

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

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

ВИПУСКНА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

**на тему «Спектрофотометричне визначення тинідазолу в твердій
лікарській формі»**

Виконав: здобувач вищої освіти 3-го курсу, групи
138Б1А напряму підготовки 226 «Охорона
здоров'я»

освітня програма «Фармація»

Гаєвська Олександра Валеріївна

Керівник: кандидатка педагогічних наук, доцентка

Чхало Оксана Миколаївна

Рецензент: доцентка кафедри хімії ліків та
лікарської токсикології, доцентка

Глушаченко Ольга Олександрівна

Київ – 2026

ЗМІСТ

Перелік символів та умовних скорочень		4
Вступ.		5
РОЗДІЛ 1. Тинідазол: властивості, методи визначення, фармакологія		7
1.1	Застосування тинідазолу. Фармакологія та фармакокінетика	7
1.2	Будова, фізико-хімічні властивості та отримання тинідазолу.	7
1.3	Методи ідентифікації тинідазолу.	9
1.4	Методи кількісного визначення тинідазолу.	12
1.5.	Спектрофотометричний метод аналізу в УФ області та його використання в аналізі лікарських засобів.	13
РОЗДІЛ 2. Експериментальна частина.		17
2.1.	Матеріали і методи	17
2.1.1.	Мета дослідження.	17
2.1.2.	Об'єкти дослідження	17
2.1.3.	Посуд та обладнання.	18
2.1.4.	Реактиви.	18
2.1.5.	Приготування стандартного розчину	18
2.1.6.	Приготування розчину порівняння.	19
2.1.7.	Приготування розчинів для калібрування.	19
2.1.8.	Приготування досліджуваних розчинів зразків.	19
2.1.9	Проведення спектрофотометричного визначення тинідазолу.	20
РОЗДІЛ 3. Результати та їх обговорення.		21
3.1.	Спектр поглинання та визначення оптимальної довжини хвилі.	21

3.2.	Вибір оптимального значення рН спектрофотометричного дослідження.	21
3.3.	Градувальна залежність оптичної густини розчину від концентрації стандартного розчину тинідазолу. Перевірка лінійності залежності.	23
3.4.	Визначення тинідазолу в аналізованих зразках та валідація методики.	25
3.4.1.	Оцінка специфічності методики. Робастність та прецизійність методики.	26
3.5.	Порівняльний аналіз методик кількісного визначення тинідазолу	29
	Висновки.	30
	Список використаних джерел.	31
	Додатки.	34
	Summary.	39

ПЕРЕЛІК СИМВОЛІВ ТА 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

ВСТУП

Тинідазол (Tinidazole) – синтетичний антибіотик групи нітроїмідазолів. Він володіє також антипротозойною дією. Цей препарат для перорального застосування був синтезований у 1972 році у лабораторії компанії Pfizer [1]. Він має також антитрихомонадну дію. Призводить до внутрішньоклітинної редукції специфічного метаболізму анаеробів [2].

Важливість тинідазолу обумовлюється тим, що багато препаратів, що використовуються наразі в сучасній медичній практиці, мають в своєму складі цей компонент та інші похідні нітроїмідазолу, як, наприклад, метронідазол, тинідазол, орнідазол, секнідазол, ронідазол. Препарати, що містять в своєму складі дані складники, гарно зарекомендували себе при лікуванні таких інфекцій які викликані анаеробними бактеріями або найпростішими як *Entamoeba histolytica*, *Trichomonas vaginalis*, *Lambliia instestinalis*.

Таке поширене застосування тинідазолу та його похідних в лікарських препаратах потребує постійного контролю якості ліків та підвищення ефективності методів їх аналізу.

Існуючі методи оцінювання якості тинідазолу не завжди відповідають сучасним вимогам та мають недоліки, наприклад довгий час виконання аналізу, трудомісткість аналізу, застосування токсичних реагентів та розчинників, дороговартнісних приладів та реактивів. Отже, актуальною наразі є проблема оптимізації та вдосконалення уже відомих методик та розробка нових методів аналізу тинідазолу.

