

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
Національний медичний університет імені О. О. Богомольця
Фармацевтичний факультет
Спеціальність – 226 «Фармація, промислова фармація»
Кафедра аналітичної, фізичної та колоїдної хімії

КВАЛІФІКАЦІЙНА ВИПУСКНА РОБОТА
КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ БЕНЗОЙНОЇ КИСЛОТИ В ОРАЛЬНИХ
РОЗЧИНАХ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНИМ МЕТОДОМ

Виконала: студентка 6-го курсу, групи
882А фармацевтичного факультету

Колесник Ірина Володимирівна

Керівник:

доцент кафедри аналітичної, фізичної
та колоїдної хімії, к.х.н., доцент

Тимошук Ольга Борисівна

Рецензент:

доцент кафедри ліків та лікарської
токсикології, к.пед.н., доцент

Головченко Оксана Іванівна

Київ – 2023

ЗМІСТ

	<i>ст.</i>
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	4
ОСНОВНА ЧАСТИНА	5
ВСТУП	5
Розділ 1. Властивості бензойної кислоти	7
1.1. Фізико-хімічні властивості бензойної кислоти	7
1.2. Добування бензойної кислоти	9
1.3. Застосування бензойної кислоти	9
1.4. Фармакологічна дія	11
Розділ 2. Матеріали та методи	13
2.1. Об'єкт дослідження	13
2.2. Посуд та обладнання	14
2.3. Реактиви	14
2.4. Методика та умови спектрофотометричного аналізу	15
2.4.1. <i>Вимоги до стандартних розчинів</i>	17
2.4.2. <i>Вимоги до побудови калібрувального графіка</i>	17
2.4.3. <i>Вимоги до вимірювання зразка</i>	17
2.4.4. <i>Вимоги до розрахунку</i>	18
Розділ 3. Результати та їх обговорення	19
3.1. Побудова калібрувального графіка	19
3.2. Результати визначення вмісту бензойної кислоти у досліджуваних лікарських засобах	21
3.3. Валідація методики	22
3.3.1. <i>Перевірка специфічності методики</i>	22
3.3.2. <i>Перевірка лінійності методики</i>	23

<i>3.3.3. Перевірка робастності методики</i>	23
<i>3.3.4. Перевірка правильності методики</i>	24
3.4. Порівняльний аналіз методик кількісного визначення	24
ВИСНОВКИ	25
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	26
ДОДАТКИ	29
SUMMARY	42

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

BP – British Pharmacopoeia

JP – Japanese Pharmacopoeia

Ph Eur – European Pharmacopoeia

USP – United States Pharmacopoeia

CAS №65–85–0 – Реєстраційний номер відповідно до CAS REGISTRY

(режим доступу до ресурсу: https://commonchemistry.cas.org/detail?cas_rn=65-85-0)

ДФУ – Державна фармакопея України

ЛЗ – лікарський засіб

М – молярність

мг – міліграм

мл – мілілітр

нм – нанометр

ОСНОВНА ЧАСТИНА

ВСТУП

Бензойна кислота має тривалу історію застосування. Вона широко використовується в косметиці, харчових продуктах (як речовина, що здатна гальмувати, уповільнювати або зупиняти процес бродіння, підкислення чи інше псування харчових продуктів) і фармацевтиці (як речовина, що спроможна пригнічувати здатність до росту і розмноження грибів) [1].

Проте, вона може чинити шкідливий вплив на здоров'я людини. Повідомлялося про подразнення очей, шкіри, слизової шлунку тощо. Були зафіксовані незначні алергічні реакції. Також відомі випадки негативного впливу лікарських засобів, які містять бензойну кислоту, на здоров'я астматиків. Мінімальна летальна доза бензойної кислоти для людини становить 500 мг/кг маси тіла [1].

Спектрофотометрія – це найбільш поширений інструментальний метод аналізу, застосування якого засноване на визначенні та оцінці спектру поглинання досліджуваної речовини. За допомогою цього спектрофотометрії здійснюють ідентифікацію різноманітних речовини в лікарських препаратах. Окрім цього, метод дозволяє визначати їхній склад, будову та кількісний вміст у забарвлених і безбарвних розчинах, який можна проводити у широкому діапазоні довжин хвиль. Важливою особливістю спектрофотометрії є її простота, низька вартість, доступність і точність.

Актуальність теми. Пошук нових перспективних методик кількісного визначення бензойної кислоти.

Мета і завдання досліджень. Метою досліджень було розробити спектрофотометричну методику кількісного визначення бензойної кислоти у оральних лікарських засобах.

Для досягнення поставленої мети були передбачені наступні завдання:

– аналіз фармакопейних та аналітичних методик ідентифікації та кількісного визначення бензойної кислоти;

– розробити методику спектрофотометричного кількісного визначення бензойної кислоти в оральних лікарських засобах;

– провести валідацію методики.

Методи дослідження. Для досягнення поставленої мети досліджень були використані емпіричні (спостереження, порівняння, вимірювання, експеримент), комплексні (абстрагування, аналіз і синтез) і теоретичні методи.

Новизна та значення одержаних результатів. Оцінка та підтвердження ефективності застосування однокомпонентного однохвильового аналізу є пошуком альтернативного методу кількісного визначення бензойної кислоти в оральних лікарських засобах.

Апробація результатів. Результати роботи були апробовані на VI міжнародній науково-практичній конференції «KYIVLVIVPHARMA-2023. Pharmaceutical technology and pharmacology in ensuring active longevity» (Додаток 6).

Публікації. Публікації відсутні.

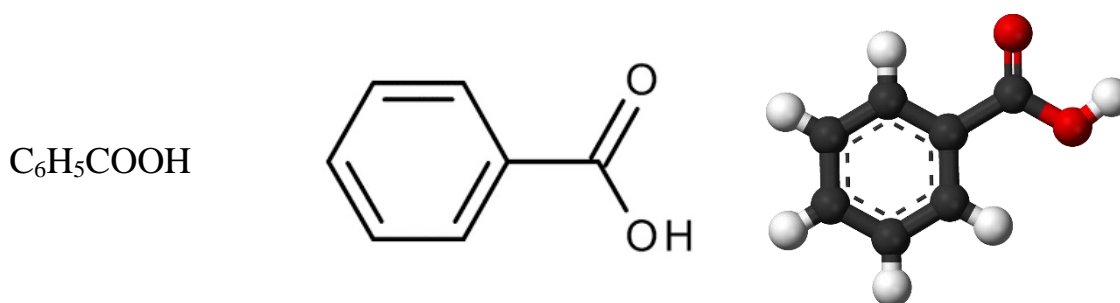
Структура роботи. Робота написана згідно із затвердженим Вченою радою Національного медичного університету імені О.О. Богомольця Положенням «Про порядок підготовки та захисту випускної кваліфікаційної роботи за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація» у Національному медичному університеті імені О.О. Богомольця» та складається з наступних структурних елементів:

- загальна кількість сторінок – 43 ст.;
- основна частина складається зі вступу, 3-х розділів та висновків;
- кількість додатків – 6 додатків;
- кількість джерел використаної літератури – 25 посилань.

Розділ 1. Властивості бензойної кислоти

Бензойна кислота (Кислота бензойна (ДФУ), Acidum benzoicum (Ph Eur), Benzoic acid (BP, USP, JP, CAS №65–85–0), Benzenecarboxylic acid, benzeneformic acid, E 210, phenylcarboxylic acid) – це ароматична одноосновна карбонова кислота. Її назва походить від назви речовини, з якої була отримана французом Блезом де Віженером – бензойної смоли *Resina Benzoe* у 1608 році. Хімічна формула була встановлена у 1832 році Фрідріхом Велером та Юстусом фон Лібіхом [2-4].

Бензойна кислота



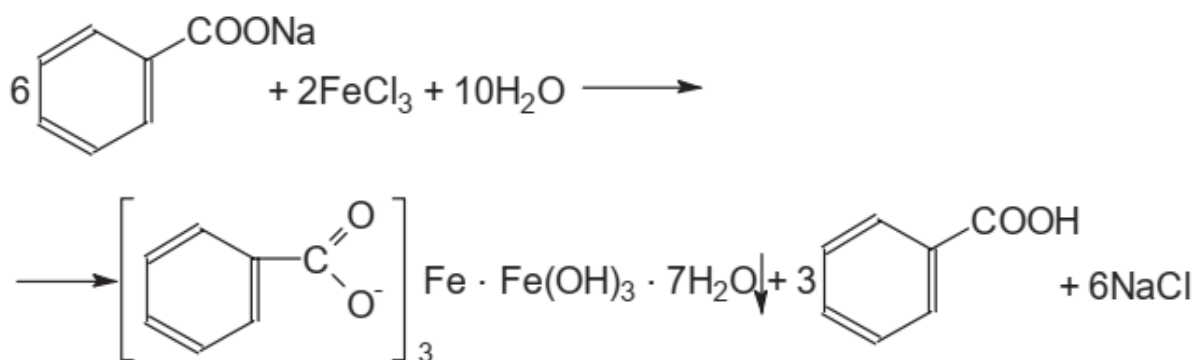
1.1. Фізико-хімічні властивості бензойної кислоти

За стандартних умов, бензойна кислота – біла тверда кристалічна речовина. Вона є малорозчинною у холодній воді, розчинною у гарячій (киплячій) і добре розчинною в етиловому та метиловому спиртах, у діетиловому етері, хлороформі, тетрахлоретані. Її молярна маса – 122,1213 г/моль; густина – 1,32 г/см³. Температура плавлення сягає 122,4 °С, а кипіння – 249,2°С [2, 5-7].

