Польша) и AnD HR-250A (A&D Company, Ltd., Япония), нагревали смесь на магнитной мешалке Stegler HS-Pro DT (Shanghai Jingke Scientific Instrument Co., Ltd, Китай), добавляли желатин с 1%-ным раствором лимонной кислоты и заливали в силиконовые формы с последующим охлаждением в холодильнике при температуре от +8 до +15°C. После застывания пастилки вынимали из формы, смазывая их рапсовым маслом (ООО «Агропродукт», Республика Беларусь). Для определения pH применялся pH-метр лабораторный F20-Standard (Mettler-Toledo, LLC, США).

Для количественного определения рибофлавина мононуклеотида в пастилках жевательных использовали метод абсорбционной спектрофотометрии по следующей методике: 1,0 измельченных пастилок (точная навеска) помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавляли 20 мл воды очищенной и нагревали на водяной бане до растворения пастилок. После охлаждения до комнатной температуры раствор в мерной колбе доводили до метки водой очищенной. Полученные образцы переносили в кюветы толщиной 10 мм и измеряли оптическую плотность.

Параллельно готовили стандартный раствор: 0,015 г (точная навеска) рибофлавина монону-

клеотида помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводили до метки водой очищенной, далее брали аликвоту 1 мл полученного раствора, помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводили до метки водой очищенной, затем измеряли оптическую плотность. Определение проводили на спектрофотометре СФ-2000 («ОКБ Спектр», Россия) при длине волны 445 нм. В ходе разработки методики применяли воду очищенную [4], ледяную уксусную кислоту ХЧ (АО «Вектон», Россия) и ацетат натрия (Shanghai Macklin Biochemical Technology Co., Ltd, Китай). В качестве раствора сравнения использовали воду очищенную.

Статистическую обработку данных и валидацию разработанной методики проводили в соответствии с требованиями ГФ РФ XV издания [4]. Обработку результатов осуществляли в электронном виде при помощи программного обеспечения Microsoft Excel 2021.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Рибофлавина мононуклеотид — фосфорилированное производное рибофлавина с изоаллоказиновым хромофором, определяющим интенсивную окраску и характерные спектральные свойства, используемые для количественного анализа. Субстанция, как правило, представляет собой желто-оранжевый кристаллический порошок, фоточувствительный и склонный к деградации при воздействии света; за счет фосфатной группы очень легко растворим в воде и буферных растворах. В ультрафиолетовой и видимой областях наблюдаются три интенсивные полосы поглощения: при 266, 373 и 445 нм. Важной особенностью является чувствительность рибофлавина мононуклеотида к условиям среды: при pH 7 и выше хромофор рибофлавина может переходить в лейкофлавин, что сопровождается снижением оптической плотности и способно приводить к занижению результатов при спектрофотометрическом определении. Кроме того, в щелочной среде, как правило, ускоряются процессы деградации [8, 9]. Указанные факторы необходимо учесть при выборе условий пробоподготовки и стабилизации растворов для разработки методики рибофлавина мононуклеотида в пастилках жевательных.

В литературе и фармакопеех описаны различные подходы к количественному определению рибофлавина мононуклеотида в субстанции, включая

спектрофотометрию [10], флуориметрию [11] и хроматографические методы [12], где pH испытуемого раствора корректировался добавлением растворов ацетата натрия (1,4 г/л) и ледяной уксусной кислоты. Экспериментально нами установлено, что в таких условиях значение pH испытуемого раствора рибофлавина мононуклеотида составляет $4,49 \pm 0,07$, а открываемость — $100,12 \pm 0,56\%$. Без добавления ацетата натрия и ледяной уксусной кислоты pH раствора субстанции увеличился до $6,95 \pm 0,16$, а открываемость снижалась ($98,28 \pm 0,69\%$). Полученные данные подтверждают, что при определении рибофлавина мононуклеотида критически важно поддержание pH испытуемого раствора в слабокислом диапазоне.