Оскільки оптичні методи аналізу та контролю широко застосовуються для кількісного визначення та контролю чистоти та ідентифікації лікарських засобів серед сучасних методів фармацевтичного аналізу, то використання спектрофотометричного методу є перспективним для аналізу тинідазолу та має дозволити зменшити трудомісткість, вартість та токсичність процесу його аналізу, знизити похибку та підвищити точність та відтворюваність результатів визначення тинідазолу в лікарському засобі.

Актуальність: Розробка нових та оптимізація відомих методик кількісного визначення тинідазолу.

Мета: розробити методику кількісного визначення тинідазолу у твердій лікарській формі спектрофотометричним методом аналізу.

Завдання:

1. Проаналізувати літературні дані та вивчити застосування тинідазолу, механізм його дії, фармакологічні та фізико-хімічні властивості тинідазолу.

2. Проаналізувати відомі методики кількісного визначення тинідазолу.

3. Спираючись на результати проведеного аналізу, розробити методику кількісного визначення тинідазолу у твердій лікарській формі спектрофотометричним методом аналізу та здійснити її часткову валідацію.

Методи дослідження: бібліосемантичний, спектрофотометрія.

Новизна та значення одержаних результатів:

Спираючись на результати проведеного дослідження пропонується методика кількісного визначення тинідазолу у твердій лікарській формі спектрофотометричним методом аналізу.

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 – 6, Додатків – 4, загальний обсяг 40 сторінок.

Розділ 1. Тинідазол: властивості, методи визначення, фармакологія.

1.1. Застосування тинідазолу. Фармакологія та фармакокінетика.

Тинідазол – засіб для ефективного лікування протозойних інфекцій. Він діє проти розвитку *Trichomonas vaginalis*, *Entamoeba histolytica* и *Lambliа instestinalis*. Він також володіє бактерицидною дією відносно анаеробних бактерій *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides melaninogenicus*, *Bacteroides spp.*, *Clostridium spp.*, *Eubacterium spp.*, *Fusobacterium spp.*, *Peptococcus spp.*, *Peptostreptococcus spp.* и *Veillonella spp.* [2]. Покази для його призначення:

- профілактика післяопераційних інфекцій після оперативних втручань на шлунково-кишковий тракт (ШКТ), товстий кишківник та після гінекологічних операцій;
- ерадикація *Helicobacter pylori*, що асоційований з виразками дванадцятипалої кишки, разом з антибіотиком та лікарським засобом, що пригнічує продукування к-ти;
- лікування анаеробних інфекцій: перитоніт, абсцес (інтраперитонеальних);
- лікування гінекологічних інфекцій (тубооваріальний абсцес, ендометрит, ендоміометрит);
- післяопераційних інфекцій ран;
- інфекції шкіри та м'яких тканин;
- інфекції верхніх дихальних шляхів та нижніх дихальних шляхів (пневмонія, абсцес легенів, емпієма);
- уrogenітальний трихомоніаз, лямбліоз, кишковий амебіаз; амебне ураження печінки [3].

Фармацевтична дія тинідазолу пояснюється тим, що нітрогрупа, що входить до складу його молекули, відновлюється клітинними екстрактами мікроорганізмів, наприклад, трихомонад. Вільний нітрорадикал, який при цьому утворюється, відповідає за антипротозійну дію препарату. Відомо

також, що хімічно відновлений тинідазол вивільняє нітрити, що викликає пошкодження бактеріальної ДНК *in vitro* або інгібує синтез ДНК в мікроорганізмі [4]. Тинідазол завдяки високій ліпофільності легко проникає всередину трихомонад та анаеробних мікроорганізмів, де відновлюється нітроредуктазою та руйнує бактеріальну ДНК. Проникнення відбувається через гематоенцефалічний бар'єр.

5-нітроімідазол є важливим класом препаратів на основі імідазолу і являє собою групу найпростіших і бактерицидних агентів, що добре себе зарекомендували. Важливість тинідазолу обумовлюється ще й тим, що багато препаратів, які застосовуються в сучасній медичній практиці, містить цей компонент та інші похідні нітроімідазолу, таких як метронідазол, орнідазол, секнідазол, ронідазол. Препарати, що містять ці компоненти, добре зарекомендували себе при лікуванні серйозних інфекцій, викликаних анаеробними бактеріями та найпростішими: *Trichomonas vaginalis*, *Entamoeba histolytica* и *Lamblia intestinalis*.