Хімічні властивості бензойної кислоти є типовими для карбонових кислот. Їй притаманне утворення естерів, амідів тощо [6, 8, 9]. Вона є стійка до дії повітря, перманганатів, гіпохлоритів та деяких інших окисників. При нагріванні понад 220 °С – взаємодіє із солями міді (II) з утворенням фенолу та його похідних, а при нагріванні до 370 °С з каталізатором (мідний або

кадмієвий порошок) відбувається декарбоксилювання. Вступає у реакції гідратування: у присутності каталізатора оксиду цирконію – до бензальдегіду, а у присутності благородних металів – до утворення циклогексанкарбонової кислоти (гексагідробензойної). Хлорування сполуки дає продуктом переважно 3-хлоробензойну кислоту. Нітрування і сульфування відбувається аналогічно за третім положенням. В наслідок взаємодії з аміаком утворюється анілін.

Характерною якісною реакцією є реакція з ферум (III) хлоридом та утворення жовторожевого осаду основного феруму (III) бензоату:



Альтернативною є реакція з розчином аргентуму нітрату, у результаті якої утворюється осад білого кольору.

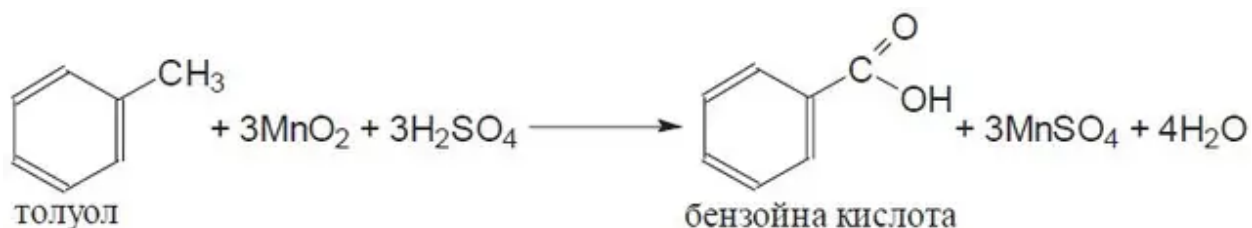
Кількісне визначення як правило здійснюється шляхом прямого титрування її спиртового розчину розчином NaOH відомої концентрації; внаслідок цієї реакції утворюється сіль сильної основи і слабкої кислоти, аніон якої $\text{C}_6\text{H}_5\text{COO}^-$ (A^-) за теорією Бренстеда і Лоурі є слабкою основою, тому в точці еквівалентності рН розчину більше 7 [5-7, 10, 11]:



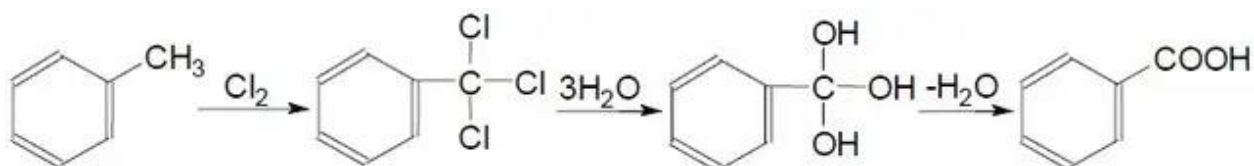
1.2. Добування бензойної кислоти

Вперше бензойна кислота була отримана методом сублимації, але її практичне добування здійснюється кількома способами [5-7]:

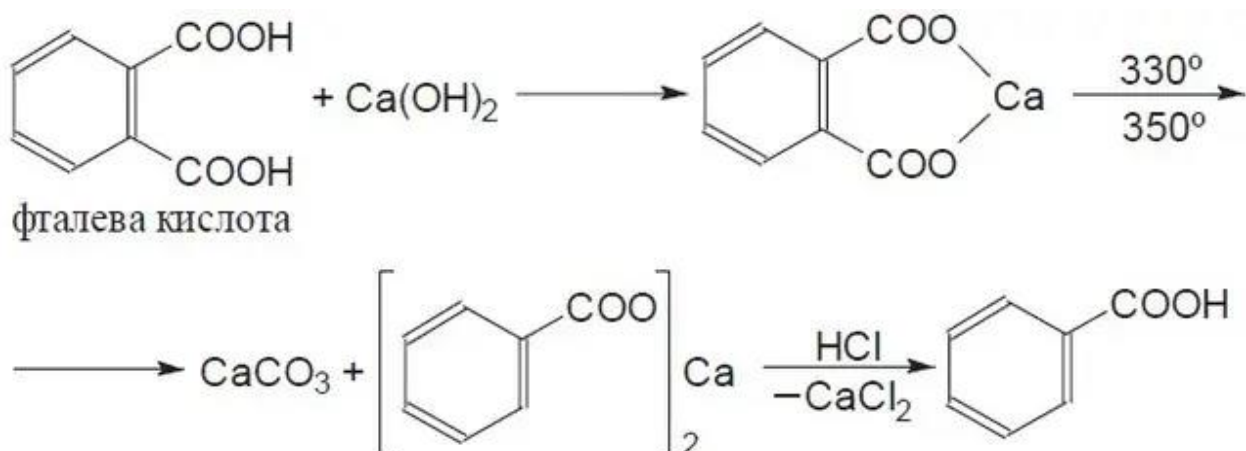
а) окислення толуолу:



б) хлорування толуолу з подальшим гідролізом бензотрихлориду:



в) декарбоксілюванням фталевої кислоти::



1.3. Застосування бензойної кислоти

Бензойна кислота є досить поширеною в природі. Так, невеликі її кількості виявляються у ягодах (журавлина, чорниці, брусниця), горіхах, меду, деяких ефірних оліях (гвоздичній, толуанському і перуанському бальзамах). У результаті ферментації вона утворюється в сирі, кислому молоці, кефірі, йогуртах, яблуках (після їх ураження грибком *Nectria galligena*). Крім того,

бензойна кислота виявляється і у тканинах тваринного походження (переважно це стосується рослино- та всеїдних тварин) [4].

Після виявлення і вивчення у 1875 році Ернстом Леопольдом Зальковським антигрибкових властивостей бензойна кислота набула широкого застосування як консервант і харчова добавка, оскільки вона не змінює смак продуктів [5].

Як консервант і харчова добавка бензойна кислота відома під назвою E210 [2, 12, 13]. У харчовій промисловості добавка E 210 використовується при виготовленні таких продуктів, як соуси, пасти, кетчупи, супи, пюре, пульпи, желе, мармелад, м'ясна і рибна продукція, безалкогольні та алкогольні напої, консервовані овочі та фрукти. Проте, її використання чітко регулюється відповідними нормами та чіткими значеннями гранично допустимої концентрації у харчових продуктах [14]:

- кондитерські вироби – 1500 мг/кг;
- зацукровані фрукти і овочі – 1000 мг/кг;
- солодкі сиропи – 1500 мг/кг;
- джеми, желе, мармелади – 500 мг/кг;
- напівконсервовані рибопродукти і продукти з ікри – 2000 мг/кг;
- рибні пресерви, сурімі, рибний фарш – 2000 мг/кг;
- рибні продукти (приготовані ракоподібні і молюски) – 1000 мг/кг;
- риба солена і сушена – 200 мг/кг;
- заливні страви з риби – 1000 мг/кг;
- емульговані соуси з вмістом жиру не менше 60% – 1000 мг/кг;
- приправи – 1000 мг/кг;
- поливи – 500 мг/кг;
- желейні оболонки м'ясопродуктів – 1000 мг/кг;
- обробка поверхні м'ясних виробів – за потребою;
- ароматизовані напої – 300 мг/кг;
- концентрати чаю, фруктів і трав'яних настоїв – 600 мг/кг;
- пиво, алкогольні напої з вмістом спирту менше 15% – 200 мг/кг;

- ферментоване молоко – 300 мг/кг;
- дієтичні харчові продукти, призначені для спеціальних медичних цілей – 1500 мг/кг;
- консерви овочеві – 2000 мг/кг;
- оливки і продукти на їхній основі – 500 мг/кг.

Крім того, бензойна кислота є важливим компонентом хімічної промисловості. Вона застосовується у виробництві капрактоламу, віскози, фенолу, лакофарбових матеріалів (зокрема лаків та інших барвників на алкідній основі) та інших сполук [6].

Основною небезпекою є потенційна шкода довкіллю у разі викиду, а тому її поширення обмежується і регулюється.

1.4. Фармакологічна дія

Бензойна кислота та її солі широко застосовують у фармацевтичній промисловості для виробництва протигрибкових препаратів, мазей від корости. А спеціальні ванночки для стоп з застосуванням органічного з'єднання позбавляють від надмірної пітливості, грибка ніг. Крім цього, бензойну кислоту додають в сиропи від кашлю, оскільки вона має відхаркувальну властивість і розріджує мокротиння [2, 5, 17, 18].

Характеризується бактеріостатичною дією проти більшості різновидів грампозитивних бактерій (активна концентрація 100 мг/мл) та майже не виявляє активності проти грамнегативних бактерій (активна концентрація 1600 мг/мл). Виявляє помітну дію проти дріжджів. Фунгіцидна активність посилюється за наявності пропіленгліколю [2, 10, 11, 17, 18].

Найбільшу антибактеріальну активність виявляє при рН 2,5–4,5. У деяких фармацевтичних мазях бензойну кислоту застосовують як протигрибковий інгредієнт. Антибактеріальні властивості, які залежать від рН розчину, виявляє лише недисоційована бензойна кислота. Найбільшу

активність виявляє при зниженні рН <4,5 і майже втрачає свою активність при рН >5,0 [5, 19].

Механізм дії бензойної кислоти полягає в тому, що вона блокує ферменти в одноклітинних організмах, уповільнюючи в них обмін речовин, і, як наслідок, пригнічує ріст цвілі, дріжджів та деяких бактерій. Дія кислоти починається з абсорбції її клітиною [5]. При попаданні в організм бензойна кислота знешкоджується в печінці, де метаболізується бутират-КоА-лігазою в проміжний продукт бензоїл-КоА, який потім метаболізується гліцин-N-ацилтрансферазою в гіпурову кислоту, яка в свою чергу виводиться із сечею. Дозволена добова доза її становить *5 мг/кг*, що складає 350 мг в день на людину масою 70 кг. Перевищення дозволеної добової дози негативно впливає на печінку і нирки [15, 20]. Крім того, існують обґрунтовані побоювання, що бензойна кислота і бензоати можуть вступати у реакцію з аскорбіновою кислотою (E300) та утворювати невеликі кількості вільного бензолу – сильного канцерогену [16, 20].