Пастилки жевательные как лекарственная форма перед проведением испытаний требовали выполнения пробоподготовки, заключавшейся в расплавлении пастилки на водяной бане (см. раздел «Материалы и методы»). Установлено, что при температуре от 40 до 100°C количественное содержание рибофлавина мононуклеотида в пастилках не изменяется. Вместе с тем отмечено, что минимальное время расплавления достигается при 60°C и более для пастилок на основе желатина.

В рамках проведенных исследований оценивали pH испытуемых растворов пастилок с действующим веществом и плацебо (без рибофлавина мононуклеотида) при использовании двух способов: с добавлением раствора ацетата натрия (1,4 г/л) и ледяной уксусной кислоты (способ 1) и без них (способ 2). В способе 1 значения pH составили: $4,43 \pm 0,02$ (плацебо) и $4,39 \pm 0,05$ (пастилки с рибофлавина мононуклеотидом). В способе 2 pH равен $4,73 \pm 0,24$ и $4,64 \pm 0,02$ соответственно. Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что вспомогательные вещества, входящие в состав пастилок (см. раздел «Материалы и методы»), влияют на pH испытуемого раствора, формируя кислую среду. Это обеспечивает значения pH в слабокислом диапазоне в способе 2, оптимальном для стабильности исследуемого раствора с рибофлавина мононуклеотидом.

На следующем этапе работы мы сравнили условия (способ 1 и способ 2) количественного определения рибофлавина мононуклеотида в пастилках жевательных по метрологическим характеристикам (табл. 1).

Из данных табл. 1 следует, что при $P=95\%$ выполняется условие $F_{\text{выч}} < F(P, f_1, f_2)$, следовательно, выборки можно считать гомоскедастичными.

Таблица 1

**ДАННЫЕ ДЛЯ СРАВНИТЕЛЬНОЙ МЕТРОЛОГИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ МЕТОДИК
КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ РИБОФЛАВИНА МОНОНУКЛЕОТИДА
В ПАСТИЛКАХ ЖЕВАТЕЛЬНЫХ (F=5, P=95%)**

Способ 1					
№	а, г	А	q, г/ЛФ	Метрологические характеристики	
1	1,0046	0,4219	0,0022	$\bar{x} = 0,0022$ г/ЛФ	$\varepsilon = 1,96\%$
2	0,9918	0,4240	0,0022	$\mu = 0,0022$	$t_{\text{выч}} = 0,76$
3	1,0073	0,4226	0,0022	$S = 1,67E-05$	$F(P, f_1, f_2) = 5,05$
4	1,0106	0,4261	0,0022	$RSD = 0,76\%$	$F_{\text{выч}} = 1,73$
5	0,9983	0,4252	0,0022	$t(P, f) = 2,57$	$\delta = 0,17\%$
6	1,0103	0,4271	0,0022	$\Delta x = 4,30E-05$	
Способ 2					
№	а, г	А	q, г/ЛФ	Метрологические характеристики	
1	4,0297	0,3208	0,0021	$\bar{x} = 0,0021$ г/ЛФ	$\varepsilon = 2,71\%$
2	4,0372	0,3243	0,0021	$\mu = 0,0022$	$t_{\text{выч}} = 17,71$
3	4,0127	0,3232	0,0021	$S = 2,20E-05$	$F(P, f_1, f_2) = 5,05$
4	4,0424	0,3229	0,0021	$RSD = 1,06\%$	$F_{\text{выч}} = 1,73$
5	4,0332	0,3225	0,0021	$t(P, f) = 2,57$	$\delta = 5,12\%$
6	4,0012	0,3280	0,0021	$\Delta x = 5,66E-05$	

Вместе с тем статистическое сравнение показало, что методика по способу 2 характеризуется более высокой прецизионностью, что подтверждается меньшими значениями относительного стандартного отклонения (RSD), абсолютной ошибки (Δx) и относительной погрешности (ε). Кроме того, результаты, полученные по способу 2, не содержат выраженной систематической ошибки, в отличие от способа 1 ($\delta > 5\%$). Таким образом, методика по способу 2 является более предпочтительной для количественного определения рибофлавина мононуклеотида в пастилках жевательных.

На следующем этапе проведена валидация разработанной методики по показателям: специфичность, линейность, аналитическая область, правильность и прецизионность (повторяемость и внутрилабораторная прецизионность). Оценку специфичности проводили путем сравнения аналитических сигналов пастилок с содержанием рибофлавина мононуклеотида и без него (плацебо).

