

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ
О.О.БОГОМОЛЬЦЯ**

**ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ
КАФЕДРА АНАЛІТИЧНОЇ, ФІЗИЧНОЇ ТА КОЛОЇДНОЇ ХІМІЇ**

ВИПУСКНА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

**на тему «Методика спектрофотометричного визначення хлорталідону у
таблетованій лікарській формі»**

Виконав: здобувач вищої освіти 6-го курсу, групи
1083А напряму підготовки 226 «Охорона здоров'я»
освітня програма «Фармація»

Вакулович Ангеліна Юрівна

Керівник: кандидатка педагогічних наук, доцентка
Чхало Оксана Миколаївна

Рецензент: кандидатка хімічних наук,
доцентка кафедри хімії ліків та лікарської
токсикології, доцентка

Глушаченко Ольга Олександрівна

Київ – 2026

ЗМІСТ

Перелік умовних скорочень		4
Вступ.		5
РОЗДІЛ 1. Хлорталідон, його фізико-хімічні та фармакологічні властивості, методи визначення, фармакологічні властивості.		9
1.1	Застосування хлорталідону. Фармакологія та фармакокінетика.	9
1.2	Будова, фізико-хімічні властивості та отримання хлорталідону.	13
1.3	Ідентифікація хлорталідону.	15
1.4	Кількісне визначення хлорталідону.	16
1.5.	Використання спектрофотометрії в кількісному аналізі та в аналізі лікарських засобів.	17
РОЗДІЛ 2. Експериментальна частина.		19
2.1.	Матеріали і методи	19
2.1.1.	Мета дослідження.	19
2.1.2.	Об'єкти дослідження	19
2.1.3.	Використані обладнання та посуд.	20
2.1.4.	Використані реактиви та розчини.	20
2.1.5.	Стандартний розчин (приготування).	21
2.1.6.	Приготування розчинів досліджуваних Зразків.	21
2.1.7.	Визначення хлорталідону спектрофотометрично.	21
РОЗДІЛ 3. Результати та їх обговорення.		22
3.1.	Спектр поглинання та визначення оптимальної довжини хвилі.	22
3.2.	Вибір розчинника та умов спектрофотометричного дослідження.	22
3.3.	Залежність оптичної густини розчину хлорталідону від	23

	його концентрації. Градувальний графік.	
3.4.	Кількісне визначення хлорталідону в досліджуваних зразках. Статистична обробка результатів визначень.	26
3.4.1.	Робасність, прецизійність, специфічність методики.	28
3.5.	Порівняльний аналіз методик кількісного визначення хлорталідону.	32
	Висновки.	33
	Список використаних джерел.	34
	Додатки.	37
	Summary.	43

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ДФУ – державна фармакопея України

Ph.Eur. – European Pharmacopoeia

НМУ – Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

УФ спектр – ультрафіолетовий спектр поглинання

ISO – міжнародна організація зі стандартизації

ЛЗ – лікарський засіб

ІЧ спектр – інфрачервоний спектр

мкг – мікрограм

мл – мілілітр

г – грам

нм – нанометр

Т. кип. – температура кипіння

Т. пл. – температура плавлення

С⁰ – градуси за Цельсієм

ШКТ – шлунково-кишковий тракт

ДНК - дезоксирибонуклеїнова кислота

ТШХ - тонкошарова хроматографія

АГ - артеріальна гіпертензія

ВООЗ – Всесвітня організація здоров'я

АТ - артеріальний тиск

ФЗС – фармацевтичний стандартний зразок

ВСТУП

Однією з найпоширеніших хвороб у світі, які відносяться до хронічних захворювань неінфекційного походження, є артеріальна гіпертензія (АГ). Вона займає лідируючу позицію серед причин передчасної смертності та інвалідності. Згідно прогнозів ВООЗ (Всесвітньої організації охорони здоров'я) кількість людей, що страждають на АГ, у світі до 2030 року буде становити 6 млрд осіб [1]. Відповідно до даних Центру громадського здоров'я МОЗ України дуже багато хворих, а саме біля 40%, навіть не підозрюють про свій діагноз, тому що захворювання може протікати без симптомів. Артеріальна гіпертензія спричиняє інсульт, інфаркт, хвороби нирок, деменцію, серцеву недостатність, ішемічну хворобу серця та інші захворювання.

Артеріальна гіпертензія, згідно даних ВООЗ, може розвинути через спадкову схильність або внаслідок інших чинників, наприклад ожиріння та малорухливий спосіб життя, вживання великої кількості солі та гострої їжі, підвищений рівень холестерину, постійний стрес. Хронічний стрес призводить до тривалого підвищення тиску через розбалансування систем організму, які, як правило, компенсують вплив стресу [5]. В Україні стрес можна віднести до основного фактору розвитку АГ сьогодні, тому що виклики, пов'язані з війною, впливають на кожного українця та підвищують дію стресорів на організм людини і, відповідно, підвищується рівень артеріального тиску.

Хронічний стрес, в якому перебувають люди в Україні через воєнний час, викликає серйозне погіршення перебігу АГ та призводить до розвитку метаболічних порушень та ускладнень як серцево-судинних так і цереброваскулярних (гострий інфаркт міокарда, ішемічний інсульт, фібриляція передсердь), веде до збільшення випадків тяжкої АГ та її резистентної форми [2].

Міжнародним товариством з артеріальної гіпертензії та Європейською нефрологічною асоціацією нещодавно були представлені оновлені алгоритми

та рекомендації щодо лікування підвищеного артеріального тиску взагалі та у пацієнтів, що страждають на цукровий діабет, хронічну хворобу нирок. Одним із найважливіших моментів в даних рекомендаціях є вірне призначення діуретиків, при цьому віддається перевага тіазидним або тіазидоподібним діуретикам [3, 4].

Хлорталідон є найкраще досліджений тіазидоподібний діуретик, який є ефективним засобом у терапії лікування артеріальної гіпертензії першої лінії, який має багато переваг, серед яких тривалий період напіввиведення та період напіврозпаду, через що він гарантує зниження артеріального тиску також і після завершення його прийому пацієнтом. Він також має відносну метаболічну безпеку, якщо порівнювати його з тіазидними діуретиками. Хлорталідон вирізняється також суттєвим зв'язуванням з карбоангідразою в еритроцитах, через що забезпечується довготривала сечогінна дія, відповідно і довготривала антигіпертензивна дія препарату [4].

Відповідно до рекомендацій Європейського кардіологічного товариства (ESC) для пацієнтів, які мають цукровий діабет, хронічну хворобу нирок та для терапії резистентної артеріальної гіпертензії рекомендований саме хлорталідон.

Отже, є необхідність проведення на постійній основі контролю якості лікарських засобів, діючою речовиною яких є хлорталідон, а також є необхідність в розробці та оптимізації методів їх аналізу.

Методи кількісного визначення хлорталідону, які відомі і рекомендовані на сьогоднішній день, потребують використання дорогих приладів та реактивів, а також використовують токсичні розчинники. Не всі методи є достатньо точними та чутливими. Отже, актуальними на сьогодні є розробка методів кількісного визначення хлорталідону або оптимізація уже наявних методів.

Оптичні методи аналізу, до яких відносять фотометрію, спектрофотометрію, рефрактометрію та інші, знайшли широке застосування при здійсненні контролю якості лікарських засобів, оскільки вирізняються

високою точністю та швидкістю, простотою виконання та відносно невисокою вартістю обладнання, а також відсутністю токсичних розчинників в методиках. Отже, використання одного з оптичних методів аналізу може дозволити провести кількісне визначення хлорталідону у таблетованій лікарській формі точно, швидко та не користуючись токсичними речовинами.

Актуальність: розробка нових методів та оптимізація відомих методик кількісного визначення хлорталідону.

Мета: розробити методику спектрофотометричного кількісного визначення хлорталідону у таблетованій лікарській формі.

Завдання:

1. Вивчити фізико-хімічні властивості хлорталідону, фармакологію, механізм його дії та особливості застосування.
2. Проаналізувати відомі методи якісного та кількісного аналізу хлорталідону.
3. Розробити методику спектрофотометричного кількісного визначення хлорталідону у таблетованій лікарській формі, здійснити часткову валідацію розробленої методики.

Методи дослідження: бібліосемантичний, спектрофотометрія.

Новизна та значення одержаних результатів:

Результатом проведеного дослідження є представлена методика спектрофотометричного визначення хлорталідону у таблетованій лікарській формі.

Апробація результатів дослідження. Результати роботи були представлені на VI Науково-практичній конференції з міжнародною участю «PLANTA+. Наука, практика та освіта», (Додаток 4).

Структура роботи. Робота включає Таблиць - 4, Рисуноків – 5, Додатків – 4, загальний обсяг 44 сторінки.

Розділ 1. Хлорталідон, його фізико-хімічні та фармакологічні властивості, методи визначення, фармакологічні властивості.

1.1. Застосування хлорталідону. Фармакологія та фармакокінетика.