Розділ 2. Матеріали та методи

Мета досліджень полягала у розробці альтернативної методики кількісного визначення бензойної кислоти у оральних лікарських засобах на основі однокомпонентного однохвильового аналізу.

2.1. Об'єкт дослідження

Об'єктом дослідження слугували оральні лікарські засоби, позначені як «ЛЗ №1» та «ЛЗ №2», які мають державну реєстрацію [21] і у своєму складі містять бензойну кислоту.

Обидва засоби мають подібну лікарську форму – краплі оральні, а також не потребують рецепту для продажу.

ЛЗ №1 – це комплексний гомеопатичний препарат, який використовується проти хронічних запальних захворюваннях нирок. Основні фізико-хімічні властивості – прозорий або опалесціючий, криваво-червоного кольору розчин з запахом кактуса та смаком спирту.

Протипоказаннями його застосування є підвищена чутливість до будь-яких інгредієнтів лікарського засобу. Щодо цього лікарського засобу відсутні відомості щодо взаємодії з іншими лікарськими засобами та інших видів взаємодії.

ЛЗ №2 – це комплексний гомеопатичний препарат, який використовується для комплексного лікування порушень периферичного кровообігу: діабетична ангіопатія судин нижніх кінцівок II-III ступеня, варикозне розширення вен, у тому числі гемороїдальних вузлів, облітеруючий ендартеріт нижніх кінцівок та їх гангренозний стан, постінсультні та постінфарктні стани, пролежні, дисциркуляторна енцефалопатія. Основні фізико-хімічні властивості – від прозорого до опалесцентного світло-жовтого кольору розчин із запахом етанолу.

Протипоказаннями його застосування є підвищена чутливість до рослин родини складноцвітих (у т.ч. *Arnica*, *Echinacea*), родини плюща отруйного, омели білої або до інших компонентів препарату; туберкульоз, лейкемія, онкологічні захворювання, запальні захворювання сполучних тканин (колагенові хвороби, у т.ч. ревматизм, системний червоний вовчак), аутоімунні захворювання, розсіяний склероз, захворювання системи крові, СНІД, ВІЛ інфекція, імуносупресія або імунодефіцит різної етіології та інші хронічні вірусні захворювання; хронічні гранулематозні захворювання та аутоімунопатії, гіпертиреоз із незбалансованим метаболічним порушенням; гострі запальні та гарячкові стани. Також його не слід застосовувати при порушеннях функції щитовидної залози без консультації з лікарем. Для цього лікарського засобу є застереження щодо взаємодії з іншими лікарськими засобами та інших видів взаємодії, оскільки внаслідок імуностимулюючої дії ехінацея, яка є одним із компонентів, може зменшувати ефективність препаратів, що чинять імунодепресивну дію.

2.2. Посуд та обладнання

Аналіз досліджуваних лікарських засобів здійснювали за допомогою наступного обладнання:

- спектрофотометр ULAB 108 UV (додаток 3);
- ваги аналітичні Radwag AS 220.R2 (додаток 4);
- мірні колби, циліндри і піпетки класу точності А (додаток 5).

2.3. Реактиви

Для аналізу досліджуваних лікарських засобів були використані наступні реактиви:

- етанол, 96%
- бензойна кислота кристалічна (ч. д. а.)

2.4. Методика та умови спектрофотометричного аналізу

Спектрофотометрія – метод аналізу, який ґрунтується на визначенні спектра поглинання або вимірюванні світлопоглинання при певній довжині хвилі, яка відповідає максимуму кривої поглинання досліджуваної речовини. Теоретичним обґрунтуванням спектрофотометрії є закон Бугера-Ламберта-Бераб якій описує процес ослаблення інтенсивності променя світла після його проходження через зразок або після відбиття від поверхні певного зразка, що відбувається внаслідок поглинання світла, яке є прямо пропорційним довжині шляху променя, що проходить крізь зразок, і концентрації абсорбуючого зразка. Таким чином, цей метод широко застосовується для оцінки досліджуваної речовини та визначення її якісного та кількісного складу [2].

Застосування спектрофотометрії в ультрафіолетовій і видимій областях спектра засноване на поглинанні електромагнітного випромінювання сполуками, що містять хромофорні і ауксохромні групи. Поглинання випромінювання в цих областях пов'язане зі збудженням електронів орбіталей основного стану та переходами у збуджений стан.

Спектрофотометричний аналіз здійснюється за допомогою спеціалізованого приладу – спектрофотометра. Основною характеристикою спектрофотометра є його здатність пропускати через досліджуваний зразок світловий потік будь-якої необхідної довжини хвилі та проводити фотометричні вимірювання, скануючи (переглядаючи) весь діапазон довжин хвиль як видимого світла, так і ультрафіолетового. До основних вузлів спектрофотометра (Рис. 1) належить: джерело світла (переважно вольфрамова, воднева або дейтерієва лампи); кювети з кварцового скла; диспергуючий елемент (призми або дифракційні решітки) [22, 23].

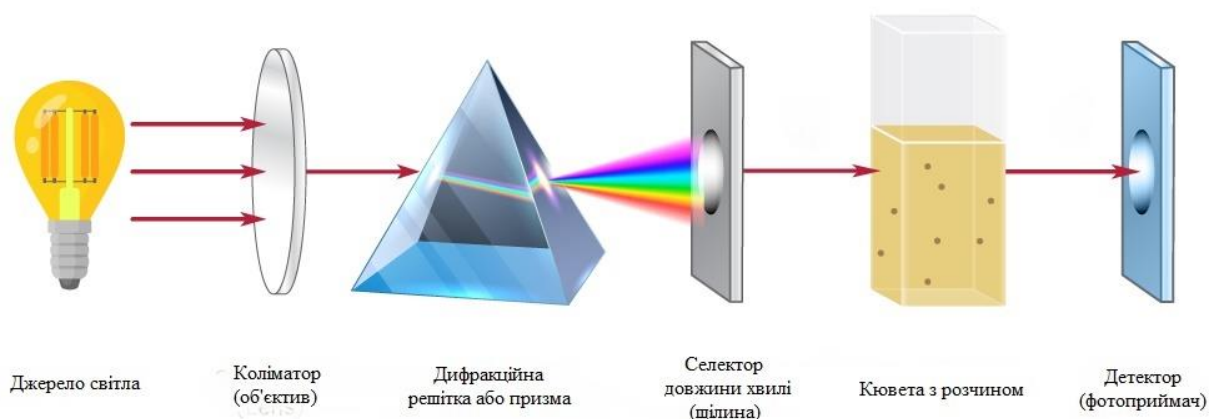


Рис. 1. Схема розташування функціональних блоків спектрофотометра

Для кількісного визначення бензойної кислоти у досліджуваних лікарських засобах використовували однокомпонентний однохвильовий аналіз – кількісне визначення одного з компонентів лікарського засобу за допомогою вимірювання оптичної густини розчину випробуваного зразка за однієї аналітичної довжини хвилі [22]. Такий аналіз здійснювали методом стандарту.

Однокомпонентний однохвильовий аналіз методом стандарту полягає у вимірюванні аналітичної довжини хвилі оптичних густин розчину випробуваного зразка і розчину порівняння з відомою концентрацією та розрахунку концентрації аналізованого компонента згідно з рівнянням (1):

$$\frac{C}{C_0} = \frac{A}{A_0} \quad (1)$$

де:

C – концентрація досліджуваного розчину, М;

C_0 – концентрація стандартного розчину, М;

A – аналітична довжина хвилі досліджуваного розчину, нм;

A_0 – аналітична довжина хвилі стандартного розчину, нм.

Вимірювання оптичних густин стандартного і досліджуваного розчинів проводили за однакових умов з мінімальним інтервалом у часі.

Визначення та послідовність дій для проведення вищезазначених вимірювань користувалися інструкціями до експлуатації спектрофотометра ULAB 108 UV.

2.4.1. Вимоги до стандартних розчинів

Визначення концентрації бензойної кислоти у досліджуваних розчинах здійснюється із використанням калібрувального графіка залежності оптичної щільності стандартних розчинів від концентрації.

Як стандартні використали розчини бензойної кислоти в етанолі з концентрацією 10^{-3} , 5×10^{-4} , 10^{-4} , 5×10^{-5} , 10^{-5} та 5×10^{-6} М. Для їх приготування відповідні наважки кристалічної бензойної кислоти розчиняли у 10 мл етанолу.

2.4.2. Вимоги до побудови калібрувального графіка

Побудова калібрувального графіка залежності оптичної щільності від концентрації здійснювалась шляхом вимірювання значень оптичної щільності стандартних розчинів, передбачених у пункті 2.4.1 розділу 2. Визначення та послідовність дій для проведення вищезазначених вимірювань проводилися згідно з інструкціями до експлуатації спектрофотометра ULAB 108 UV.

2.4.3. Вимоги до вимірювання зразка

Вимірювання досліджуваних зразків здійснювали за допомогою спектрофотометра ULAB 108 UV згідно з інструкціями до його застосування.