Полученные спектры свидетельствуют об отсутствии аналитического сигнала без действующего вещества (**рис. 1**).

Для определения линейности и аналитической области измеряли аналитические сигналы для 6 проб с различными концентрациями испытуемых образцов с рибофлавина мононуклеотидом от 70% до 120% (**рис. 2, табл. 2**).

Количество рибофлавина мононуклеотида в пастилках жевательных было принято за 100%. Линейная зависимость подтверждается коэффициентом корреляции $r \geq 0,99$.

Оценку правильности проводили по определению среднего процента открываемости, величина которого должна быть в пределах $100 \pm 5\%$. В разработанных методиках спектрофотометрического анализа пастилок жевательных процент открываемости находился в пределах от 97,09% до 99,01%. Средняя величина составила 97,67%, что удовлетворяет данному критерию (**табл. 3**).

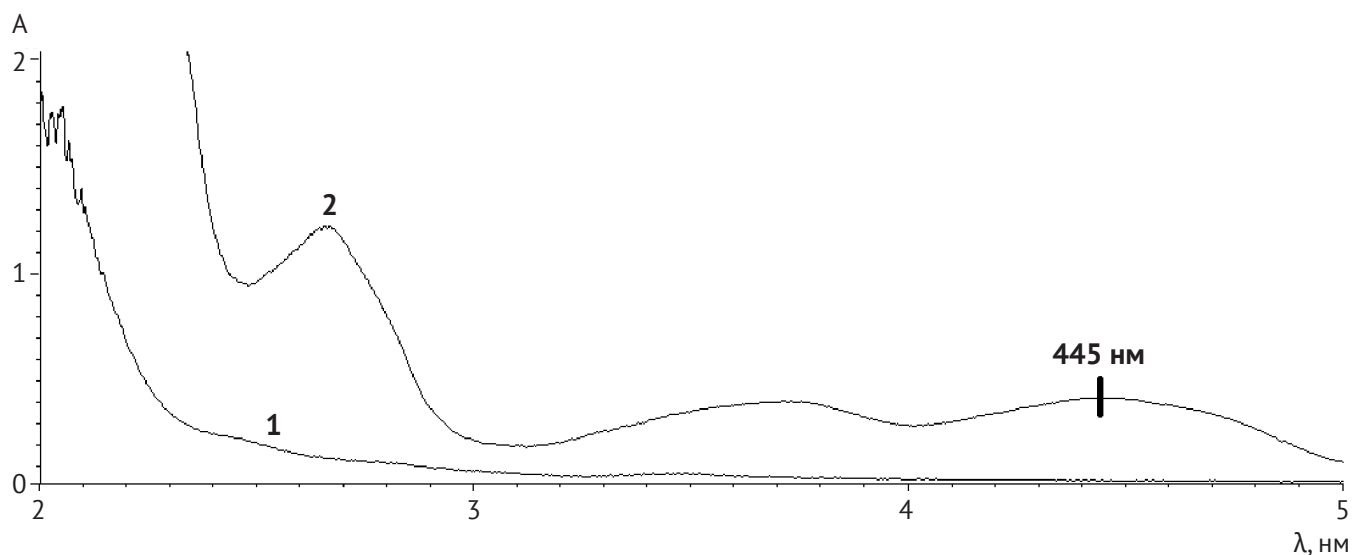


РИС. 1. Спектры поглощения растворов пастилок жевательных без (1) и с рибофлавина мононуклеотидом (2)