Хлорталідон являє собою синтетичний препарат, який відноситься до групи тіазидоподібних діуретиків і є похідним сульфонамідів [6], він схвалений Управлінням з контролю за якістю лікарських засобів та харчових продуктів США та відноситься до першої лінії в лікуванні хворих з артеріальною гіпертензією [7], адже в патогенезі АГ велику роль грає саме затримка рідини [10]. Застосовують його як у вигляді окремої діючої речовини, так і у складі комбінованих лікарських засобів. У пацієнтів, що мають ниркову дисфункцію, хронічну хворобу нирок, застійну серцеву недостатність, його застосовують для зменшення набряків. Якщо у пацієнта підозрюють резистентну артеріальну гіпертензію, то лікарі дотримуються рекомендацій [8], згідно яких, окрім безсоллової дієти, призначають антигіпертензивну терапію, компонентом якої є діуретик. Тіазидоподібні діуретики довели свою високу ефективність як в процесі виводу рідини та зменшенні внутрішньосудинного об'єму, так і в дії на інші механізми застою та зниженні ризиків частого виникнення серцево-судинних проблем [9]. Серед всіх тіазидоподібних діуретиків саме до хлорталідону відзначається високий інтерес, тому що він має достатню доказову базу, що підтверджує як ефективність його застосування, так і безпеку при лікуванні артеріальної гіпертензії, у той же час має гарний вплив на серцево-судинну систему та дає гарний прогноз [11]. Особливою перевагою цього препарату є його фармакоекономічна вигода та тривалість дії, що є найбільшою, а саме 72 години. Він має такі характеристики, що його застосовують один раз в день. Діє даний діуретик на рівні дистальних каналців нирок, пригнічує реабсорбцію йонів натрію та йонів хлору, через що виводиться біля 15% відфільтрованого натрію та посилюється реабсорбція йонів кальцію [12].

Хлорталідон починає діяти через 2-3 години після прийому, максимальна його дія настає через 4-24 години та може продовжуватись 2-3 доби. Наслідком діуретичної дії хлорталідону з довготривалим його прийомом є зменшення об'єму плазми крові, зниження судинного опору завдяки судиннорозширювальному ефекту, зменшення серцевого викиду та зменшення артеріального тиску [11,12]. Довгий термін прийому препарату призводить до нормалізації позаклітинного об'єму, зберігаючи антигіпертензивну ефективність, що може відбуватись через пізніше зменшення концентрації йонів натрію у судинних стінках і, відповідно, зменшення чутливості до норадреналіну.

Окрім антигіпертензивної дії та діуретичного ефекту хлорталідон також зменшує рівень трансформуючого фактору росту $\beta 1$ та $\beta 3$, що пов'язаний з внутрішньоклітинним балансом рідини та серцевим фіброзом, сприяє ангіогенезу та знижує агрегацію тромбоцитів і проникність судинних стінок. Він також сприяє покращенню функції ендотелію, зменшує маркери запалення та окисного стресу, знижує гіпертрофію лівого шлуночка, що пов'язана з високим ризиком серцево-судинної хвороби та смерті [11].

Фармакокінетика.

Всмоктування хлорталідону із шлунково-кишкового тракту є досить повільним. Час всмоктування половини кількості прийнятого препарату складає 2,6 години. Біодоступність при прийомі перорально 50 мг препарату складає біля 64%. Близько 75% хлорталідону зв'язується з білками плазми крові та відбувається велике накопичення в еритроцитах, об'єм розподілу складає 4 л/кг [12]. Середній період напіввиведення препарату приблизно 50 годин через високий рівень зв'язування його з карбоангідразою еритроцитів, через що створюється особливий так званий резервуар, з якого поступово хлорталідон надходить в плазму. Таким чином підтримується рівень препарату для стабільного терапевтичного ефекту. Тому хлорталідон має безперервну та тривалу діуретичну дію навіть при прийомі його одноразово на добу [11].

Приблизно 70% препарату протягом 120 годин після прийому виводиться з організму з сечею та калом здебільшого у незміненому вигляді.

Хлорталідон має наступні показання до застосування:

- лікування артеріальної гіпертензії;
- лікування набряків: нефрогенних, печінкових, серцевих;
- лікування нефрогенного нецукрового діабету (при виключенні інших лікувальних заходів);
- лікування хронічної серцевої недостатності [12].

Протипоказами застосування хлорталідону є гіперчутливість до препарату або до інших тiazидів та похідних сульфонамідів, або до якогось компоненту лікарського засобу; анурія; виражена ниркова недостатність, печінкова тяжка недостатність (печінкова кома або прекома); гіперкальціємія; гіпонатріємія; гіперурикемія; гіпокаліємія, що резистентна до терапії, або стан з високою втратою калію [12].

Щодо особливостей застосування лікарських засобів, діючою речовиною яких є хлорталідон, то їх з обережністю застосовують пацієнти з хворобами нирок. Вони можуть викликати азотемію в даному випадку. При постійному зловживанні може виникнути псевдосиндром Барттера, що веде до розвитку набряку. Пацієнти з порушеннями функції печінки також мають приймати хлорталідон обережно, тому що порушення водно-електролітного балансу через дію діуретика може призвести до печінкової коми (особливо у хворих на цироз печінки).

Прийом хлорталідону може мати вплив на толерантність до глюкози у хворих на цукровий діабет та може порушити метаболізм. При лікуванні хлорталідоном може підніматись рівень сечової кислоти, що потребує уваги при терапії у пацієнтів з подагрою. При тривалому лікуванні діуретиками може спостерігатись підвищення кількості загального холестерину, тригліцеритів та ліпопротеїнів низької щільності у плазмі крові. Постійно слід контролювати сироваткові електроліти, особливо людям похилого віку, оскільки діуретики можуть призвести до порушення водно-електролітного

балансу. Щоб уникнути розвитку гіпокаліємії хлорталідон може поєднуватись з препаратами калію або калійзберігаючими діуретиками [12].

Препарати з хлорталідоном або іншими тiazидоподібними діуретиками можуть призвести до зниження екскреції кальцію з сечею та привести до збільшення сироваткового кальцію. Також можливе збільшення виведення магнію, що може викликати гіпомагніємію. Пацієнти, які страждають на серцеву недостатність, можуть мати зменшене всмоктування хлорталідону. Пацієнти з бронхіальною астмою та алергією можуть мати гіперчутливість до препарату [12].

Отже, при лікуванні хлорталідоном потрібно вживати достатню кількість води, вживати продукти, що містять калій, регулярно проходити медичні огляди з метою контролю рівня електролітів, сечової кислоти, ліпідів та цукру у крові, та припинити прийом препарату при наступних станах:

- порушення електролітного балансу;
- панкреатит;
- анемія, лейкопенія або інші порушення системи крові;
- гіперчутливість;
- порушення шлунково-кишкового тракту;
- порушення центральної нервової системи;
- гострий холіцистит.

Зазвичай хлорталідон приймають у найнижчій ефективній дозі за призначенням лікаря (при лікуванні АГ 12,5 – 50 мг в день) , яка може бути збільшена через 2-3 тижні, не раніше. Тривалість лікування також визначає лікар і припиняють прийом препарату поступовим зменшенням дози. При набряках та серцевій недостатності початкова доза 50 – 100 мг в день, при нефрогенному нецукровому діабеті – 100 мг двічі на день. Дітям хлорталідон не призначають [12].

При передозуванні хлорталідоном можливі наступні симптоми: нудота, слабкість, біль у м'язах, головний біль, тахікардія. Зневоднення може викликати судоми, сплутаність свідомості, гостру ниркову недостатність.

При передозуванні хлорталідонем необхідно промити шлунок, прийняти сорбент. Потрібен контроль життєвих параметрів, можливо введення електролітів і рідини внутрішньовенно.

Можливі побічні реакції від прийому хлорталідону з боку різних систем, серед тих, що трапляються часто можна виділити головний біль, слабкість, сухість у роті, нудоту, запор, діарею, гіпокаліємію, гіперурикемію, збільшення рівня холестерину у крові та тригліцеридів, гіпотензію, кропив'янку, м'язові судоми, імпотенцію [12].

1.2. Будова, фізико-хімічні властивості та отримання хлорталідону.

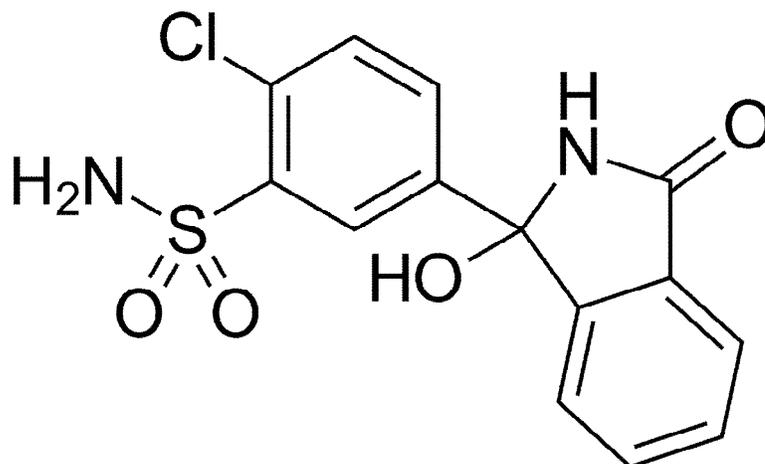


Рис.1. Хлорталідон [6].

Хлорталідон (Chlortalidonum) має систематичну назву за IUPAC 2-хлор-5-(2,3-дигідро-1-гідрокси-3-оксо-1H-ізоіндол-1-іл)бензолсульфонамід (C₁₄H₁₁ClN₂O₄S).

Молекулярна маса 338,766 г/моль.

T_{пл} = 220°C.