Підключення приладу до електричної мережі проводиться згідно з інструкцією. Після підключення та увімкнення джерела світла виконуються наступні кроки:

– встановити в кюветотримачі кювети з контрольним і досліджуваним розчином, помістити кюветотримач в кюветний відділ таким чином, щоб на

шляху потоку випромінювання знаходився контрольний розчин (кюветотримач повинен бути повернутий білою точкою до працюючого), закріпити його відповідним зажимом, закрити кришку кюветного відділу;

- встановити на шкалі значення належної довжини хвилі;
- фотоелемент встановити в робоче положення;
- перемістити вимикач у положення «викл» і закрити фотоелемент, встановити шторку в положення «закр»;
- встановити відповідний світлофільтр;
- встановити селектор довжини хвилі (щілину) в одне із положень – 1, 2, 3 чи 4 (варто зазначити, що якщо потрібно здійснити вимірювання з високою чутливістю і можна знехтувати зниженням монохроматичності та працювати з широкою щілиною, то необхідно встановити положення 1, а якщо необхідно працювати з вузькою щілиною, то проводяться вимірювання у положенні 4);
- скомпенсувати темновий потік важелями грубого і плавного регулювання, підводячи стрілку міліамперметра до нуля;
- відкрити фотоелемент, перемістити вимикач у положення «відкр»;
- змінити ширину щілини, установити стрілку міліамперметра на нульове значення;
- установити на шляху випромінювання досліджуваній зразок, переміщуючи каретку з кюветотримачем відповідним важелем;
- перемістити вимикач у положення «викл», відновити нульове положення стрілки міліамперметра;
- виміряти значення оптичної густини або проценту пропускання;
- облік повторити 3-4 рази.

2.4.4. Вимоги до розрахунку

Вміст бензойної кислоти у досліджуваних розчинах (ЛЗ №1 та ЛЗ №2) визначали за допомогою калібрувального графіка.

Розділ 3. Результати та їх обговорення

Метод спектрофотометрії – це поширений та доступний методом аналізу забарвлених та безбарвних розчинів хімічних сполук. Важливою перевагою цього методу є висока точність отриманих результатів. Проте для отримання таких результатів необхідно попередньо створювати спеціальні умови для здійснення аналізу – розчини, взяті для дослідження, повинні бути прозорими, без сторонніх часток, опалесценції або осаду. Зазначена вимога для проведення спектрофотометричного аналізу досліджуваних лікарських засобів ЛЗ №1 та ЛЗ №2 було дотримана, оскільки ці засоби є безбарвними та прозорими розчинами.

Визначення досліджуваних лікарських засобів здійснювалося в ультрафіолетовій області спектру. Вимірювання проводили у трьох серіях з часовим інтервалом, який становив 7 діб, та у трьох повтореннях. Для кожної серії використовували новий зразок досліджуваного лікарського засобу.

3.1. Побудова калібрувального графіка

Калібрувальний графік будували відповідно до вимог пункту 2.4.2 розділу 2 за результатами вимірювання оптичної щільності стандартних розчинів бензойної кислоти з відомою її концентрацією (пункт 2.4.1 розділу 2). За результатами здійснених вимірювань були визначені значення оптичної щільності кожного розчину та розрахована її залежність від концентрації досліджуваної речовини у розчині (Рис. 2).

Крім того, була побудована спектрограма стандартних розчинів (Рис. 3), яка показує залежність здатності пропускати промені світла від зміни вмісту бензойної кислоти у розчині. На спектрограмі чітко видно, що збільшення вмісту бензойної кислоти у розчині викликає зростання його оптичної густини (послаблює його спроможність пропускати світло відповідної довжини хвилі) і призводить до появи значних піків.

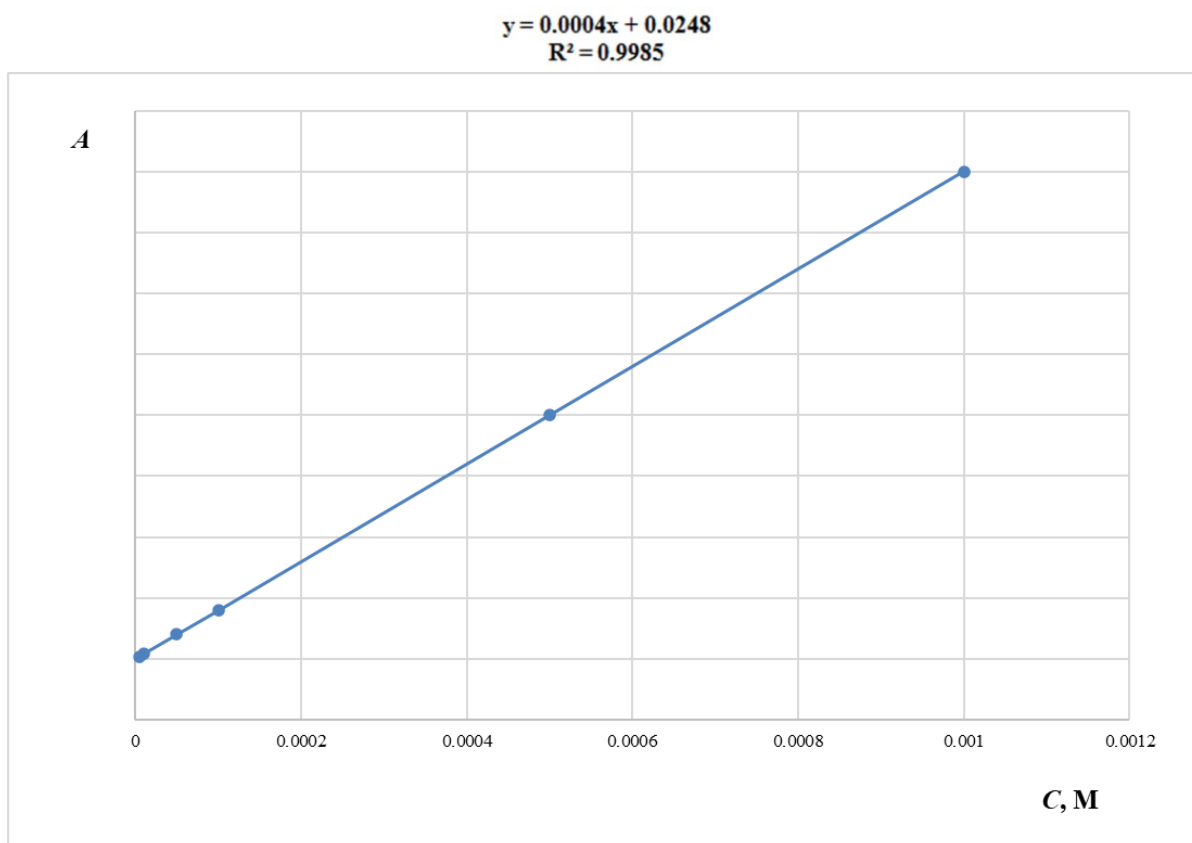


Рис. 2. Калібрувальний графік залежності оптичної щільності стандартних розчинів бензойної кислоти від їх концентрації

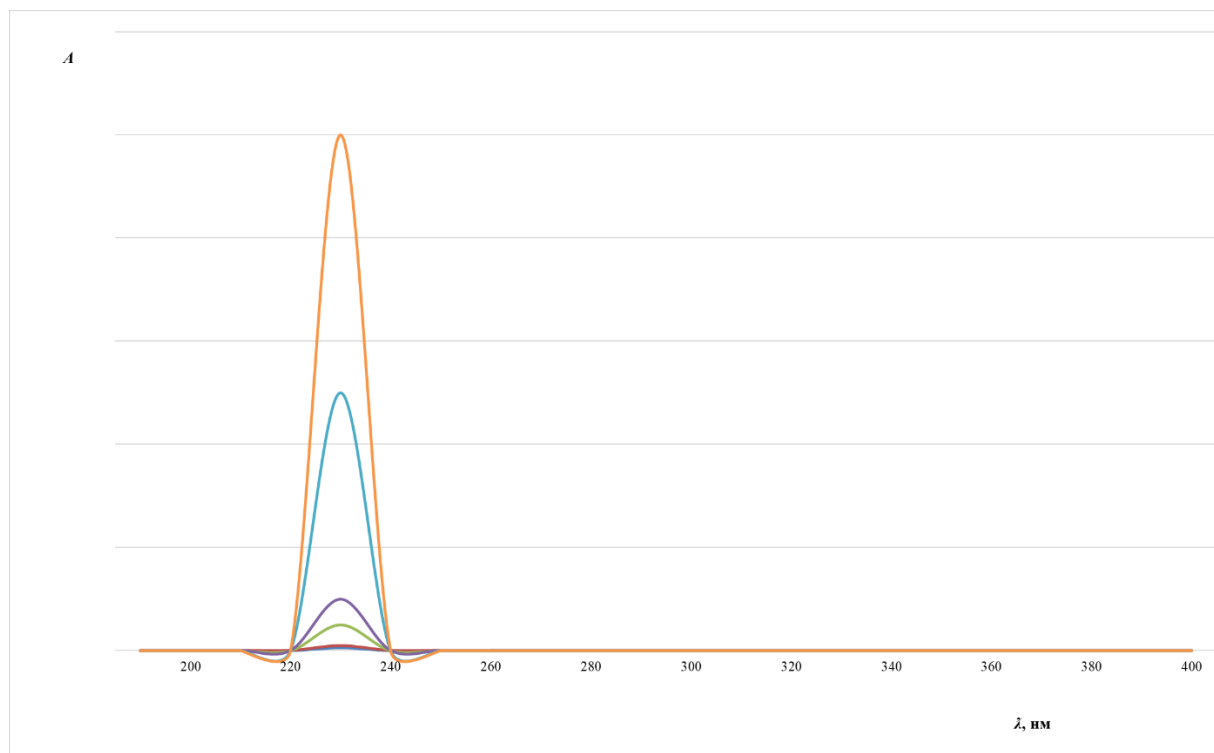


Рис. 3. Спектрограма стандартних розчинів

Також підтверджено, що бензойна кислота у всіх варіантах стандартних розчинів характеризується поглинання хвиль із довжиною ≈ 230 нм.

3.2. Результати визначення вмісту бензойної кислоти у досліджуваних лікарських засобах

Визначення кількості бензойної кислоти у досліджуваному розчині здійснювали за допомогою калібрувального графіка. Для цього, відповідно до інструкцій, передбачених у пункті 2.4.3 розділу 2, провели вимірювання оптичної густини та відповідні розрахунки концентрації досліджуваної речовини у зразках ЛЗ №1 і ЛЗ №2 (Табл. 1).