Тинідазол також демонструє бактерицидну дію відносно анаеробних бактерій: *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides melaninogenicus*, *Bacteroides spp.*, *Clostridium spp.*, *Eubacterium spp.*, *Fusobacterium spp.*, *Peptococcus spp.*, *Peptostreptococcus spp.* и *Veillonella spp.* Він викликає внутрішньоклітинну редукцію специфічного метаболізму анаеробних мікроорганізмів. Діє на спіральну структуру ДНК, перериває синтез нуклеїнових кислот, що викликає руйнування і загибель клітин. [2]

Фармакокінетика тинідазолу. Після застосування перорально тинідазол швидко всмоктується з травного каналу. Через 2 години виникають максимальні сироваткові концентрації які спостерігаються протягом 12 годин. З білками крові зв'язуються майже 12 %. У тканинах розподіляється у терапевтичних концентраціях. У молоко матері проникає через гематоенцефалічний бар'єр. Екскретується переважно з сечею та в меншій кількості – з екскрементами (в незмінному стані - майже 25%, у формі метаболітів - 12%) [3].

Більшість пацієнтів досить добре переносять лікування тинідазолом, але можливі і прояви побічної реакції, пов'язаної з надчутливістю. Це може бути висип та свербіж. Рідше можуть зустрічатись скарги хворих на дискомфорт з боку ШКТ, як то блювання, нудота, пронос, втрата апетиту. Зустрічається відчуття сухості або присмаку металу в ротовій порожнині, псевдомембранозний коліт.

Зазвичай симптоми побічної дії швидко зникають. Можуть бути також головний біль, запаморочення, порушення сну та швидка втомлюваність, депресія, периферична нейропатія, сплутаність свідомості або підвищена збудливість. Досить рідко є можливість виникнення кандидозу піхви, тромбофлебіт, цистит, нетримання сечі, лейкопенія, дизурія [3].

Протипоказаннями для лікування тинідазолом є, насамперед, підвищена чутливість до нього або до будь-якого іншого похідного імідазолу, а також органічні ураження нервової системи, відхилення гематологічних показників, а також важкі порушення функції печінки. Також препарат протипоказаний дітям до 12 років, вагітним жінкам та жінкам, що годують груддю.

При передозуванні тинідазолом може спостерігатись головний біль, збудження, тахікардія. Можливі також гіпотонія, астматичне дихання, задишка, шок. Для лікування передозування проводять промивання шлунку та призначають антигістамінні препарати, глюкокортикоїди. Можуть проводити антишокову терапію або використовувати засоби загальної реанімації.

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

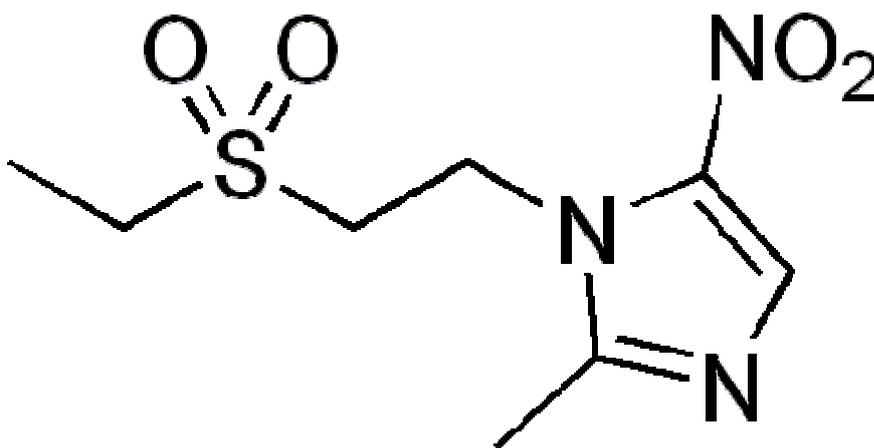


Рис.1.Тинідазол [1].

Тинідазол (Tinidazolium) має систематичну назву за IUPAC 1-(2-Етилсульфоніл)-2-метил-5-нітроімідазол ($C_8H_{13}N_3O_4S$).

Молекулярна маса 247,3 г/моль.