Це білий або жовто-білого кольору ристалічний порошок, який практично не розчиняється у воді, але розчиняється в метанолі та ацетоні,

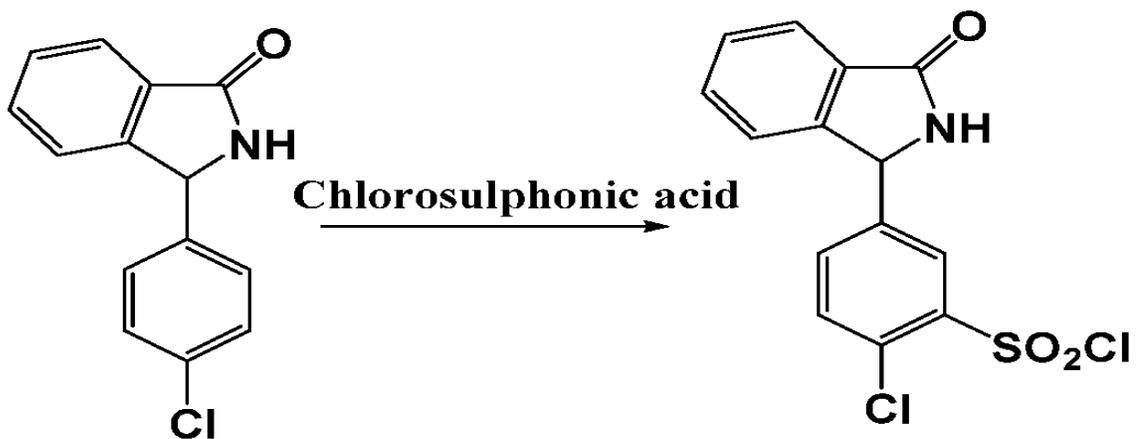
мало розчиняється в етиловому спирті. Розчиняється також в розчинах лугів розведених [13].

Отримання хлорталідону є складним багатостадійним процесом, вихідною речовиною для якого є фталева кислота. В процесі синтезу виконуються реакції з хлорсульфоновою кислотою, амоніаком, калію ціанідом, кожна з яких має проводитись в певних умовах.

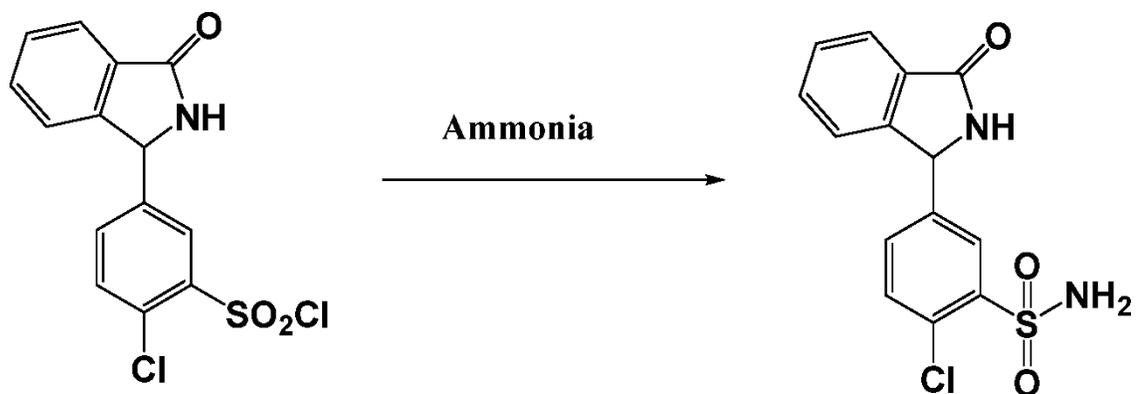
Є також спосіб отримання хлорталідону з 2-(3-аміно-4-хлорбензоїл)бензойної кислоти використовуючи процеси діазотування, заміщення, хлорсульфування, циклізації, амінування, в результаті чого утворюються тіоредіазинонові проміжні речовини, які надалі реагують з вулканізуючими агентом, утворюючи проміжний вулканізований продукт, який перетворюють в хлорталідон подальшими хімічними перетвореннями [14].

Промисловий спосіб отримання хлорталідону відбувається згідно наступних схем [15]:

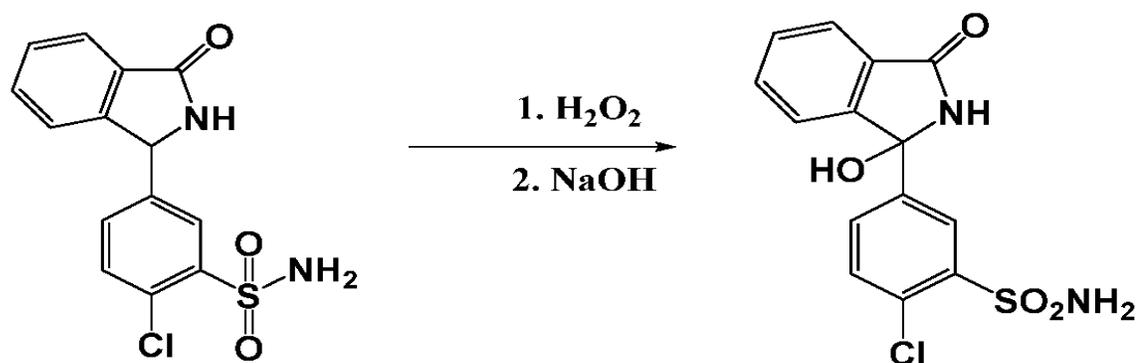
1. Дія на комерційно доступну сполуку хлоруючого агента в присутності хлорсульфонової кислоти:



2. Наступна реакція з амоніаком:



3. Послідовна взаємодія отриманої сполуки з гідроген пероксидом, потім з лугом для отримання неочищеного хлорталідону.



Після чого проводять очищення отриманого хлорталідону [15].

1.3. Ідентифікація хлорталідону.

В Державній фармакопеї України (ДФУ) відсутня стаття щодо хлорталідону, згідно ж Європейській фармакопеї (Ph.Eur.) наведені наступні методи ідентифікації хлорталідону [16]:

1. За спектром поглинання в інфрачервоній області (порівнюють зі стандартом хлорталідону).
2. Спектрофотометрія в ультрафіолетовій області спектру. Спектр поглинання в області довжин хвиль від 260 нм до 310 нм має відповідати спектру поглинання стандартного зразку. Максимуми поглинання мають спостерігатись при λ 275 нм та λ 284 нм.

3. Методом тонкошарової хроматографії. На хроматограмі досліджуваного розчину основна зона адсорбції по розшташуванню, інтенсивності поглинання та величині має відповідати основній зоні адсорбції на хроматограмі розчину стандартного зразку хлорталідону.
4. За величиною питомого оптичного обертяння розчину субстанції хлорталідону у метанолі.
5. За появою жовтого забарвлення при розчиненні досліджуваного зразку в концентрованій сульфатній кислоті [13].

1.4. Кількісне визначення хлорталідону.

Відповідно до Європейської фармакопеї (Ph.Eur.) хлорталідон кількісно визначають методом рідинної хроматографії. В якості рухомих фаз використовують розчин метанолу та розчин амонію фосфату з рН 5,5 [16].

Інший відомий метод кількісного визначення хлорталідону – титриметричний метод розчином тетрабутиламонію гідроксиду в ацетоні. Визначення проводять в атмосфері азоту. Точку еквівалентності визначають потенціометрично.

Є відомості про визначення хлорталідону у таблетках методом онлайнної фотохімічної деградації, що відбувається у уже кислому середовищі, з подальшим хемілюмінесцентним визначенням фрагментів використовуючи Се (IV) з родаміном [17].

Використовують також метод визначення хлорталідону в субстанції шляхом спалювання в кисні та наступним титруванням розчином меркурію нітрату з індикатором дифенілкарбазоном [17].

Метод високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ), який рекомендований в різних нормативних документах для кількісного визначення хлорталідону в лікарських засобах, є дороговартнісним, довготривалим, трудомістким та вимагає великої кількості різних реактивів та органічних розчинників, таких як метиловий спирт, ацетонітрил, н-пропіловий спирт та інші. Крім того в даному випадку аналіз повинен

проводити спеціаліст, який спеціально підготовлений для роботи з рідинним хроматографом.

Велика кількість різних методів не надає точних даних про кількість хлорталідону в таблетованій лікарській формі різних виробників, тому є необхідність розробити методику кількісного аналізу хлорталідону в таблетованій лікарській формі.

Оскільки велику увагу наразі приділяють зменшенню трудомісткості процесу та збільшенню економічності методик, ми акцентували свою увагу на розробці спектрофотометричного методу визначення хлорталідону у таблетованій лікарській формі.

1.5. Використання спектрофотометрії в кількісному аналізі та в аналізі лікарських засобів.

Серед оптичних методів аналізу спектрофотометричний аналіз є дуже поширеним і часто використовується для контролю якості лікарських засобів, для ідентифікації та для визначень на чистоту ЛЗ. Цей фізико-хімічний інструментальний метод має в основі вимірювання інтенсивності світла, що поглинається певною речовиною при властивій їй довжині хвилі. Дослідження можна проводити в досить широких діапазонах довжин хвиль – в видимій, ультрафіолетовій та інфрачервоній областях спектру. Оптична густина, або абсорбція, розчину має пряму залежність від його концентрації, на чому і базується кількісне визначення даним методом. Закон, що описує цю пряму залежність - закон Бугера-Ламберта-Бера, згідно якого здатність поглинати світло при певній довжині хвилі залежить від природи речовини, її концентрації та товщини шару розчину, через який пропускається світло [18].

Спектрофотометричний аналіз має досить багато переваг серед інших популярних фізико-хімічних методів, до яких відноситься економічність методу (найчастіше він не потребує дорогих реактивів, і самі спектрофотометри мають порівняно невисоку вартість), швидкість методу (не потребує довготривалої пробопідготовки та проводиться досить швидко),

має високу чутливість (дає змогу визначати мікрокількості досліджуваних речовин), може застосовуватись для аналізу і субстанцій і лікарських форм, не потребує довгого навчання спеціалістів для роботи з приладом.