За результатами відповідних розрахунків встановлено, що середня арифметична концентрація бензойної кислоти у ЛЗ №1 становить приблизно 1 М, а середня арифметична концентрація бензойної кислоти у ЛЗ №2 – 0,8 М.

Таблиця 1. Вміст бензойної кислоти у досліджуваних зразках ЛЗ №1 і ЛЗ №2, C (М)

№ зразка	Концентрація бензойної кислоти, М		
	Серія №1	Серія №2	Серія №3
ЛЗ №1			
Повторення №1	0.987	0.991	0.990
Повторення №2	0.994	0.991	0.993
Повторення №3	1.007	1.012	0.997
ЛЗ №2			
Повторення №1	0.801	0.792	0.794
Повторення №2	0.803	0.801	0.796
Повторення №3	0.798	0.788	0.789

Оскільки вміст бензойної кислоти у досліджуваних лікарських засобах істотно перевищував її концентрації у стандартних розчинах, то на спектрограмі піки для ЛЗ №1 і ЛЗ №2 виявились значно більшими (Рис. 4), що є закономірною залежністю.

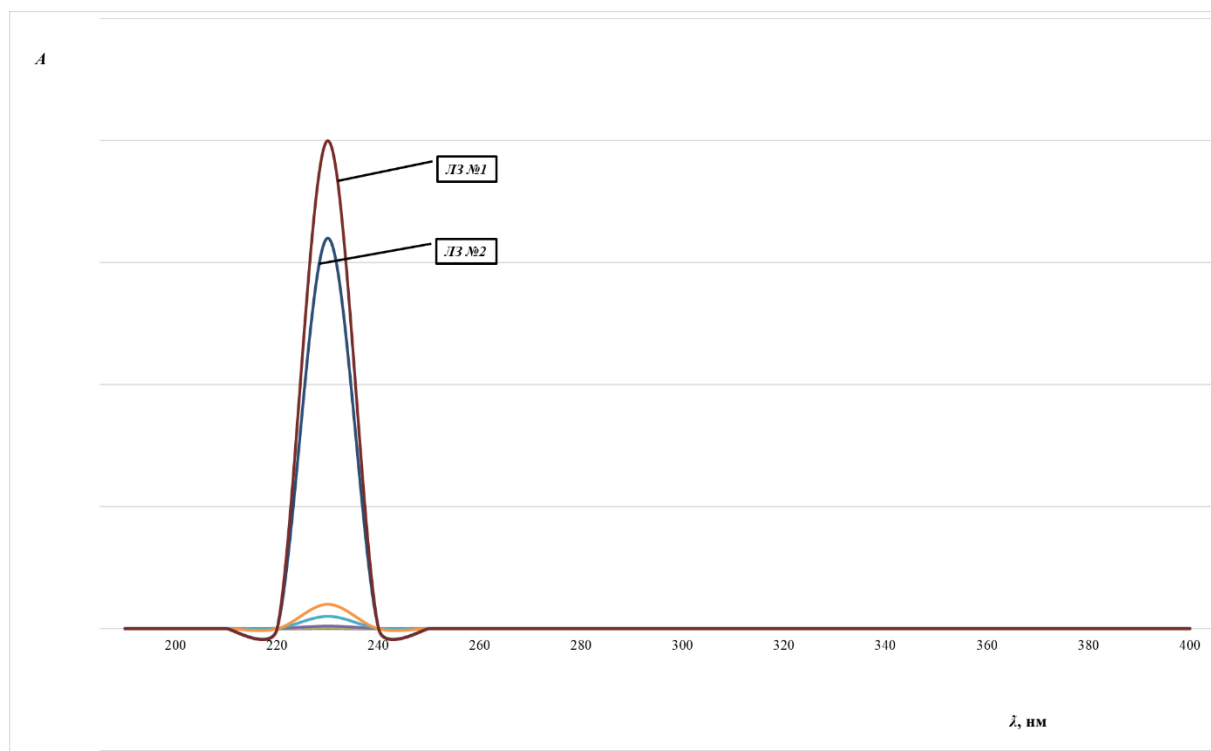


Рис. 4. Порівняльна спектрограма стандартних і досліджуваних розчинів

3.3. Валідація методики

Для підтвердження ефективності обраної методики і достовірності її результатів потрібно застосувати відповідні заходи валідації – перевірити специфічність методики, її лінійність, робастність і правильність [24, 25].

3.3.1. Перевірка специфічності методики

Здатність визначити досліджувану речовину у присутності інших компонентів характеризує її специфічність [24].

Методика випробовувалась безпосередньо на рідких лікарських формах, склад яких зазначений в інструкціях для медичного використання. Тому, перевірку результатів, отриманих за допомогою вищезазначеної методики

кількісного визначення досліджуваної речовини, на специфічність методики ми порівнювали як з відомою концентрацією компонента у лікарських засобах, так і з результатами аналізу показників спектрального поглинання. Виявлено чіткій збіг за обома критеріями, що доводить специфічність аналізованої методики.

3.3.2. Перевірка лінійності методики

Здатність запропонованої методики підтримувати пряму пропорційну залежність значення оптичної густини від концентрації досліджуваної речовини є її лінійністю [24].

Аналіз досліджуваної методики кількісного визначення вказав на її однозначну лінійність (Рис. 2). Ознакою лінійності є значення коефіцієнту кореляції ($R^2 = 0.9985$, що задовольняє вимогам ДФУ) та лінійна функція, яка описується рівнянням: $y = 0.0004x + 0.0248$.

3.3.3. Перевірка робасності методики

Порівняння між собою експериментальних результатів, котрі були отримані за допомогою різних методик, є типовою практикою у аналітичній практиці, у тому числі й у фармації. Таким чином оцінюються систематичні помилки порівняння результатів досліджуваних методик, якщо вони мають місце. Крім того, практикується перевірка методики у різних лабораторних умовах (робасність) – різне походження реагентів, відмінність у часі проведення вимірювання, виконання вимірювань відповідно до типового алгоритму різними виконавцями тощо. У нашому випадку для перевірки робасності досліджуваної методики використали критерії застосування часової серійності вимірювань та різні партії досліджуваних лікарських засобів.

Результати кількісного визначення досліджуваної речовини у лікарських засобах наведено у таблиці 1. Порівняння вимірів концентрації досліджуваної речовини у різних серіях дослідження доводить коректність методики,

оскільки різниця значень не перевищила 2%, що узгоджується із критеріями робастності.

3.3.4. Перевірка правильності методики

Перевірку правильності методики здійснювали за принципом «введено-знайдено». Отримані результати вимірювань корелюють із регламентованим вмістом досліджуваної речовини у відповідних лікарських засобах. За результатами порівняння експериментальних даних щодо вмісту аналізованого компонента у досліджуваних лікарських засобах виявлено достатній рівень точність (правильність) запропонованого методу.

3.4. Порівняльний аналіз методик кількісного визначення

Згідно з ДФУ [10] та Ph Eur [11] кількісно бензойну кислоту у субстанції визначають методом прямої алкаліметрії. Алкаліметрія – це метод кількісного визначення кислот, а також солей слабких кислот титруванням їх розчинів лугом певної концентрації [2]. Для титрування розчину бензойної кислоти застосовують 0,1 М NaOH із розрахунком, що 1 мл 0,1 М NaOH відповідає 12,21 мг бензойної кислоти [10, 11].

Алкаліметричний метод кількісного визначення бензойної кислоти має низку недоліків, а саме:

- похибка титрування може коливатися від 5% до 10%;
- стандартизація титранту;
- присутність індикатора;
- часто відбувається порушення стехіометричності.

Спектрофотометричний метод поширеним і доступним методом аналізу забарвлених та безбарвних розчинів хімічних сполук. Важливою його перевагою є висока точність отриманих результатів і простота (найскладніші етапи аналізу здійснюються комп'ютеризованим приладом), не зважаючи на вимогливість до умов аналізу.

ВИСНОВКИ

1. За результатами проведених досліджень було визначено кількісний вміст бензойної кислоти у досліджуваних лікарських засобах за допомогою методу спектрофотометрії. Було встановлено, що у лікарському засобі ЛЗ №1 кількість бензойної кислоти не перевищувала 1 М, а лікарському засобі ЛЗ №2 – 0,8 М.

2. Аналізована методика була перевірена за основними валідаційними критеріями (специфічність, лінійність, робастність та правильність). Виявлено, що валідаційна якість відповідає критеріям прийнятності згідно Державної фармакопеї України, а тому зазначену методику доцільно використовувати для кількісного визначення бензойної кислоти у оральних лікарських засобах.

3. Запропонована методика виявила достатню точність вимірювань, а тому її можна застосовувати як альтернативний метод.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Rowe, R.C., Sheskey, P.J., Quinn, M.E.; (Eds.), Handbook of Pharmaceutical Excipients 6th edition Pharmaceutical Press, London, England 2009, p. 61.
2. Фармацевтична енциклопедія [Електронний ресурс]. – Режим доступу до ресурсу: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/3496/kislota-benzojna>.
3. Фармацевтична хімія: Підручник. Ред. П.О. Безуглий. – Вінниця: Нова Книга, 2008 – 560 с.
4. Neumüller O-A (1988). Römpps Chemie-Lexikon (6 ed.). Stuttgart: Frankh'sche Verlagshandlung [Електронний ресурс]. – Режим доступу до ресурсу: <https://www.worldcat.org/oclc/50969944>.
5. National Library of Medicine [Електронний ресурс]. – Режим доступу до ресурсу: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Benzoic-Acid>.
6. National Institute of Standards and Technology Chemistry WebBook, Standard Reference Database Number 69 [Електронний ресурс]. – Режим доступу до ресурсу: <https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?Name=benzoic+acid&Units=SI>.
7. Фармацевтична хімія. Підручник для студентів вищих фармацевтичних навчальних закладів і фармацевтичних факультетів вищих медичних навчальних закладів III-IV рівнів акредитації / За заг. ред. П.О. Безуглого. – Вінниця, Нова книга, 2008 – 560 с.
8. Чирва В.Я., Ярмолук С.М., Толкачова Н.В., Земляков О.Є. Органічна хімія. – Львів: БаК, 2009. – 996 с.
9. Ластухін Ю.О., Воронов С.А. Органічна хімія. Підручник для вищих навчальних закладів. – Львів: Центр Європи, 2006. – 864 с.
10. Державна фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – друге вид. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. – Т. 2. – 724 с.
11. European pharmacopoeia. Tenth edition. Strasbourg. 2019.