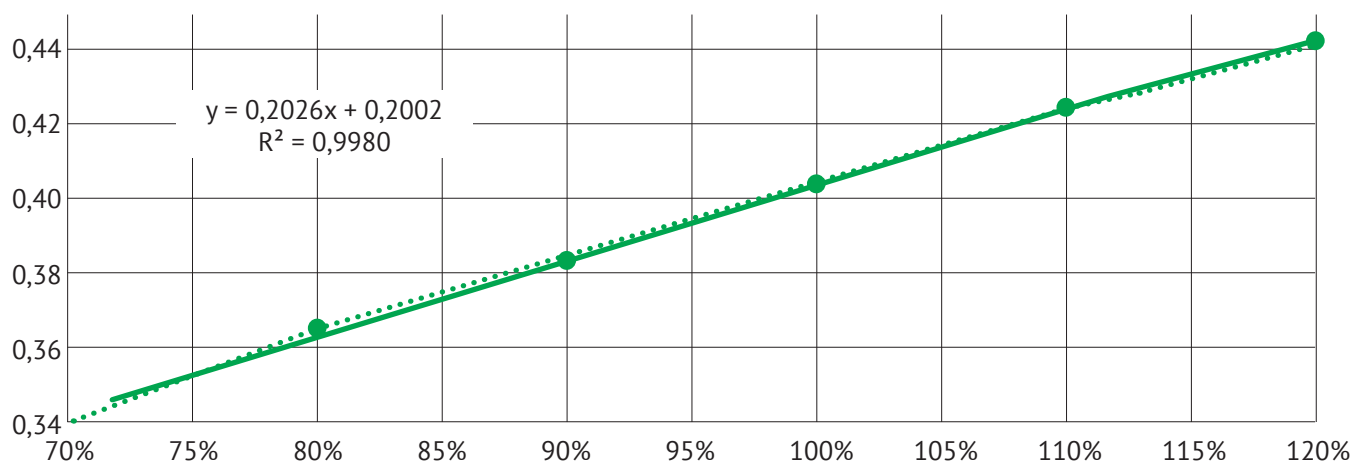


РИС. 2. График линейной зависимости оптической плотности от содержания рибофлавина мононуклеотида в пастилках жевательных

Таблица 2

РЕЗУЛЬТАТЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЛИНЕЙНОСТИ И АНАЛИТИЧЕСКОЙ ОБЛАСТИ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ И ОДНОРОДНОСТИ ДОЗИРОВАНИЯ РИБОФЛАВИНА МОНОНУКЛЕОТИДА В ПАСТИЛКАХ ЖЕВАТЕЛЬНЫХ

Содержание компонента в % от номинального значения	70%	80%	90%	100%	110%	120%
Результаты анализа, г/ЛФ	0,0019	0,0020	0,0021	0,0022	0,0024	0,0024
Обработка результатов						
Характеристика	Результат					
Уравнение прямой	$y = bx + a$					
Угловой коэффициент (b)	0,2026					
Свободный член (a)	0,2002					
Коэффициент корреляции	0,9980					

Таблица 3

**РЕЗУЛЬТАТЫ ОЦЕНКИ ПРАВИЛЬНОСТИ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
И ОДНОРОДНОСТИ ДОЗИРОВАНИЯ РИБОФЛАВИНА МОНОНУКЛЕОТИДА
В ПАСТИЛКАХ ЖЕВАТЕЛЬНЫХ (P=95%, T (P, F) =2,31)**

Образцы	C=80%			C=100%			C=120%		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Рассчитанное количество, г	0,0016	0,0017	0,0018	0,0022	0,0022	0,0023	0,0024	0,0024	0,0024
Введено СО, г	0,0125	0,0125	0,0125	0,0125	0,0125	0,0125	0,0125	0,0125	0,0125
Ожидаемое содержание, г	0,0141	0,0142	0,0143	0,0147	0,0147	0,0148	0,0149	0,0149	0,0149
Полученное содержание, г	0,0145	0,0144	0,0145	0,0149	0,0150	0,0151	0,0152	0,0155	0,0154
Открываемость, %	97,09	99,01	98,45	98,14	98,20	97,53	97,66	96,11	96,87
Метрологические характеристики									
$\bar{x}, \%$	S^2	S	$S_{\bar{x}}$	$RSD_x, \%$	Δx	$\Delta \bar{x}$	$\bar{\epsilon}, \%$		
97,67	0,79	0,8913	0,2971	0,30	2,0590	0,6863	0,70		

Критерий повторяемости оценивали по результатам шести определений содержания рибофлавина моноклеотида в пастилках жевательных, близких к номинальному значению. Результаты оценки повторяемости методики представлены в **табл. 4** соответственно.