Для початку зазвичай вивчають спектр поглинання досліджуваної речовини в розчині, що являє собою залежність абсорбції (оптичної густини) від величини довжини електромагнітної хвилі, що дає змогу визначити оптимальні умови, тобто оптимальну довжину хвилі, для подальших визначень. Далі обирають один із відомих способів спектрофотометричних визначень, найпоширенішим і найпростішим з яких є метод побудови градуовального графіка, тобто залежності величини оптичної густини аналізованого розчину від його концентрації, для чого готують серію розчинів, що мають різну відому концентрацію, та вивчають їх величину абсорбції при оптимальній довжині хвилі і за отриманими даними будують графік, що має вигляд прямої лінії (відповідно до закону Бугера-Ламберта-Бера). Користуючись градуовальним графіком можна легко і швидко визначити концентрацію досліджуваної речовини в аналізованому розчині.

Розділ 2. Експериментальна частина.

Випускна кваліфікаційна робота виконана в Національному медичному університеті імені О.О. Богомольця на кафедрі аналітичної, фізичної та колоїдної хімії.

2.1. Матеріали і методи.

2.1.1. Мета дослідження. Розробка методики спектрофотометричного кількісного визначення хлорталідону у таблетованій лікарській формі.

2.1.2. Об'єкти дослідження. Для розробки спектрофотометричної методики визначення хлорталідону обрали лікарські засоби Таклор (ПАТ «Київмедпрепарат» (Україна, Київ)) та Таліпрес Асіно (виробник ТОВ «Фарма Старт» (Україна, Київ)), які мають нижче наведений склад:

Зразок 1. Таклор (ПАТ «Київмедпрепарат» (Україна, Київ))Склад: 1 таблетка
1 таблетка містить хлорталідон 25 мг.

Допоміжні речовини: целюлоза мікрокристалічна, лактоза моногідрат, повідон, безводний колоїдний кремнію діоксид, магнію стеарат, натрію крохмальгліколят [19].

Зразок 2. Таліпрес Асіно (виробник ТОВ «Фарма Старт» (Україна, Київ)).

1 таблетка містить хлорталідон 25 мг.

Допоміжні речовини: целюлоза мікрокристалічна, лактоза моногідрат, повідон, безводний колоїдний кремнію діоксид, магнію стеарат, гіпромелоза, натрію крохмальгліколят [20].



Рис. 2. Досліджувані Зразки.

2.1.3. Використані обладнання та посуд.

1. Лабораторні ваги MettlerToledo XS204.
2. Мірний посуд (мірні колби, мірні піпетки).
3. рН-метр рН -150 МІ
4. Електроди для рН-метра - скляний та хлорсрібний.
5. Спектрофотометр SPECORD 200-222 U 214.
6. Кварцеві прямокутні кювети (товщина шару 10 мм).

2.1.4. Використані реактиви та розчини.

1. Фармакопейний стандартний зразок (ФСЗ) хлорталідону. Номер каталожний С0659, реєстраційний - 77-36-1.
2. Вода дистильована.
3. Розчин калію гідроксиду з концентраціями 0,1 моль/л та 0,01 моль/л.
4. Розчин натрію гідроксиду з концентраціями 0,1 моль/л та 0,01 моль/л.

5. Розчин сульфатної кислоти з концентраціями 0,1 моль/л та 0,01 моль/л.

2.1.5. Стандартний розчин (приготування).

Фармацевтичний стандартний зразок хлорталідону масою 0,1 г (точна наважка) розчиняли в розчині сульфатної кислоти з концентрацією 0,01 моль/л в мірній колбі ємністю 100 мл, доводили до мітки тим же розчинником та добре перемішували. Концентрація одержаного розчину 1 мг/мл.

2.1.6. Приготування розчинів досліджуваних Зразків.

Досліджуваний зразок (1 таблетку) розтирали в ступці в порошок, кількісно переносили в мірну колбу об'ємом 100 мл, додавали розчин сульфатної кислоти з концентрацією 0,01 моль/л та гарно перемішували до розчинення зразку, доводили тим же розчинником до позначки колби та старанно перемішували.

2.1.7. Визначення хлорталідону спектрофотометрично.

Розведенням необхідного об'єму стандартного розчину хлорталідону розчином сульфатної кислоти з концентрацією 0,01 моль/л готують 100 мл розчину у мірній колбі та добре перемішують. Вимірювали оптичну густину отриманого та досліджуваних розчинів Зразків на спектрофотометрі відносно розчину порівняння – розчину сульфатної кислоти з концентрацією 0,01 моль/л, використовуючи кварцеві кювети з товщиною шару 10 мм при довжині хвилі λ 275 нм. Концентрацію хлорталідону в розчинах досліджуваних зразків та модельного розчину визначали методом побудови градуювального графіку.

Розділ 3. Результати та їх обговорення.

3.1. Спектр поглинання та визначення оптимальної довжини хвилі.

Згідно Європейській фармакопеї відомо, що хлорталідон поглинає світло в ультрафіолетовій області, тому ми проводили реєстрацію спектральних характеристик ФСЗ хлорталідону в області від 220 нм до 340 нм та будували спектр поглинання - графічну залежність оптичної густини розчину від довжини хвилі за результатами отриманих даних (рис. 3).

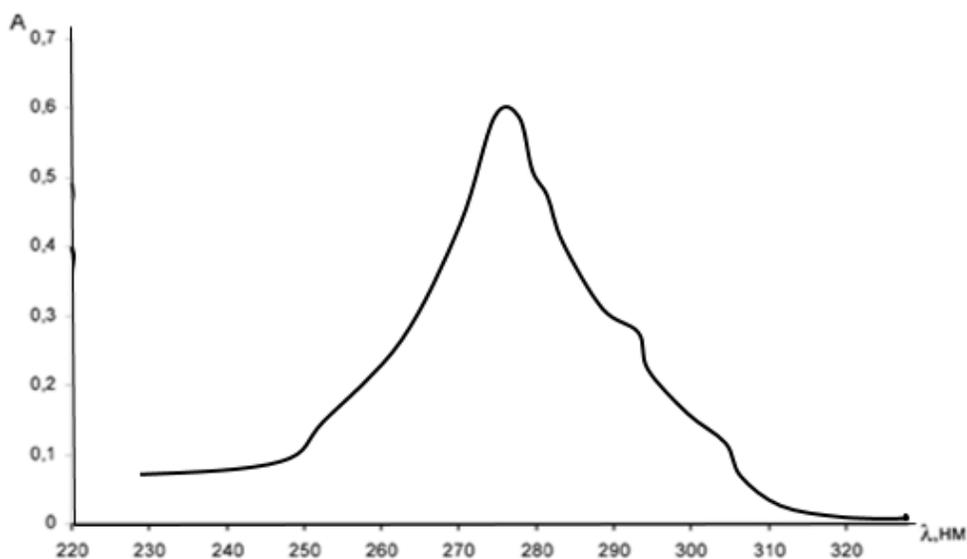


Рис. 3. Спектр поглинання хлорталідону.

Можна зробити висновок, що оптимальною довжиною хвилі для подальших вимірювань є λ 275 нм.

3.2. Вибір розчинника та умов спектрофотометричного дослідження.

В якості розчинника хлорталідону нами був обраний розчин сульфатної кислоти з концентрацією 0,01 моль/л. Насамперед вибір обумовлений доступністю та дешевизною розчинника, його нетоксичністю та високою

здатністю до розчинення. Дослідження спектрів поглинання хлорталідону здійснювали в різних розчинниках, серед яких розчин сульфатної кислоти, розчин хлоридної кислоти, розчини калію гідроксиду та натрію гідроксиду з різними концентраціями. Порівнюючи отримані спектри зробили висновок, що саме при використанні сульфатної кислоти з концентрацією 0,01 моль/л зменшується кількість сторонніх сигналів.

Спектри поглинання хлорталідону вивчалися також на модельних розчинах при різних концентраціях хлорталідону та незмінних кількостях допоміжних речовин. Дійшли висновку, що допоміжні речовини не впливають на максимум поглинання хлорталідону. Отримані спектри поглинання наведені на рис. 4.

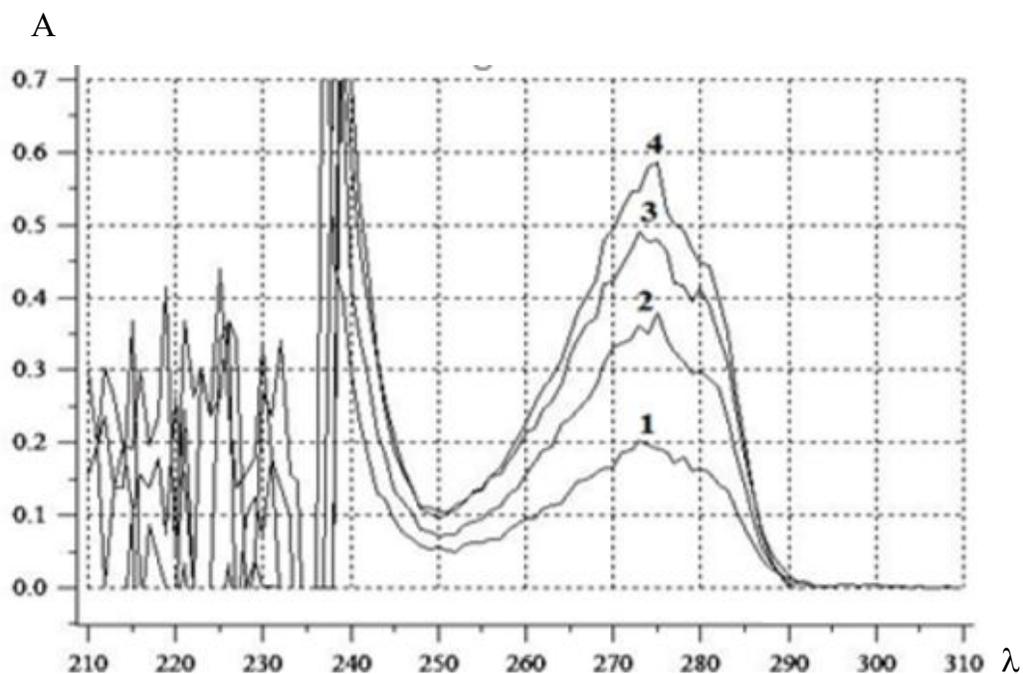


Рис. 4. Спектр поглинання розчину хлорталідону при різних концентраціях: 1. 0,02 мг/мл; 2. 0,06 мг/мл; 3. 0,08 мг/мл; 4. 0,1 мг/мл.