12. Han J. What Is Benzoic Acid (E210) & Why Used Less than Sodium Benzoate InFood? [Електронний ресурс]. – Режим доступу до ресурсу: <https://foodadditives.net/preservatives/benzoic-acid>.

13. Open Food Facts. Open Food Facts - World. [Електронний ресурс]. – Режим доступу до ресурсу: <https://world.openfoodfacts.org/additive/en:e210-benzoic-acid>.

14. Про затвердження значень гігієнічних нормативів вмісту харчових добавок у харчових продуктах: Постанова МОЗ України № 25 від 17.07.2003 р. [Електронний ресурс]. – Режим доступу до ресурсу: <http://consultant.parus.ua/?doc=02YDQ32DD7&abz=4QK47>.

15. Sarafanova L.A. Pishchevye dobavki: entsiklopediya [Nutritional Additives: Encyclopedia]. 2nd Ed. Sankt-Peterburg: GIORD ; 2004 : 808 p. (in Russian).

16. Hauptman S., Grefe Ju. and Remane H. Organicheskaya khimiya [Organic Chemistry]. Moscow; 1978 : 778 p. (in Russian)

17. Фармакологія: підручник для студ. мед. ф-тів / Чекман І.С., Горчакова Н.О., Казак Л.І. [та ін.]; за ред. проф. І.С. Чекмана. – Вид. 4-те. – Вінниця: Нова Книга, 2017. – 784 с.

18. Фармакологія. Підручник для медичних і стоматологічного факультетів Вищих медичних навчальних закладів освіти. І.С. Чекман, В.М. Бобирьов, В.В. Кресюн, В.В. Годован, Н.О. Горчакова, Л.І. Казак, Т.В. Кава, Г.Ю. Островська Т.А. Петрова, Л.М. Рябушко. – Вінниця: Нова книга, 2020. – 472 с.

19. Myers Richard L. The 100 Most Important Chemical Compounds. – Westport, CT: Greenwood Press, 2007. – 326 p.

20. Побічна дія ліків: підручник для студентів вищих навчальних закладів медичної освіти / Беленічев І.Ф., Горчакова Н.О., Бухтіярова Н.В., Самура Т.А., Бухтіярова Т.А., Нагорна О.О., Моргунцова С.А., Єгоров А.А., Риженко О.В., Тихоновський О.В. – Запорізьський державний медичний Університет. – Вінниця: Нова книга, 2021. – 360 с.

21. Компендіум. Спеціалізоване медичне інтернет-видання для лікарів, провізорів, фармацевтів, студентів медичних і фармацевтичних вишів. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://compendium.com.ua/>

22. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – перше вид. – Доповнення 2. – Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – 620 с.

23. UV-Vis spectrophotometers. What is a UV-Vis spectrophotometer? Principals & history of UV-Vis spectrophotometers. [Електронний ресурс]. – Режим доступу до ресурсу: <https://www.implen.de/uv-vis-spectrophotometer/#history>.

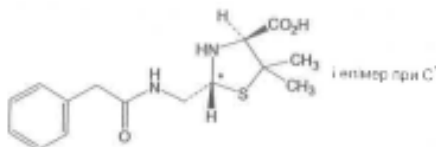
24. Валідація аналітичних методик і випробувань. Державна Фармакопея України. Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е видання. Харків: РІРЕГ, 2001. С. 58-67. Доповнення 1. 2004. С. 2-4.

25. Георгіянц В.А. Валідація аналітичних методик у фармації : теорія, нормативні аспекти, проблеми практики / В.А. Георгіянц, О.А. Євтіфєєва. – Фармацевтичний часопис. – №2. – 2007. – С.13-18.

ДОДАТКИ

Витяг з Державної фармакопеї України [10]

Бензойна кислота



F. (2*RS*,4*S*)-2-[[фенілацетил]аміно]метил]-5,5-диметилтіазолідин-4-карбонова кислота (пеніцилінові кислоти бензилпеніциліну).

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

A. Температура плавлення (2.2.14). Від 121 °С до 124 °С.

B. Розчин *S*, приготований як зазначено в розділі «Випробування», дає реакцію (а) на бензоати (2.3.1).

ВИПРОБУВАННЯ

Розчин S. 5.0 г субстанції розчиняють в етанолі (96 %) *P* і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 100 мл.

Прозорість розчину (2.2.1). Розчин *S* має бути прозорим.

Кольоровість розчину (2.2.2, метод *H*). Розчин *S* має бути безбарвним.

Речовини, що легко обуглюються. 0.5 г субстанції, струшуючи, розчиняють у 5 мл сірчаної кислоти *P*. Забарвлення одержаного розчину через 5 хв має бути не інтенсивнішим за еталон *Y*₅ (2.2.2, метод *I*).

Речовини, що окиснюються. 0.2 г субстанції розчиняють у 10 мл киплячої води *P*, охолоджують, струшують і фільтрують. До одержаного фільтрату додають 1 мл сірчаної кислоти розведеної *P* і 0.2 мл 0.02 *M* розчину калію перманганату; рожеве забарвлення розчину має зберігатися протягом не менше 5 хв.

Галогенводні й галогеніди. Не більше 0.03 % (300 ррт).

Увесь скляний посуд має бути вільним від хлоридів. Для цього посуд витримують протягом ночі в розчині 500 г/л азотної кислоти *P*, промивають водою *P* і зберігають заповненим водою *P*. Рекомендується для даного випробування використовувати окремий скляний посуд.

Розчин (а). 6.7 г субстанції розчиняють у суміші 40 мл 1 *M* розчину натрію гідроксиду та 50 мл етанолу (96 %) *P* і доводять об'єм розчину водою *P* до 100.0 мл. До 10.0 мл одержаного розчину додають 7.5 мл натрію гідроксиду розчину розведеного *P*, 0.125 г нікель-алюмінієвого сплаву *P* і нагрівають на водяній бані протягом 10 хв. Розчин охолоджують до кімнатної температури та фільтрують у мірну колбу місткістю 25 мл. Залишок на фільтрі промивають трьома порціями, по 2 мл кожна, етанолу (96 %) *P*. Об'єм розчину в колбі доводять водою *P* до 25.0 мл. Одержаний розчин використовують для приготування розчину *A*.

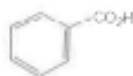
Розчин (б). Готують аналогічно до розчину (а) без субстанції. Одержаний розчин використовують для приготування розчину *B*.

У чотири мірні колби місткістю 25 мл додають по 10 мл розчину (а), 10 мл розчину (б), 10 мл хлориду

БЕНЗОЙНА КИСЛОТА

Acidum benzoicum

BENZOIC ACID



$C_7H_6O_2$
[65-85-0]

М.м. 122.1

Бензолкарбонова кислота.

Вміст: не менше 99.0 % і не більше 100.5 %.

ВЛАСТИВОСТІ

Опис. Кристалічний порошок білого або майже білого кольору або безбарвні кристали.

Розчинність. Мало розчинна у воді *P*, розчинна в киплячій воді *P*, легко розчинна в етанолі (96 %) *P* і жирних оліях.

еталонного розчину (8 ррт С1) Р (одержаний розчин використовують для приготування розчину С) і 10 мл води Р. У кожну колбу додають 5 мл заліза(III) амонію сульфату розчину Р5 і перемішують. До одержаних розчинів краплями, перемішуючи обергальними руками, додають по 2 мл азотної кислоти Р, 5 мл розчину ртуті(II) тіоціанату Р. Колби струшують і вміст кожної колби доводять водою Р до об'єму 25,0 мл і витримують у водяній бані при температурі 20 °С протягом 15 хв. Вимірюють оптичну густину (2.2.25) розчину А за довжини хвилі 460 нм, використовуючи розчин В як компенсаційний розчин, і оптичну густину розчину С, використовуючи розчин із 10 мл води Р як компенсаційний розчин. Оптична густина розчину А не має перевищувати оптичну густину розчину С.

Важкі метали (2.4.8, метод В). Не більше 0.001 % (10 ррт).

12 мл розчину S мають витримувати випробування на важкі метали. Еталон готують із використанням 5 мл свинцю еталонного розчину (1 ррт Рb) Р і 5 мл етанолу (96 %) Р.

Сульфатна зола (2.4.14). Не більше 0.1 %. Визначення проводять з 1.0 г субстанції.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

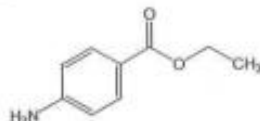
0.200 г субстанції розчиняють у 20 мл етанолу (96 %) Р і титрують 0.1 М розчином натрію гідроксиду до переходу забарвлення від жовтого до фіолетово-червоного, використовуючи як індикатор 0.1 мл фенолового червоного розчину Р.

1 мл 0.1 М розчину натрію гідроксиду відповідає 12.21 мг $C_9H_{11}NO_2$.

БЕНЗОКАЇН

Benzocainum

BENZOCAINE



$C_9H_{11}NO_2$
[94-09-7]

М.м. 165.2

Етил 4-амінобензоат.

Вміст: не менше 99.0 % і не більше 101.0 % , у перерахунку на суху речовину.

ВЛАСТИВОСТІ

Опис. Кристалічний порошок білого або майже білого кольору або безбарвні кристали.