$T_{пл} = 125-128^{\circ}C$.

Це білий або яскраво-жовтого кольору кристалічний порошок. У воді не розчиняється. Розчинний в таких органічних розчинниках: ацетон, дихлорметан. У метанолі розчиняється помірно.

Фармакологічна група P01A B02; J01X D02 (антипротозойні засоби) [5].

Процес отримання тинідазолу має стадію конденсації в присутності сульфатної та ацетатної кислот з отриманням проміжного продукту 1-(2-етилтіоетил)-2-метил-5-нітроімідазолу, який на другій стадії окиснюється за допомогою H_2O_2 в присутності амоній молібдату або вольфрамової кислоти.

2-метил-5-нітроімідазол поміщають в круглдонну колбу з зворотним холодильником та мішалкою. До суміші додають ацетатну кислоту та 98%-у сульфатну кислоту. Дану суміш перемішують протягом 9 годин при $80-85^{\circ}C$ з додаванням 2-етилтіоетанолу. 2-метил-5-нітроімідазол, який не прореагував, осаджують, доводячи рН до 3,0 та додаючи 24% розчин амоніаку та відділяють фільтруванням. Органічний шар фільтрату, який містить проміжний продукт, екстрагують 15% хлоридною кислотою.

Проміжний продукт 1-(2- етилтіоетил)-2-метил-5-нітроімідазол відділяють від органічного шару і окиснюють за допомогою стехіометричної кількості 50% H_2O_2 і вольфрамової кислоти або амонію молібдату в якості каталізатора при температурі 50-55 °С. В процесі реакції додають 25% водний розчин амоніаку для осадження тинідазолу, який виділяють фільтруванням.

Відповідно до іншого методу отримання тинідазолу 2-метил-5-нітроімідазол поміщають в круглдонну колбу з зворотним холодильником та мішалкою, додають 20% $\text{MoO}_3 / \text{SiO}_2$ разом з 98% сульфатною кислотою. Суміш перемішують протягом 9 годин при 80-85°C з додаванням 2-етилтіоетанолу. Твердий каталізатор відділяють фільтруванням. 2-метил-5-нітроімідазол, який не прореагував, виділяють з фільтрату розбавленням суміші водою з подальшим доведенням рН до 3,0 додаючи 24% розчин амоніаку та відділяють фільтруванням. Органічний шар фільтрату, який містить проміжний продукт, екстрагують 15% хлоридною кислотою. Проміжний продукт 1-(2- етилтіоетил)-2-метил-5-нітроімідазол у вигляді гідрохлориду відділяють від органічного шару і окиснюють за допомогою стехіометричної кількості 50% H_2O_2 та використовуючи каталізатор 20% $\text{MoO}_3 / \text{SiO}_2$, який виділили на першій стадії. В процесі реакції додають 25% водний розчин амоніаку для осадження тинідазолу, який виділяють фільтруванням. Таким чином обидві стадії, конденсацію та окиснення, проводять з використанням одного і того ж каталізатора $\text{MoO}_3 / \text{SiO}_2$ без використання ацетатної кислоти, амонію молібдату або вольфрамової кислоти. Даний метод більш екологічно безпечний [6].