3.3. Залежність оптичної густини розчину хлорталідону від його концентрації. Градувальний графік.

Для того, щоб побудувати градувальний графік залежності оптичної густини розчину хлорталідону від його концентрації, готували серію

стандартних розчинів з різною концентрацією методом розведення стандартного розчину. Проводили вимірювання величини оптичної густини кожного розчину за довжини хвилі λ 275 нм згідно методики, яка описана у п. 2.1.7.

Отримані результати вимірювань наведені в Таблиці 1.

Таблиця 1. Залежність оптичної густини розчинів хлорталідону від концентрації.

№ розчину	Концентрація розчину хлорталідону, мкг/мл	Оптична густина, А
1	0,01	0,03
2	0,03	0,12
3	0,05	0,21
4	0,07	0,31
5	0,09	0,4
6	0,11	0,5
7	0,13	0,59
8	0,15	0,69
9	0,17	0,79
10	0,19	0,89

За отриманими результатами здійснювали побудову градувального графіку залежності оптичної густини розчину хлорталідону від концентрації, що наведений на рис. 5.

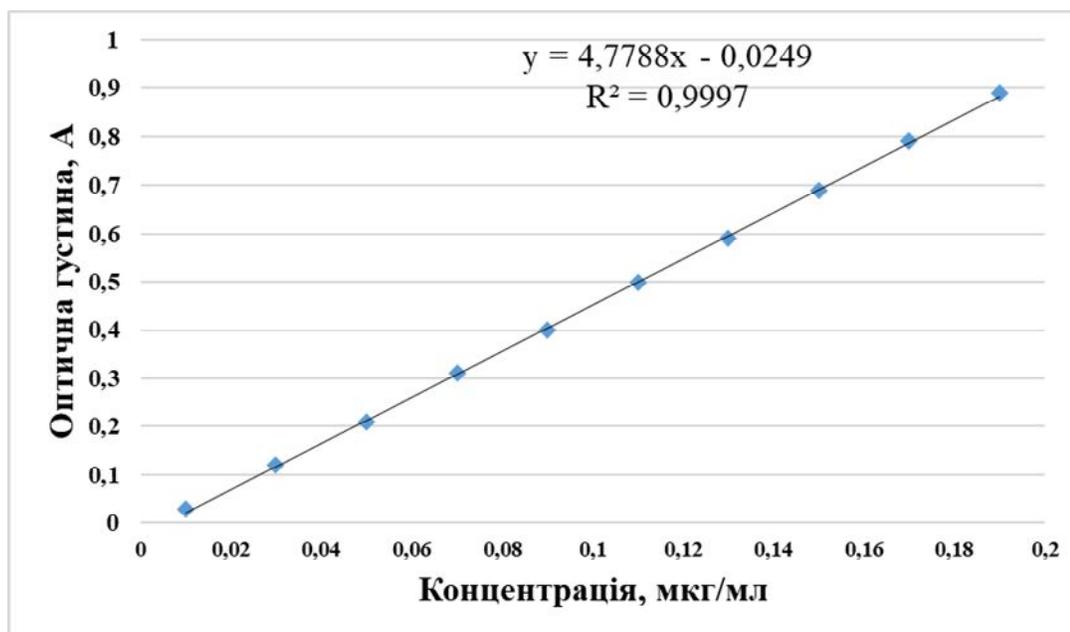


Рис. 5. Градувальний графік

Статистичну обробку параметрів лінійності здійснювали методом найменших квадратів [21] та отримали функцію лінійної $y = 4,7788 \cdot x - 0,0249$ (коефіцієнт кореляції $R^2 = 0,9997$).

Загальний вигляд функції лінійної регресії як $y = b \cdot x - a$. Були розраховані стандартні відхилення, а також довірчі інтервали для коефіцієнтів лінійної регресії a та b [21].

$$s_0^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{v} = 2,43944 \cdot 10^{-5}$$

$$s_b^2 = \frac{n \cdot s_0^2}{n \cdot \sum_{i=1}^n x_i^2 - (\sum_{i=1}^n x_i)^2} = 0,000739$$

$$s_a^2 = \frac{s_b^2}{n} \cdot \sum_{i=1}^n x_i^2 = 9,8317 \cdot 10^{-6}$$

$$s_b = \sqrt{s_b^2} = 0,027189$$

$$s_a = \sqrt{s_a^2} = 0,003136$$

Отримали стандартне відхилення для коефіцієнта a - 0,027189, для коефіцієнта b - 0,003136.

Розраховуючи довірчий інтервал виписали значення коефіцієнта Стьюдента при довірчій ймовірності $P = 0,95$ та ступенях свободи $\nu = 8 - t(0,95; 8) = 2,3060$.

Розраховали довірчий інтервал для коефіцієнта a :

$$a \pm s_a \cdot t(0,95; 8) = 0,0249 \pm 0,00723$$

Та довірчий інтервал для коефіцієнта b :

$$b \pm s_b \cdot t(0,95; 8) = 4,7788 \pm 0,06270$$

Робимо висновок, що всі вимоги щодо лінійності виконуються в нашому інтервалі концентрацій і залежність оптичної густини розчинів хлорталідону від концентрації лінійна.

3.4. Кількісне визначення хлорталідону в досліджуваних зразках. Статистична обробка результатів визначень.

Для кількісного визначення хлорталідону в досліджуваних Зразках готували розчини Зразків 1 та 2 за методикою, описаною в п. 2.1.6. Здійснювали вимірювання величини оптичної густини одержаних розчинів відповідно до методики, описаної в п. 2.1.7., при величині довжини хвилі 275 нм відносно компенсаційного розчину – розчину сульфатної кислоти з концентрацією 0,01 моль/л. Для отримання більш точних результатів вимірювання проводили для кожного зразку по 7 разів. Здійснювали статистичну обробку одержаних результатів [21], параметри якої разом з результатами вимірювань наведені в Таблиці 2.

За даними інструкції до медичного застосування Зразок № 1 та Зразок № 2 містять по 25 мг хлорталідону.

Дані, отримані в результаті визначень, дають змогу зробити висновок, що істинне значення вмісту хлорталідону у Зразках (25 мг) перебуває у межах довірчого інтервалу, значить, результати визначень насправді правильні.

Таблиця 2. Кількісне визначення хлорталідону у Зразках (відповідно до інструкції вміст у зразках 25 мг)

	Маса хлорталідону у твердій лікарській формі, враховуючи розведення, мг	
	Зразок 1	Зразок 2
1	24,97	25,04
2	24,97	25,02
3	24,99	25,04
4	25,03	25,01
5	24,99	24,97
6	25,02	24,99
7	25,03	25,01
Середнє значення, \bar{x}	25,00	25,01
Стандартне відхилення, s	0,0264	0,0254
Дисперсія, s^2	0,000700	0,000648
Відносне стандартне відхилення, RSD %	0,106	0,102
Довірчий інтервал, $\bar{x} \pm \Delta_{\bar{x}}$	25,00 \pm 0,024	25,01 \pm 0,024
Відносна похибка середнього значення, \bar{F} , %	0,0979	0,0941

Отже, лінійність та правильність методики доведені і необхідно оцінити її за такими валідаційними характеристиками як робастність, прецизійність, специфічність [22, 23], для того, щоб виявити, чи будуть

залежати результати визначень від самого аналітика (його особистих умінь та навичок), від місця проведення аналізу та часу його здійснення.

3.4.1. Робасність, прецизійність, специфічність методики.

Для оцінки точності методики визначення хлорталідону у таблетованій лікарській формі методом спектрофотометрії ми вивчали внутрішньолабораторну прецизійність та збіжність отриманих результатів [22]. Прецизійність демонструє міру відхилення або близькості одержаних результатів при різних вимірюваннях, тому ми здійснювали 5 вимірювань кожного зразка, які ми брали для аналізу, та, згідно вимог ДФУ, проводили розрахунки середнє значення отриманих результатів, значення стандартного відхилення, величину дисперсії, величину відносного стандартного відхилення. Розраховували також довірчий інтервал та відносну похибку середнього значення [21].

У таблиці 3 наведені результати проведених визначень та результати відповідних розрахунків, що проводились для Зразка 1, а в таблиці 4 – для Зразка 2.

Можемо зробити висновок, що методика точна на рівні внутрішньолабораторної точності та збіжності, оскільки відносний довірчий інтервал менший за максимальну припустиму невизначеність, а це відповідає критерію прийнятності [21].

Вивчаючи робасність, тобто перевіряючи, чи будуть якісь незначні зміни впливати на точність на відтворюваність методики, ми проводили визначення у різні дні з перервою у декілька днів, проводили визначення також різні аналітики. Результати проведених аналізів у різні дні наведено в таблицях 3 та 4 для різних зразків. В результаті розраховані і стандартне відхилення і відносна похибка середнього значення, яка має величину менше 2%, що доводить високу повторюваність результатів.

Таблиця 3. Здійснення перевірки прецизійності методики визначення хлорталідону методом спектрофотометрії (внутрішньолабораторна точність).