Оценку прецизионности проводили в условиях одной лаборатории два химика-аналитика. По результатам шести количественных определений содержания рибофлавина моноклеотида в пастилках расчетное значение критерия Фишера получилось ниже табличного значения, что говорит

о внутрилабораторной воспроизводимости методики. Результаты представлены в **табл. 5**.

Проведена метрологическая оценка валидированной методики. По данным шести параллельных определений для трех серий пастилок жевательных (**табл. 6**) установлено, что относительное стандартное отклонение (RSD) и относительная погрешность среднего результата ($\bar{\epsilon}_x$) не превышают 5%, что свидетельствует о сходимости результатов.

Для пастилок в ГФ РФ XV издания предусмотрено испытание «Однородность дозирования». Для проведения анализа отобрали 10 пастилок

Таблица 4

**РЕЗУЛЬТАТЫ ОЦЕНКИ ПОВТОРЯЕМОСТИ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
И ОДНОРОДНОСТИ ДОЗИРОВАНИЯ РИБОФЛАВИНА МОНОНУКЛЕОТИДА В ПАСТИЛКАХ
ЖЕВАТЕЛЬНЫХ (P=95%, T (P, F) =2,57)**

№	1	2	3	4	5	6
Содержание рибофлавина моноклеотида, г/ЛФ	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022
Метрологические характеристики						
$\bar{x}, \%$	S^2	S	$S_{\bar{x}}$	$RSD_x, \%$	Δx	$\bar{\epsilon}, \%$
0,0022	7,06E-10	2,66E-05	1,09E-05	0,49	6,83E-05	1,27

Таблица 5

**РЕЗУЛЬТАТЫ ОЦЕНКИ ВНУТРИЛАБОРАТОРНОЙ ПРЕЦИЗИОННОСТИ МЕТОДИКИ
КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ И ОДНОРОДНОСТИ ДОЗИРОВАНИЯ
РИБОФЛАВИНА МОНОНУКЛЕОТИДА В ПАСТИЛКАХ ЖЕВАТЕЛЬНЫХ**

Определения	Аналитик № 1		Аналитик № 2	
№	A	q, г/ЛФ	A	q, г/ЛФ
1	0,4277	0,0022	0,4077	0,0021
2	0,3958	0,0020	0,3960	0,0020
3	0,3971	0,0020	0,4147	0,0021
4	0,3957	0,0020	0,4477	0,0023
5	0,4275	0,0022	0,4438	0,0023
6	0,4245	0,0021	0,3951	0,0020
$\bar{x}$, г/ЛФ	0,0021		0,0021	
S	3,77E-05		5,13E-05	
$S_{\bar{x}}$	1,26E-05		1,71E-05	
S^2	1,42E-09		2,63E-09	
RSD _x , %	0,60		0,80	
Критерий Фишера				
Табличный (P=0,95; f ₁ =5; f ₂ =5)	5,05			
Расчетный	1,85			

Таблица 6

**РЕЗУЛЬТАТЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ РИБОФЛАВИНА МОНОНУКЛЕОТИДА
В ПАСТИЛКАХ ЖЕВАТЕЛЬНЫХ**

Серия № 1					
№	a, г	A	q, г/ЛФ	Метрологические характеристики	
1	0,9927	0,4246	0,0022	$\bar{x} = 0,0022$ г/ЛФ	$\varepsilon = 1,76\%$
2	1,0024	0,4289	0,0022	$S^2 = 2,33E-10$	$\bar{\varepsilon}_x = 0,72\%$
3	0,9961	0,4259	0,0022	$S = 1,53E-05$	
4	1,0044	0,4258	0,0022	RSD = 0,68%	
5	0,9918	0,4173	0,0022	$\Delta x = 3,92E-05$	
6	0,9983	0,4266	0,0022	$\Delta \bar{x} = 1,60E-05$	