Розчинність. Дуже мало розчинний у воді Р, легко розчинний в етанолі (96 %) Р.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

Перша ідентифікація: А, В.

Друга ідентифікація: А, С, D.

А. Температура плавлення (2.2.14). Від 89 °С до 92 °С.

В. Абсорбційна спектроскопія в інфрачервоній області (2.2.24).

Відповідність спектру ФСЗ бензокаїну.

С. Близько 50 мг субстанції помішають у пробірку і додають у 0.2 мл розчину 500 г/л хрому(VI) оксиду Р. Пробірку накривають фільтрувальним папером, змоченим свіжоприготованою сумішшю рівних об'ємів розчину 50 г/л натрію нітропрусиду Р і розчину 200 г/л піперазину гідрату Р, і обережно кип'ятять протягом не менше 30 с; фільтрувальний папір має забарвитися у синій колір.

D. Близько 50 мг субстанції розчиняють в етанолі (96%) Р і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 100 мл. 2 мл одержаного розчину мають витримувати випробування на первинні ароматичні аміни (2.3.1).

ВИПРОБУВАННЯ

Прозорість розчину (2.2.1). 1.0 г субстанції розчиняють в етанолі (96 %) Р і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 20 мл. Одержаний розчин має бути прозорим.

Кольоровість розчину (2.2.2, метод II). Розчин, призначений для випробування «Прозорість розчину», має бути безбарвним.

Кислотність або лужність. 0.5 г субстанції розчиняють у 10 мл етанолу (96 %) Р, попередньо нейтралізованого 0.05 мл фенолфталеїну розчину Р, і додають 10 мл води, вільної від вуглецю діоксиду, Р. Забарвлення розчину має змінитися при додаванні не більше 0.5 мл 0.01 М розчину натрію гідроксиду.

Втрата в масі при висушуванні (2.2.32). Не більше 0.5 %. 1.00 г субстанції сушать у вакуумі.

Витяг з Європейської фармакопеї [11]

EUROPEAN PHARMACOPOEIA 10.0

Benzoic acid

ASSAY

Carry out the determination of primary aromatic amino-nitrogen (2.5.8), using 0.400 g dissolved in a mixture of 25 mL of hydrochloric acid R and 50 mL of water R.

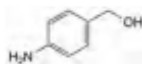
1 mL of 0.1 M sodium nitrite is equivalent to 16.52 mg of $C_6H_5NO_2$.

STORAGE

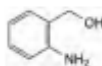
Protected from light.

IMPURITIES

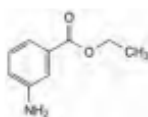
Other detectable impurities (the following substances would, if present at a sufficient level, be detected by one or other of the tests in the monograph. They are limited by the general acceptance criterion for other/unspecified impurities and/or by the general monograph *Substances for pharmaceutical use* (2034). It is therefore not necessary to identify these impurities for demonstration of compliance. See also 5.10. *Control of impurities in substances for pharmaceutical use*): A, B, C, D, E, F, G, H.



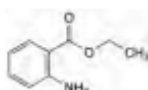
A. (4-aminophenyl)methanol,



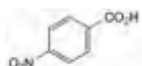
B. (2-aminophenyl)methanol,



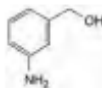
C. ethyl 3-aminobenzoate,



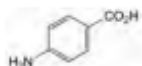
D. ethyl 2-aminobenzoate,



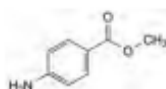
E. 4-nitrobenzoic acid,



F. (3-aminophenyl)methanol,



G. 4-aminobenzoic acid,



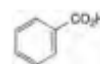
H. methyl 4-aminobenzoate.



01/2017:0066

BENZOIC ACID

Acidum benzoicum



$C_7H_6O_2$
[65-85-0]

M_r 122.1

DEFINITION

Benzenecarboxylic acid.

Content: 99.0 per cent to 100.5 per cent.

CHARACTERS

Appearance: white or almost white, crystalline powder or colourless crystals.

Solubility: slightly soluble in water, soluble in boiling water, freely soluble in ethanol (96 per cent) and in fatty oils.

IDENTIFICATION

A. Melting point (2.2.14): 121 °C to 124 °C.

B. Solution S (see Tests) gives reaction (a) of benzoates (2.3.1).

TESTS

Solution S. Dissolve 5.0 g in ethanol (96 per cent) R and dilute to 100 mL with the same solvent.

Appearance of solution. Solution S is clear (2.2.1) and colourless (2.2.2, Method II).

Carbonisable substances. Dissolve 0.5 g with shaking in 5 mL of sulfuric acid R. After 5 min, the solution is not more intensely coloured than reference solution Y₅ (2.2.2, Method I).

Oxidisable substances. Dissolve 0.2 g in 10 mL of boiling water R. Cool, shake and filter. To the filtrate add 1 mL of dilute sulfuric acid R and 0.2 mL of 0.02 M potassium permanganate. After 5 min, the solution is still coloured pink.

Halogenated compounds and halides: maximum 300 ppm. All glassware used must be chloride-free and may be prepared by soaking overnight in a 500 g/L solution of nitric acid R, rinsed with water R and stored full of water R. It is recommended that glassware be reserved for this test.

Solution (a). Dissolve 6.7 g in a mixture of 40 mL of 1 M sodium hydroxide and 50 mL of ethanol (96 per cent) R and dilute to 100.0 mL with water R. To 10.0 mL of this solution add 7.5 mL of dilute sodium hydroxide solution R and 0.125 g of nickel-aluminium alloy R and heat on a water-bath for 10 min. Allow to cool to room temperature, filter into a 25 mL volumetric flask and wash with 3 quantities, each of 2 mL, of ethanol (96 per cent) R. Dilute the filtrate and washings to 25.0 mL with water R. This solution is used to prepare solution A.

Solution (b). In the same manner, prepare a similar solution without the substance to be examined. This solution is used to prepare solution B.

In four 25 mL volumetric flasks, place separately 10 mL of solution (a), 10 mL of solution (b), 10 mL of chloride standard solution (8 ppm Cl) R (used to prepare solution C) and 10 mL of water R. To each flask add 5 mL of ferric ammonium sulfate solution R5, mix and add dropwise and with swirling 2 mL of nitric acid R and 5 mL of mercuric thiocyanate solution R. Shake. Dilute the contents of each flask to 25.0 mL with water R and allow the solutions to stand in a water-bath at 20 °C for 15 min. Measure at 460 nm the absorbance (2.2.25) of solution A using solution B as the compensation liquid, and

the absorbance of solution C using the solution obtained with 10 mL of water R as the compensation liquid. The absorbance of solution A is not greater than that of solution C.

Sulfated ash (2.4.14): maximum 0.1 per cent, determined on 1.0 g.

ASSAY

Dissolve 0.200 g in 20 mL of ethanol (96 per cent) R and titrate with 0.1 M sodium hydroxide, using 0.1 mL of phenol red solution R as indicator, until the colour changes from yellow to violet-red.

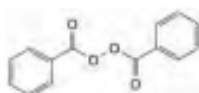
1 mL of 0.1 M sodium hydroxide is equivalent to 12.21 mg of $C_{14}H_{10}O_4$.

01/2008:0704
corrected 7.0



BENZOYL PEROXIDE, HYDROUS

Benzoylis peroxidum cum aqua



$C_{14}H_{10}O_4$ M_r 242.2 (anhydrous substance)
Anhydrous benzoyl peroxide: [94-36-0]

DEFINITION

Content:

- dibenzoyl peroxide: 70.0 per cent to 77.0 per cent;
- water: minimum 20.0 per cent.

CHARACTERS

Appearance: white or almost white, amorphous or granular powder.

Solubility: practically insoluble in water, soluble in acetone, soluble in methylene chloride with the separation of water, slightly soluble in ethanol (96 per cent).

It loses water rapidly on exposure to air with a risk of explosion.

Mix the entire sample thoroughly before carrying out the following tests.

IDENTIFICATION

First identification: B

Second identification: A, C, D.

A. Ultraviolet and visible absorption spectrophotometry (2.2.25).

Solution A. Dissolve 80.0 mg in ethanol (96 per cent) R and dilute to 100.0 mL with the same solvent. Dilute 10.0 mL of the solution to 100.0 mL with ethanol (96 per cent) R.

Solution B. Dilute 10.0 mL of solution A to 100.0 mL with ethanol (96 per cent) R.

Spectral ranges: 250-300 nm for solution A; 220-250 nm for solution B.

Absorption maxima: at 274 nm for solution A; at 235 nm for solution B.

Shoulder: at about 282 nm for solution A.

Absorbance ratio: $A_{282}/A_{274} = 1.17$ to 1.21.

B. Infrared absorption spectrophotometry (2.2.24).

Comparison: Ph. Eur. reference spectrum of hydrous benzoyl peroxide.

C. Dissolve about 25 mg in 2 mL of acetone R. Add 1 mL of a 10 g/L solution of diethylphenylenediamine sulfate R and mix. A red colour develops which quickly darkens and becomes dark violet within 5 min.

D. To 1 g add 5 mL of ethanol (96 per cent) R, 5 mL of dilute sodium hydroxide solution R and 10 mL of water R. Boil the mixture under reflux for 20 min. Cool. The solution gives reaction (c) of benzoates (2.3.1).

TESTS

Acidity. Dissolve a quantity of the substance to be examined containing the equivalent of 1.0 g of dibenzoyl peroxide in 25 mL of acetone R, add 75 mL of water R and filter. Wash the residue with two quantities, each of 10 mL, of water R. Combine the filtrate and the washings and add 0.25 mL of phenolphthalein solution R1. Not more than 1.25 mL of 0.1 M sodium hydroxide is required to change the colour of the indicator. Carry out a blank test.

Related substances. Liquid chromatography (2.2.29). Prepare the solutions immediately before use.