№ проби	Зразок 1, знайдено хлорталідону, враховуючи розведення, мг	
	День 1	День 2
1	25,04	25,01
2	25,05	24,98
3	25,01	25,01
4	25,06	25,06
5	25,08	24,97
Середнє значення, \bar{x}	25,05	25,01
Стандартне відхилення, s	0,0259	0,0351
Дисперсія, s^2	0,000670	0,00123
Відносне стандартне відхилення, RSD %	0,103	0,140
Довірчий інтервал, $\bar{x} \pm \Delta_{\bar{x}}$	25,05 \pm 0,032	25,01 \pm 0,043
Відносна похибка середнього значення, $\bar{\epsilon}$, %	0,128	0,174

Істинний кількісний вміст хлорталідону у Зразку 1 (25 мг) знаходиться в межах довірчого інтервалу, отже результати дослідження правильні.

При виборі умов спектрофотометричного визначення хлорталідону готували модельні суміші та, крім ФСЗ хлорталідону, додавали целюлозу, магнію стеарат, натрію крохмальгліколят та спектрофотометрували дані

розчини. З'ясували, що компоненти модельних сумішей не впливали на положення максимуму поглинання та його висоту, а також зберігалась лінійна залежність оптичної густини розчинів від концентрації. При фіксуванні спектрів поглинання розчинів, приготовлених з таблетованих форм Зразків 1 та 2 дійшли висновку, що їх аналітичні сигнали не відрізняються від сигналів модельних сумішей та від сигналу розчину стандартного зразку, отже, допоміжні речовини в таблетованій лікарській формі не заважають аналітичному сигналу досліджуваної речовини

Отже, можемо зробити висновок, що дана методика спектрофотометричного визначення хлорталідону є специфічною.

Метрологічні характеристики, відповідно до вимог ДФУ, а саме середнє значення одержаних результатів, стандартне відхилення, величину дисперсії, відносне стандартне відхилення, довірчий інтервал та величину відносної похибки середнього значення розраховували за наведеними нижче формулами [21].

RSD - відносне стандартне відхилення:

$$RSD = s_r \cdot 100\%,$$

$$s_r = \frac{s}{\bar{x}},$$

де s – стандартне відхилення

Величина дисперсії:

$$s^2 = \frac{\sum_{i=1}^n x_i^2 - n \cdot \bar{x}^2}{v},$$

де \bar{x} – середнє значення результатів вимірювань, v – число ступенів свободи, n – обсяг вибірки, x_i – усі значення даної вибірки.

Довірчий інтервал:

$$\bar{x} \pm \Lambda_{\bar{x}}$$

Відносна похибка середнього значення:

$$\bar{\varepsilon} = \frac{\Delta\bar{x}}{\bar{x}} \cdot 100\%$$

Таблиця 4. Здійснення перевірки прецизійності методики визначення хлорталідону методом спектрофотометрії (внутрішньолабораторна точність).

№ проби	Зразок 2, знайдено хлорталідону, враховуючи розведення, мг	
	День 1	День 2
1	24,7	24,9
2	24,9	25,1
3	24,9	24,8
4	24,7	24,8
5	25,1	25,2
Середнє значення, \bar{x}	24,9	25,0
Стандартне відхилення, s	0,167	0,181
Дисперсія, s^2	0,0280	0,0330
Відносне стандартне відхилення, RSD %	0,673	0,728
Довірчий інтервал, $\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$	24,9 \pm 0,21	25,0 \pm 0,22
Відносна похибка середнього значення, $\bar{\varepsilon}$, %	0,836	0,904

Так само, істинний кількісний вміст хлорталідону у Зразку 2 (25 мг) знаходиться в межах довірчого інтервалу, отже результати дослідження правильні.

3.5. Порівняльний аналіз методик кількісного визначення хлорталідону.

Після проведеного аналізу відомих методів кількісного визначення хлорталідону можемо констатувати, що в основному при контролі якості ліків даний активний фармацевтичний інгредієнт визначають методом рідинної хроматографії або ВЕРХ. Цей метод вважається швидким, але, якщо врахувати пробопідготовку, промивання колонки та стабілізацію, то займає досить багато часу, значно більше, ніж виконувати спектрофотометричне визначення. Крім того ВЕРХ дороговартісний метод, що вимагає дорогого обладнання, розчинників високої чистоти та постійної заміни колонок, що теж є дороговартісним. Інші відомі методи, включаючи титриметричний у атмосфері азоту та метод онлайнової фотохімічної деградації з подальшим хемілюмінесцентним визначенням, ще більш трудомісткі та складні у виконанні та створенні відповідних умов, використовують токсичні речовини та для їх виконання необхідні висококваліфіковані аналітики.

При цьому метод спектрофотометричного визначення вирізняється простотою у виконанні, порівняно низькою вартістю, доступністю реактивів та розчинників. У той же час він точний та має високу чутливість та відтворюваність результатів вимірювань.

ВИСНОВКИ

- Здійснено аналіз та вивчення фізико-хімічних, фармакологічних властивостей хлорталідону, властивостей та механізму його дії, особливостей застосування в медицині, побічних реакцій та протипоказань.
- Проаналізовані методики якісного та кількісного визначення хлорталідону: рідинна хроматографія, титриметричний аналіз в неводному середовищі та інші.
- Представлена методика спектрофотометричного кількісного визначення хлорталідону у таблетованій лікарській формі, виконана її часткова валідація.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Качан О. М., Галієнко Л. І. Артеріальна гіпертензія – актуальна проблема сьогодення. *Моє здоров'я - моє право: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю до Всесвітнього дня здоров'я 2024 р.*, 5 квіт. 2024 р. К. : НМУ, 2024. с. 47.
2. С.М. Коваль, Л.А. Резнік, Т.Г. Старченко. Особливості перебігу артеріальної гіпертензії у хворих після перебування в зоні бойових дій на Харківщині. *Український терапевтичний журнал*. №3, 2023, ст. 5-12
3. Mancia G., Kreutz R., Brunström M. et al. (2023) 2023 ESH Guidelines for the management of arterial hypertension The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension: Endorsed by the International Society of Hypertension (ISH) and the European Renal Association (ERA). *J. Hypertens.*, 41(12): 1874–2071. doi: 10.1097/HJH.0000000000003480
4. Т.Л. Можина. Місце тiazидоподібного діуретика хлорталідону в лікуванні артеріальної гіпертензії: дані оновлених настанов ESC (2023) Посилання: www.umj.com.ua/uk/publikatsia-249695-mistse-tiazidopodibnogo-diuretika-hlortalidonu-v-likuvanni-arterialnoyi-gipertenziyi-dani-onovlenih-nastanov-esc-2023
5. Електронний ресурс. Режим доступу: <https://cpmsd7.lic.org.ua/novyny/voyenne-sertse-yak-vijna-provokuye-zrostannya-zahvoryuvanosti-na-arterialnu-gipertenziyu-v-ukrayini/>
6. Електронний ресурс. Режим доступу: <https://uk.wikipedia.org/wiki/%D0%A5%D0%BB%D0%BE%D1%80%D1%82%D0%B0%D0%BB%D1%96%D0%B4%D0%BE%D0%BD>
7. Електронний ресурс. Режим доступу: <https://health-ua.com/cardiology/arterialna-gipertenzia/77669-tazidopodbnij-duretik-hlortalidon-yakzasb-alternativno-terap-rezistentno-gpe>

8. Carey R.M., Calhoun D.A., Bakris G.L. Resistant hypertension: detection, evaluation, and management: a scientific statement from the American heart association. Hypertension. *American Heart Association Professional. Public Education and Publications Committee of the Council on Hypertension*. 2018, 72: p.3 – p.90.
9. Електронний ресурс. Режим доступу: www.umj.com.ua/uk/publikatsia-251912-tiazidni-diuretiki-do-ta-pislya-toj-samij-ale-zovsim-inshij-patsiyent
10. Titze J., Machnik A. Sodium sensing in the interstitium and relationship to hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens.*, 2010, 19, 385–92.
11. Електронний ресурс. Режим доступу: <https://www.mif-ua.com/archive/article/50781>
12. Електронний ресурс. Режим доступу: <https://compendium.com.ua/dec/413654/673753/>
13. Електронний ресурс. Режим доступу: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/216/xlortalidon#:~:text=%D0%9A%D1%96%D0%BB%D1%8C%D0%BA%D1%96%D1%81%D0%BD%D0%BE%20%D0%B2%D0%B8%D0%B7%D0%BD%D0%B0%D1%87%D0%B0%D1%8E%D1%82%D1%8C%20%D1%82%D0%B8%D1%82%D1%80%D1%83%D0%B2%D0%B0%D0%BD%D0%BD%D1%8F%D0%BC%20%D1%80%D0%BE%D0%B7%D1%87%D0%B8%D0%BD%D0%BE%D0%BC%20%D0%B3%D1%96%D0%B4%D1%80%D0%BE%D0%BA%D1%81%D0%B8%D0%B4%D1%83,%D0%90>.
14. Електронний ресурс. Режим доступу: <https://www.bocsci.com/products/im-chlorthalidone-and-impurities-list-601.html#:~:text=Chlorthalidone%20is%20obtained%20from%20,Chlorthalidone%20by%20further%20chemical%20reaction>.
15. Електронний ресурс. Режим доступу: <https://patents.google.com/patent/WO2018158777A1/en>
16. European Pharmacopoeia 9.8. Schisandra fruit. European directorate for the quality of medicines. Strasburg. – 2019. P. 1863-1865.