Окончание табл. 6

Серия № 2					
№	а, г	А	q, г/ЛФ	Метрологические характеристики	
1	0,9960	0,4237	0,0022	$\bar{x} = 0,0022$ г/ЛФ	$\varepsilon = 3,06\%$
2	1,0092	0,4308	0,0022	$S^2 = 7,02E-10$	$\bar{\varepsilon}_x = 1,25\%$
3	0,9965	0,4364	0,0023	$S = 2,65E-05$	
4	0,9967	0,4242	0,0022	$RSD = 1,19\%$	
5	1,0017	0,4250	0,0022	$\Delta x = 6,81E-05$	
6	1,0119	0,4353	0,0022	$\Delta \bar{x} = 2,78E-05$	
Серия № 3					
№	а, г	А	q, г/ЛФ	Метрологические характеристики	
1	0,9893	0,416	0,0021	$\bar{x} = 0,0022$ г/ЛФ	$\varepsilon = 4,11\%$
2	0,9888	0,4142	0,0021	$S^2 = 1,2E-09$	$\bar{\varepsilon}_x = 1,68\%$
3	0,9804	0,4281	0,0022	$S = 3,46E-05$	
4	0,9839	0,4162	0,0022	$RSD = 1,60\%$	
5	0,9835	0,4132	0,0021	$\Delta x = 8,90E-05$	
6	0,9707	0,4073	0,0021	$\Delta \bar{x} = 3,63E-05$	

Таблица 7

**ОДНОРОДНОСТЬ ДОЗИРОВАНИЯ РИБОФЛАВИНА МОНОНУКЛЕОТИДА
В ПАСТИЛКАХ ЖЕВАТЕЛЬНЫХ**

№	w(i), г	А	В, г/ЛФ	А, %	x(i), %	Метрологические характеристики
1	0,9741	0,4177	0,0022	98,01	98,76	$\bar{x} = 96,55\%$
2	0,956	0,4058	0,0021	95,22	94,17	$S = 2,49$
3	0,9641	0,4071	0,0021	95,53	95,27	$AV = 7,92$
4	0,9477	0,4057	0,0021	95,20	93,33	$RSD = 2,58\%$
5	0,9601	0,4175	0,0022	97,97	97,30	
6	0,9532	0,4145	0,0021	97,26	95,90	
7	0,9818	0,4247	0,0022	99,66	101,21	
8	0,978	0,4177	0,0022	98,01	99,16	
9	0,9489	0,4138	0,0021	97,10	95,31	
10	0,9672	0,4051	0,0021	95,06	95,11	

жевательных; для каждой выполняли пробоподготовку по описанной выше методике и далее проводили количественное определение методом спектрофотометрии. Содержание рибофлавина мононуклеотида соответствовало норме допустимых отклонений ($AV < L1$). Результаты статистической обработки данных представлены в **табл. 7**.