Test solution. Dissolve a quantity of the substance to be examined containing the equivalent of 0.10 g of dibenzoyl peroxide in acetonitrile R and dilute to 50 mL with the same solvent.

Reference solution (a). Dilute 1.0 mL of the test solution to 100.0 mL with acetonitrile R. Dilute 1.0 mL of this solution to 10.0 mL with acetonitrile R.

Reference solution (b). Dissolve 30.0 mg of benzoic acid R in the mobile phase and dilute to 100.0 mL with the mobile phase. Dilute 1.0 mL of the solution to 10.0 mL with the mobile phase.

Reference solution (c). Dissolve 50.0 mg of ethyl benzoate R in the mobile phase and dilute to 100.0 mL with the mobile phase. Dilute 1.0 mL of the solution to 100.0 mL with the mobile phase.

Reference solution (d). Dissolve 50.0 mg of benzaldehyde R in the mobile phase and dilute to 100.0 mL with the mobile phase. Dilute 1.0 mL of the solution to 100.0 mL with the mobile phase.

Reference solution (e). Dissolve 30.0 mg of benzoic acid R and 30.0 mg of benzaldehyde R in the mobile phase and dilute to 100.0 mL with the mobile phase. Dilute 1.0 mL of the solution to 10.0 mL with the mobile phase.

Column:

- size: $l = 0.25$ m, $\phi = 4.6$ mm;
- stationary phase: octadecylsilyl silica gel for chromatography R (10 μ m).

Mobile phase: glacial acetic acid R, acetonitrile R, water R (1:500:500 V/V/V).

Flow rate: 1 mL/min.

Detection: spectrophotometer at 235 nm.

Injection: 20 μ L loop injector.

Run time: 2 times the retention time of dibenzoyl peroxide.

Relative retention with reference to dibenzoyl peroxide (retention time = about 28.4 min): impurity B = about 0.15; impurity A = about 0.2; impurity C = about 0.4.

System suitability: reference solution (e):

- resolution: minimum 6 between the peaks due to benzoic acid and benzaldehyde.

Limits:

- impurity A: not more than the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (d) (0.25 per cent);
- impurity B: not more than the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (b) (1.5 per cent);

Спектрофотометр ULAB 108 UV



Спектрофотометр ULAB 108 UV призначений для здійснення точних аналізів. Характеризується наступними відмінними рисами:

- низьким рівнем розсіяного світла;
- великий РК монітор (128×64 пікселів);
- відображає та зберігає 200 груп даних, по 5 груп на екран;
- відображає калібрувальну криву та кінетичну криву;
- автоматичне збереження даних внаслідок раптового відключення живлення;
- автоматичне встановлення довжини хвилі;
- окреме виключення/вмикання галогенної та дейтерієвої ламп (для збільшення терміну служби);
- додаткове програмне забезпечення здійснює повний контроль над спектрофотометром через вбудований USB-порт;
- можливий вимір у режимах: кількісний, кінетичний, сканування за довжиною хвилі та ДНК/протеїн тест;
- заміна лампи не порушує сумісність оптичної системи;
- великий кюветний відділ для 5-100 мм кювети з додатковими тримачами.

Прилад додано до Державного реєстру засобів вимірювальної техніки України за № У2869-09.

Робочий діапазон довжин хвиль, нм	190-1100
Спектральна ширина щілини, нм	2,0 ± 0,4
Оптична система	однопроменева сітка 1200 ліній / мм
Похибка налаштувань довжини хвилі, нм	± 0,8
Відхилення налаштувань довжини хвилі, нм	0,5
Налаштування довжини хвилі	авто
Похибка вимірювання коефіцієнта прозорості, % T	до 800 нм, ± 0,5; понад 800 нм, ± 1
Відхилення вимірювання коефіцієнта прозорості, % T	± 0,3
Діапазон вимірювання оптичної щільності та коефіцієнта прозорості	0 – 3,0 Б; 0,1 – 100 % T
Розсіяне світло	0,05
Стабільність	± 0,002 А/год – 500 нм
Шум	± 0,002 А (200 – 1000 нм)
Дисплей	графічний РК 128 × 64
Режим вимірювань	T, B, кількісний, кінетика
Монохроматор	дифракційна сітка 1200 л/мм
Детектор	кремнієвий фотодіод
Стандартний кюветотримач	4-х позиційний 10 мм у комплекті; 3-х позиційний (100 мм × 24 мм) стандарт КФК-3 8-ми позиційний автосемплер замовляється окремо
Джерело світла	галогенна дейтерієва лампа
Роз'єм	USB порт, паралельний порт (принтер)
Живлення, В/Гц	~ 220/50 або ~110/60
Розміри (Ш × Д × В), мм	430 × 370 × 180
Вага, кг	13

Ваги аналітичні Radwag AS 220.R2



Radwag AS 220.R2 – це аналітичні електронні ваги з рідкокристалічним дисплеєм. Вони призначені для точного вимірювання маси рідких і сипких матеріалів, предметів у лабораторних умовах.

Функції ваг:

- зважування;
- можливість зважування габаритних навісок із нижнього боку ваг;
- можливість вимірювання щільності твердих і рідких матеріалів;
- компенсація маси тари;
- автонуль;
- рахунок штук;
- контроль за відхиленням під час градування;
- звіт результатів калібрування;
- постійне передавання даних на комп'ютер;
- велика камера зважування;
- тарілка із системою проти перевантаження;
- пакет цифрових фільтрів — адаптація ваг до умов роботи на місці;
- можливість безперервної роботи.

Найбільша межа зважування, г	220
Дискретність, г	0,0001
Діаметр платформи, мм	100
Рівномірна температура, °С	+18 – +30
Градування	внутрішня (автоматична)
Індикатор	рідкокристалічний
Живлення	230 В 50 Гц / 11 В АС
Клас точності згідно ГОСТ 24104-88	2
Клас точності згідно ДСТУ EN 45501	1

Мірний посуд класу А









KyivLvivPharma-2023

CERTIFICATE

THIS IS TO CERTIFY THAT

Iryna Kolesnyk


PARTICIPATED IN THE VI INTERNATIONAL SCIENTIFIC AND PRACTICAL
CONFERENCE

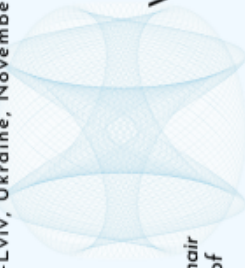
**"KYIVLVIVPHARMA-2023. PHARMACEUTICAL
TECHNOLOGY AND PHARMACOLOGY IN
ENSURING ACTIVE LONGEVITY"**

DURATION - 30 HOURS (1 ECTS CREDIT)

Held in Kyiv-Lviv, Ukraine, November 16-18, 2023

Kyiv-Lviv
November 16-18, 2023
UA N80197


Vladyslav STRASHNYI
Dr. Sci. (Pharm.), Professor, Co-chair
of the Organizing Committee of
conference




Volodymyr BESSARABOV
Dr. Sci. (Engin.), Professor,
Responsible secretary of
conference

SUMMARY

Kolesnyk Iryna

QUANTITATIVE DETERMINATION OF BENZOIC ACID IN ORAL SOLUTIONS BY SPECTROPHOTOMETRIC METHOD

Department of analytical, physical and colloidal chemistry

Scientific supervisor: Tymoshchuk Olga

Keywords: benzoic acid, oral solutions, spectrophotometric method, quantitative analysis

Introduction. Benzoic acid is widely used in cosmetics, food production, and pharmacy. Controlling the content of benzoic acid in medicinal products is an important measure in pharmacy as it can have a harmful effect on human health. The search for new promising methods for the quantitative determination of benzoic acid is an important direction in the development of pharmacy. One of these methods can be spectrophotometry. An important feature of spectrophotometry is its simplicity, low cost, availability and accuracy.

Materials and methods. The subject of research was benzoic acid, and the object of research was its quantitative content in the investigated medicinal products. Empirical (observation, comparison, measurement, experiment), complex (abstraction, analysis and synthesis) and theoretical methods were used to achieve the research goal.

Results. The determination of the studied drugs was carried out in the ultraviolet region of the spectrum. Measurements were performed in three series with a time interval of 7 days and in three repetitions. For each series, a new sample of the investigated medicinal product was used.

Determination of the concentration of benzoic acid in the studied solutions was carried out using a calibration graph of the dependence of the optical density of standard solutions on the concentration. Solutions of benzoic acid in ethanol with a concentration of 10^{-3} , 5×10^{-4} , 10^{-4} , 5×10^{-5} , 10^{-5} and 5×10^{-6} M were used as standards. Based on the results of the measurements, the optical density values were determined of each solution and calculated its dependence on the concentration of the substance under investigation in the solution. In addition, a spectrogram of standard solutions was constructed, which showed the dependence of the ability to transmit light rays on changes in the content of benzoic acid in the solution. The spectrogram clearly shows that an increase in the content of benzoic acid in the solution causes an increase in its optical density (weakens its ability to transmit light of the corresponding wavelength) and leads to the appearance of significant peaks.

Determination of the amount of benzoic acid in the studied solutions was carried out using a calibration graph. To do this, measurements of the optical density and corresponding calculations of the concentration of the substance under investigation in samples of medicinal products were carried out. According to the results of the relevant calculations, it was established that the average arithmetic concentration of benzoic acid in drug No. 1 is approximately 1 M, and the average arithmetic concentration of benzoic acid in drug No. 2 is 0.8 M. Since the content of benzoic acid in the studied medicinal products significantly exceeded its concentration in standard solutions, their peaks were significantly larger on the spectrogram, which is a natural dependence.

Conclusions. It has been experimentally proven that spectrophotometry is an effective method for the quantitative analysis of medicinal products. Validation of the studied technique was carried out in terms of specificity, linearity, reliability and correctness. It was established that the validation characteristics correspond to the acceptance criteria according to the State Pharmacopoeia of Ukraine, and therefore it is advisable to use the indicated method for the quantitative determination of benzoic acid in oral medicinal products.