17. Ю. Цирульнева, О. Запорожець. Сучасні методи визначення діуретиків у фармацевтичних та біологічних об'єктах. *Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Хімія*. 2014., Вип. 1., с. 17-26.
18. Фармацевтичний аналіз (Блок 2. Кількісне визначення АФІ) : навчальний посібник для практичних занять студентів III-VI курсів II фармацевтичного факультету спеціальності 226 «Фармація, промислова фармація». Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, О. О. Портна [та ін.]. – Запоріжжя : [ЗДМФУ], 2024. – 141 с.
19. Електронний ресурс. Режим доступу: <https://tabletki.ua/uk/%D0%A2%D0%B0%D0%BA%D0%BB%D0%BE%D1%80/39897/>
20. Електронний ресурс. Режим доступу: <https://tabletki.ua/uk/%D0%A2%D0%B0%D0%BB%D0%B8%D0%BF%D1%80%D0%B5%D1%81%D0%90%D1%81%D0%B8%D0%BD%D0%BE/1059016/>
21. Пушкарьова, Я. М., & Зайцева, Г. М. (2024). Основи хімічної метрології. Режим доступу: <http://ir.librarynmu.com/handle/123456789/11217>
22. 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.
23. Георгіянц В.А. Валідація аналітичних методик у фармації : теорія, нормативні аспекти, проблеми практики. В.А. Георгіянц. О.А. Євтіфеева. *Фармацевтичний часопис*. 2007. №2. С.13 – 18.

ДОДАТКИ

Додаток 1.

Лабораторні терези Mettler Toledo XS204



Додаток 2.

Витяг з Європейської фармакопеї

EUROPEAN PHARMACOPOEIA 8.0

Chlortalidone

Related substances. Liquid chromatography (2.2.29). Carry out the test protected from bright light.

Test solution. Dissolve 20.0 mg of the substance to be examined in the mobile phase and dilute to 20.0 mL with the mobile phase.

Reference solution (a). Dissolve 20.0 mg of chlorprothixene hydrochloride CRS (with a defined content of (E)-isomer) in the mobile phase and dilute to 20.0 mL with the mobile phase.

Reference solution (b). Dilute 2.0 mL of the test solution to 100.0 mL with the mobile phase. Dilute 3.0 mL of this solution to 20.0 mL with the mobile phase.

Column:

- size: $l = 0.12$ m, $\varnothing = 4.0$ mm,
- stationary phase: base-deactivated octadecylsilyl silica gel for chromatography R (3 μ m or 5 μ m).

Mobile phase: solution containing 6.0 g/L of potassium dihydrogen phosphate R, 2.9 g/L of sodium laurylsulfate R and 9 g/L of tetrabutylammonium bromide R in a mixture of 50 volumes of methanol R, 400 volumes of acetonitrile R and 550 volumes of distilled water R.

Flow rate: 1.5 mL/min.

Detection: spectrophotometer at 254 nm.

Equilibration: for about 30 min with the mobile phase.

Injection: 20 μ L.

Run time: twice the retention time of chlorprothixene.

Relative retention with reference to chlorprothixene: impurity E = about 1.55.

System suitability: reference solution (a):

- retention time: chlorprothixene = about 10 min,
- relative retention with reference to chlorprothixene: (E)-isomer = about 1.35.

Limits:

- (E)-isomer: not more than 2.0 per cent, calculated from the area of the corresponding peak in the chromatogram obtained with reference solution (a) and taking into account the assigned content of this isomer in chlorprothixene hydrochloride CRS,
- impurity E: not more than 3 times the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (b) (0.3 per cent taking into account a response factor of 3),
- any other impurity: not more than the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (b) (0.3 per cent),
- total of any other impurity: not more than 2.33 times the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (b) (0.7 per cent),
- disregard limit: 0.1 times the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (b) (0.03 per cent).

Heavy metals (2.4.8): maximum 20 ppm.

1.0 g complies with test F. Prepare the reference solution using 2 mL of lead standard solution (10 ppm Pb) R.

Loss on drying (2.2.32): maximum 0.5 per cent, determined on 1.000 g by drying *in vacuo* at 60 °C for 3 h.

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

ASSAY

Dissolve 0.300 g in a mixture of 5.0 mL of 0.01 M hydrochloric acid and 50 mL of alcohol R. Carry out a potentiometric titration (2.2.20), using 0.1 M sodium hydroxide. Read the volume added between the 2 points of inflexion.

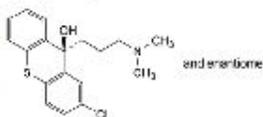
1 mL of 0.1 M sodium hydroxide is equivalent to 35.23 mg of $C_{18}H_{19}Cl_2NS$.

STORAGE

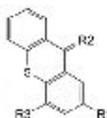
Protected from light.

IMPURITIES

Specified impurities: A, B, C, D, E, F.



A. (RS)-2-chloro-9-[3-(dimethylamino)propyl]-9H-thioxanthen-9-ol,

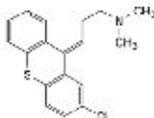


B. R1 = H, R2 = CH-CH₂-CH₂-N(CH₃)₂, R3 = H: N,N-dimethyl-3-(9H-thioxanthen-9-ylidene)propan-1-amine,

C. R1 = Cl, R2 = CH-CH₂-CH₂-NH-CH₃, R3 = H: (Z)-3-(2-chloro-9H-thioxanthen-9-ylidene)-N-methylpropan-1-amine,

D. R1 = H, R2 = CH-CH₂-CH₂-N(CH₃)₂, R3 = Cl: (Z)-3-(4-chloro-9H-thioxanthen-9-ylidene)-N,N-dimethylpropan-1-amine,

E. R1 = Cl, R2 = O, R3 = H: 2-chloro-9H-thioxanthen-9-one,

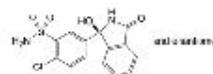


F. (E)-3-(2-chloro-9H-thioxanthen-9-ylidene)-N,N-dimethylpropan-1-amine ((E)-isomer).

01/2008:0546

CHLORTALIDONE

Chlortalidonum



$C_{20}H_{17}ClN_2O_4S$
[77-36-1]

M_r 338.8

DEFINITION

2-Chloro-5-[(1RS)-1-hydroxy-3-oxo-2,3-dihydro-1H-isoindol-1-yl]benzenesulfonamide.

Content: 97.0 per cent to 102.0 per cent (dried substance).

CHARACTERS

Appearance: white or yellowish-white powder.

Solubility: very slightly soluble in water, soluble in acetone and in methanol, practically insoluble in methylene chloride. It dissolves in dilute solutions of alkali hydroxides.

It shows polymorphism (5.9).

IDENTIFICATION

Infrared absorption spectrophotometry (2.2.24).

Comparison: chlortalidone CRS.

If the spectra obtained in the solid state show differences, dissolve the substance to be examined and the reference substance separately in methanol R, evaporate to dryness and record new spectra using the residues.

TESTS

Acidity. Dissolve 1.0 g with heating in a mixture of 25 mL of acetone R and 25 mL of carbon dioxide-free water R. Cool. Titrate with 0.1 M sodium hydroxide, determining the end-point potentiometrically (2.2.20). Not more than 0.75 mL of 0.1 M sodium hydroxide is required.

Related substances. Liquid chromatography (2.2.29).

Solvent mixture. Mix 2 volumes of a 2 g/L solution of sodium hydroxide R, 48 volumes of mobile phase B and 50 volumes of mobile phase A.

Test solution (a). Dissolve 50.0 mg of the substance to be examined in the solvent mixture and dilute to 50.0 mL with the solvent mixture.

Test solution (b). Dilute 10.0 mL of test solution (a) to 100.0 mL with the solvent mixture.

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

Reference solution (b). Dissolve the contents of a vial of chlortalidone for peak identification CRS (containing impurities B, G and I) in 1 mL of the solvent mixture.

Reference solution (c). Dissolve 50.0 mg of chlortalidone CRS in the solvent mixture and dilute to 50.0 mL with the solvent mixture. Dilute 10.0 mL of this solution to 100.0 mL with the solvent mixture.

Column:

- size: $l = 0.25$ m, $\varnothing = 4.6$ mm;
- stationary phase: octylsilyl silica gel for chromatography R (5 μ m);
- temperature: 40 °C.

Mobile phase:

- mobile phase A: dissolve 1.32 g of ammonium phosphate R in about 900 mL of water R and adjust to pH 5.5 with dilute phosphoric acid R; dilute to 1000 mL with water R;
- mobile phase B: methanol R2;

Time (min)	Mobile phase A (per cent V/V)	Mobile phase B (per cent V/V)
0 - 16	65	35
16 - 21	65 \rightarrow 50	35 \rightarrow 50
21 - 35	50	50
35 - 45	50 \rightarrow 65	50 \rightarrow 35

Flow rate: 1.4 mL/min.

Detection: spectrophotometer at 220 nm.

Injection: 20 μ L of test solution (a) and reference solutions (a) and (b).

Identification of impurities: use the chromatogram obtained with reference solution (b) and the chromatogram supplied with chlortalidone for peak identification CRS to identify the peaks due to impurities B, G and I.

Relative retention with reference to chlortalidone (retention time = about 7 min): impurity B = about 0.7; impurity J = about 0.9; impurity G = about 6.

System suitability: reference solution (b):

- resolution: minimum 1.5 between the peaks due to impurity J and chlortalidone.

Limits:

- impurity B: not more than 7 times the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (a) (0.7 per cent);
- impurity J: not more than 3 times the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (a) (0.3 per cent);
- impurity G: not more than 2 times the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (a) (0.2 per cent);
- unspecified impurities: for each impurity, not more than the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (a) (0.10 per cent);
- total: not more than 12 times the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (a) (1.2 per cent);
- disregard limit: 0.5 times the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (a) (0.05 per cent).

Chlorides (2.4.4): maximum 350 ppm.

Triturate 0.3 g finely, add 30 mL of water R, shake for 5 min and filter. 15 mL of the filtrate complies with the test. Prepare the standard using 10 mL of chloride standard solution (5 ppm Cl) R.

Loss on drying (2.2.32): maximum 0.5 per cent, determined on 1.000 g by drying in an oven at 105 °C.