ВЫВОДЫ

Нами разработана и валидирована методика количественного определения рибофлавина мононуклеотида в пастилках жевательных с использованием абсорбционной спектрофотометрии при длине волны 445 нм. Предложенная спектрофотометрическая методика с контролем условий пробоподготовки и pH испытуемых растворов является воспроизводимым, специфичным и точным инструментом для контроля качества пастилок жевательных с рибофлавина мононуклеотидом. Данная методика может быть использована для оценки однородности дозирования, а также проведения теста «Растворение» для соответствующих пастилок жевательных.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Гундорина А.Д., Криштанова Н.А. Лекарственная форма пастилки: понятие и возможности применения // *Инновации в здоровье нации*. – 2019. – №7. – С. 147–149.
2. Чикина И.В., Онегин С.В., Парфенов А.А., Трубников А.А. Современное экстемпоральное фармацевтическое производство: проблемы и перспективы // *Пациентоориентированная медицина и фармация*. – 2024. – №2. – С. 43–50. DOI: 10.37489/2949-1924-0049.
3. Vojvodic C.A., Bunic M., Mandura J.A. et al. Physicochemical and Sensory Stability Evaluation of Gummy Candies Fortified with Mountain Germander Extract and Prebiotics // *Polymers*. – 2024. – №16. – P. 259–283. DOI: 10.3390/polym16020259.
4. Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания [Электронный ресурс] / Режим доступа: https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-1/validatsiyaanaliticheskikh-metodik/?sphrase_id=683850 (дата обращения: 24.11.2024).
5. Чилик Ю.А., Болотина Е.А., Дубинецкая Н.Е., Чернявский Е.А. Разработка и валидация методики количественного определения рибофлавин-5-фосфата натрия в мультивитаминном комплексе методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // *Universum: химия и биология*. – 2024. – №11. – С. 30–40. DOI: 10.32743/UniChem.2024.125.11.18361.
6. Hui Y., Xue X., Xue S.Z. Study on Fluorescence Spectra of Thiamine and Riboflavin // *MATEC Web of Conferences*. – 2016. – №63. – P. 3–13. DOI: 10.1051/mateconf/20166303013.
7. Береснева Т.П., Загоскин М.А., Фокина А.И.. Поиск методики определения витамина B2 оптическими методами анализа // *Экология родного края: проблемы и пути их решения*. – 2020. – №15. – С. 81–83.
8. Kasimova G.K., Astanov S.K., Kurtaliev E.N., Nizomov N.N. Structure of self-assembled riboflavin molecules in solutions // *Journal of Molecular Structure*. – 2019. – №1185. – P. 107–111. DOI: 10.1016/j.molstruc.2019.02.084.
9. You J., Pan X., Yang C. et al. Microbial production of riboflavin: Biotechnological advances and perspectives // *Metabolic Engineering*. – 2021. – №68. – P. 46–58. DOI: 10.1016/j.ymben.2021.08.009.
10. Riboflavin sodium phosphate // *European Pharmacopoeia*. 11th ed. – Strasbourg: Council of Europe, 2023. P. 3878–3880. Monograph 01/2008:0786.
11. Riboflavin 5'-Phosphate Sodium // *United States Pharmacopeia and National Formulary (USP 46-NF 41)*. 46th ed. Rockville (MD): United States Pharmacopeial Convention, 2021.
12. Riboflavin Sodium Phosphate // *Pharmacopoeia of the People's Republic of China*. 2020 ed. – Beijing: China Medical Science Press, 2020. P. 1423–1424.

DEVELOPMENT OF A METHOD FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF RIBOFLAVIN MONONUCLEOTIDE IN CHEWABLE PASTILLES TO ASSESS DOSAGE UNIFORMITY

A.D. Inkin, N.A. Krishtanova, E.I. Sakanjan

Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, Saint Petersburg, Russia

Chewable pastilles are widely used in modern medical practice. Quality control of drugs in this dosage form requires quantitative determination of active ingredients. Chewable pastilles containing riboflavin require the development of a method for the quantitative determination of the active pharmaceutical ingredient, which will subsequently be used to determine quality indicators such as "Dosage Uniformity" and the "Dissolution" test. Spectrophotometric determination is advisable for this method, as it has significantly fewer limitations. The objective of this study was to develop and validate a spectrophotometric method for the quantitative determination of riboflavin mononucleotide in chewable pastilles, suitable for the subsequent assessment of other quality indicators, using "Dosage Uniformity" as an example. Pastilles containing riboflavin mononucleotide were used as the test subject. Sample preparation consisted of melting a sample of pastilles in purified water in a water bath at 60°C. The optical density of the pastilles solution was measured at 445 nm; a standard sample of riboflavin mononucleotide was used as a standard solution. The pH of the analyzed samples was controlled during development. Validation was performed according to the requirements of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation for the following parameters: specificity, linearity and analytical range, accuracy, precision (repeatability and intralaboratory precision). Maintaining a slightly acidic pH (4.4–5.0) ensured high recovery (~100%) and stability of the analytical signal; at a pH of about 7, recovery decreased. Dissolution of pastilles at 40–100°C did not affect the content of riboflavin mononucleotide. The minimum dissolution time was achieved at ≥60°C. The method is specific, linear, accurate, and precise. Dosage uniformity met the requirements ($AV < L1$). The developed spectrophotometric method with the proposed sample preparation conditions is reproducible, accurate and applicable for the quantitative determination of riboflavin mononucleotide and assessment of dosing uniformity in gelatin-based chewable pastilles.

Keywords: chewable pastilles, riboflavin mononucleotide, validation, spectrophotometry, sample preparation of dosage form, quantitative determination, dosage uniformity