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

ASSAY

Liquid chromatography (2.2.29) as described in the test for related substances with the following modification.

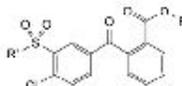
Injection: 20 μ L of test solution (b) and reference solution (c).

Calculate the percentage content of $C_{17}H_{11}ClN_2O_5S$ from the declared content of chlortalidone CRS.

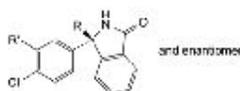
IMPURITIES

Specified impurities: B, G, I.

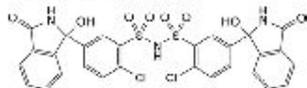
Other detectable impurities (the following substances would, if present at a sufficient level, be detected by one or other of the tests in the monograph. They are limited by the general acceptance criterion for other/unspecified impurities and/or by the general monograph *Substances for pharmaceutical 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, C, D, E, F, H, I.



- A. R = H, R' = OH: 2-(4-chloro-3-sulfonyl)benzoic acid,
- B. R = H, R' = NH₂: 2-(4-chloro-3-sulfamoyl)benzoic acid,
- C. R = C₂H₅, R' = NH₂: ethyl 2-(4-chloro-3-sulfamoyl)benzoate,
- I. R = CH(CH₃)₂, R' = NH₂: 1-methylethyl 2-(4-chloro-3-sulfamoyl)benzoate,



- D. R = OC₂H₅, R' = SO₂-NH₂: 2-chloro-5-[(1*RS*)-1-ethoxy-3-oxo-2,3-dihydro-1*H*-isoindol-1-yl]benzenesulfonamide,
 E. R = H, R' = SO₂-NH₂: 2-chloro-5-[(1*RS*)-3-oxo-2,3-dihydro-1*H*-isoindol-1-yl]benzenesulfonamide,
 G. R = OH, R' = Cl: (3*RS*)-3-(3,4-dichlorophenyl)-3-hydroxy-2,3-dihydro-1*H*-isoindol-1-one,
 H. R = OCH(CH₃)₂, R' = SO₂-NH₂: 2-chloro-5-[(1*RS*)-1-(1-methylethoxy)-3-oxo-2,3-dihydro-1*H*-isoindol-1-yl]benzenesulfonamide,

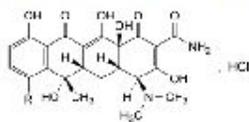


- F. bis[2-chloro-5-(1-hydroxy-3-oxo-2,3-dihydro-1*H*-isoindol-1-yl)benzenesulfonyl]amine,
 J. impurity of unknown structure with a relative retention of about 0.9.

07/2012:0173
corrected 7.8

CHLORTETRACYCLINE HYDROCHLORIDE

Chlortetracyclini hydrochloridum



Compound	R	Molecular formula	M _r
Chlortetracycline hydrochloride	Cl	C ₂₂ H ₂₆ Cl ₂ N ₂ O ₈	515.3
Tetracycline hydrochloride	H	C ₂₂ H ₂₈ ClN ₂ O ₈	480.9

Chlortetracycline hydrochloride: [64-72-2]

Tetracycline hydrochloride: [64-75-5]

DEFINITION

Mixture of antibiotics, the main component being the hydrochloride of (4*S*,4*aS*,5*aS*,6*S*,12*aS*)-7-chloro-4-(dimethylamino)-3,6,10,12,12*a*-pentahydroxy-6-methyl-1,11-dioxo-1,4,4*a*,5,5*a*,6,11,12*a*-octahydrotetracycline-2-carboxamide (chlortetracycline hydrochloride), a substance produced by the growth of certain strains of *Streptomyces aureofaciens* or obtained by any other means.

Content:

- chlortetracycline hydrochloride (C₂₂H₂₆Cl₂N₂O₈): minimum 89.5 per cent (anhydrous substance);
- tetracycline hydrochloride (C₂₂H₂₈ClN₂O₈): maximum 6.0 per cent (anhydrous substance);
- sum of the contents of chlortetracycline hydrochloride and tetracycline hydrochloride: 94.5 per cent to 102.0 per cent (anhydrous substance).

CHARACTERS

Appearance: yellow powder.

Solubility: slightly soluble in water and in ethanol (96 per cent). It dissolves in solutions of alkali hydroxides and carbonates.

IDENTIFICATION

First identification: C, D.

Second identification: A, B, C.

A. Thin-layer chromatography (2.2.27).

Test solution. Dissolve 5 mg of the substance to be examined in methanol R and dilute to 10 mL with the same solvent.

Reference solution (a). Dissolve 5 mg of chlortetracycline hydrochloride CRS in methanol R and dilute to 10 mL with the same solvent.

Reference solution (b). Dissolve 5 mg of chlortetracycline hydrochloride CRS, 5 mg of demeclocycline hydrochloride R and 5 mg of doxycycline R in methanol R and dilute to 10 mL with the same solvent.

Plate: TLC octadecylsilyl silica gel F₂₅₄ plate R.

Mobile phase: mix 20 volumes of acetonitrile R, 20 volumes of methanol R and 60 volumes of a 63 g/L solution of oxalic acid R previously adjusted to pH 2 with concentrated ammonia R.

Application: 1 µL.

Development: over 3/4 of the plate.

Drying: in air.

Detection: examine in ultraviolet light at 254 nm.

System suitability: the chromatogram obtained with reference solution (b) shows 3 clearly separated spots.

Results: the principal spot in the chromatogram obtained with the test solution is similar in position and size to the principal spot in the chromatogram obtained with reference solution (a).

B. To about 2 mg add 5 mL of sulfuric acid R. A deep blue colour develops and becomes bluish-green. Add the solution to 2.5 mL of water R. The colour becomes brownish.

C. It gives reaction (a) of chlorides (2.3.1).

D. Liquid chromatography (2.2.29) as described in the test for related substances with the following modification.

Injection: test solution and reference solution (a).

Results: the principal peak in the chromatogram obtained with the test solution is similar in retention time and size to the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (a).

TESTS

pH (2.2.3): 2.3 to 3.3.

Dissolve 0.1 g in 10 mL of carbon dioxide-free water R, heating slightly.

Specific optical rotation (2.2.7): - 250 to - 235 (anhydrous substance).

Dissolve 0.125 g in water R and dilute to 50.0 mL with the same solvent.

Absorbance (2.2.25): maximum 0.40 at 460 nm.

Dissolve 0.125 g in water R and dilute to 25.0 mL with the same solvent.

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

Test solution. Dissolve 25.0 mg of the substance to be examined in mobile phase B and dilute to 25.0 mL with mobile phase B.

Reference solution (a). Dissolve 25.0 mg of chlortetracycline hydrochloride CRS in mobile phase B and dilute to 25.0 mL with mobile phase B.

Reference solution (b). Dilute 1.0 mL of the test solution to 100.0 mL with mobile phase B.

Reference solution (c). Dilute 1.0 mL of reference solution (b) to 10.0 mL with mobile phase B.

Додаток 3.

Спектрофотометр UV-Vis SPECORD 200/210 PLUS.



Додаток 4.

Сертифікат учасника конференції.






СЕРТИФІКАТ №027/2026

Цим засвідчується, що

Вакулович А. Ю.

брав(-ла) участь у VI Науково-практичній конференції з міжнародною участю
«PLANTA+. НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА»

Тривалістю 6 годин (0,2 кредита ЄКТС)

23 січня 2026 р.,
 м. Київ, Україна



PLANTA+
 НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА

Конференція засвідковує участь у ДУУ «Київ» (Київ)
 ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИК
 (Положення РНФПТБ № 1/1 від 28 лютого 2023 р.)

*Ректор Національного медичного університету
 імені О. О. Богомольця, д. м. н., професор*

*В. о. завідувача кафедри фармакогнозії та ботаніки,
 д. фарм. н., професор*



Юрій КУЧИН

Уляна КАРПІЮК

SUMMARY

Angelina Vakulovych

Topic: «Method for spectrophotometric determination of chlorthalidone in tableted dosage form».

Department of analytical, physical and colloid chemistry

Scientific supervisor: Oksana Chkhalo

Keywords: arterial hypertension, diuretic, spectrophotometry, chlorthalidone, validation.

Introduction. The thiazide-like diuretic chlorthalidone is well researched and effective in treating hypertension. It is characterized by long periods of excretion and half-life, which leads to a decrease in blood pressure even after the patient has finished taking it. It also provides a prolonged diuretic effect due to significant binding to carbonic anhydrase in red blood cells. It is quite safe in the treatment of hypertension and has a positive effect on the cardiovascular system. Therefore, there is a need for continuous quality control of chlorthalidone drugs and optimization of methods for its quantitative determination.

Chlorthalidone is quantified by liquid chromatography (according to the European Pharmacopoeia), titrimetric method in a nitrogen atmosphere, online photochemical degradation method, and other rather laborious methods involving various toxic substances and solvents. Therefore, the development of simple and accurate methods for determining chlorthalidone is a pressing task.

Materials and methods. bibliosemantic, spectrophotometry.

Results. Spectrophotometry for the determination of chlortalidone was performed in the ultraviolet region and the optical density was measured at a wavelength of 275 nm, which was selected after constructing the absorption spectrum of a standard chlortalidone solution. The samples used to test the method were medicinal products containing chlorthalidone and sold by pharmacy chains. The content of the substance being determined in the samples studied was established using a calibration curve (linearity coefficient 0.9997). After testing the method for intra-laboratory precision and specificity, we can conclude that this

method can be used for the quantitative determination of chlorthalidone in solid dosage forms.

Conclusions. As a result of the study, a method for the quantitative determination of chlorthalidone in tableted dosage forms using spectrophotometry was developed and tested.