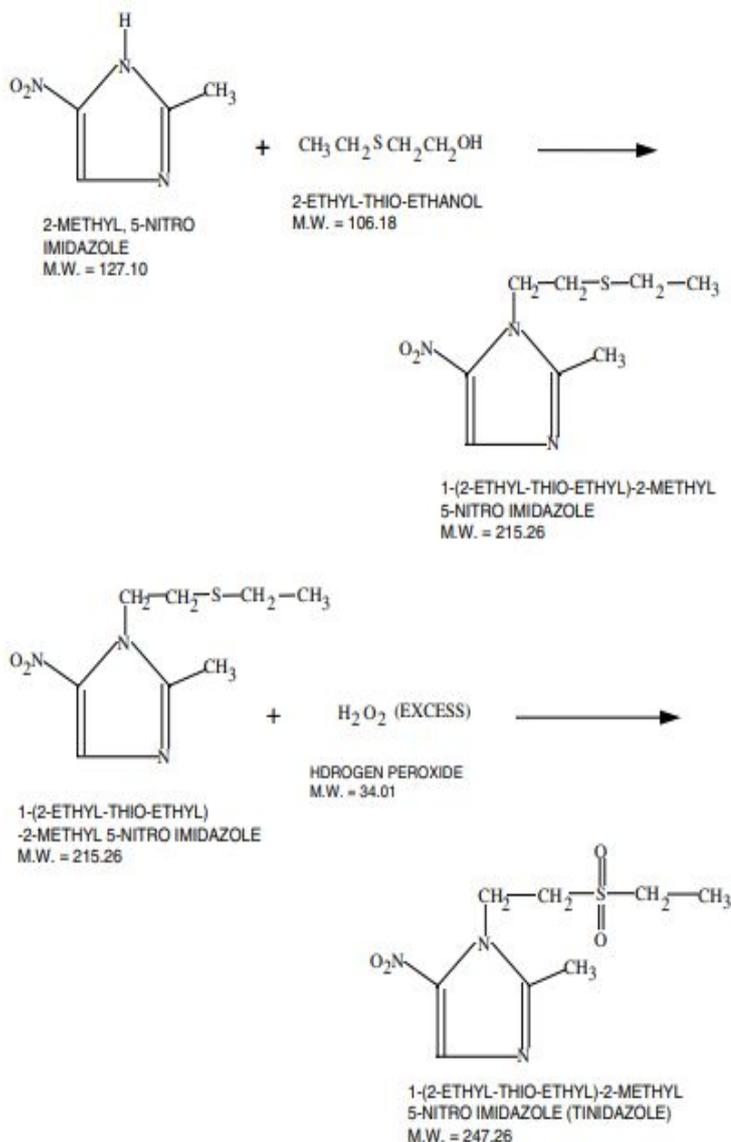


Рис.2. Отримання тинідазолу [6].

1.3. Методи ідентифікації тинідазолу.

В Європейській фармакопеї (Ph.Eur.) наведені наступні методи ідентифікації тинідазолу [7]:

1. За температурою плавлення: від 125 °С до 128 °С.
2. Спектрофотометричним методом в ультрафіолетовій та видимій областях спектру. Розчиняють 10 мг субстанції в метанолі, доводять розчин до 100 мл

метанолом. 1 мл отриманого розчину розводять до 10 мл та знімають спектр в інтервалі 220 - 350 нм. Максимум поглинання знаходиться при 310 нм.

3. За інфрачервоним спектром поглинання (порівнюють зі стандартом тинідазолу).

4. Методом тонкошарової хроматографії (ТШХ). Розчиняють 20 мг субстанції в метанолі і розбавляють метанолом до 10 мл. Аналогічно готують еталонний розчин зі стандарту тинідазолу. Проводять ТШХ з рухомою фазою бутанол - етилацетат (25:75). Плями на хроматограмах мають бути однакового розміру та на однаковій відстані.

5. До 10 мг субстанції додають 10 мг цинкового пилу, 0,3 мл хлоридної кислоти та 1 мл води. Нагрівають на водяній бані протягом 5 хв та охолоджують. Отриманий розчин має давати характерну реакцію на первинну ароматичну аміногрупу (реакцію з ароматичними альдегідами з утворенням забарвлених сполук - основ Шиффа).

1.4. Методи кількісного визначення тинідазолу.

Згідно Європейській фармакопеї (Ph.Eur.) тинідазол кількісно визначають ацидиметричним титруванням. Розчиняють 0,15 г субстанції в 25 мл льодяної ацетатної кислоти. Титрують розчином перхлоратної кислоти з концентрацією 0,1 моль/л. Точку еквівалентності визначають потенціометричним методом. Існують також і адаптивні спектрофотометричні методи визначення тинідазолу та його похідних [8], наприклад, використовуючи реакцію утворення комплексних сполук з купруму (II) з подальшим вимірюванням світлопоглинання. Або використовуються інші реакції утворення забарвлених сполук (церій (IV) сульфат в присутності сульфатної кислоти, амоній форміат та солі феруму (III), натрій нітрит в кислому середовищі) та вимірювання їх оптичної густини. [9, 10]. Але всі ці методи мають деякі недоліки. Наприклад, час виконання досить великий, методи досить трудомісткі, в них використовуються токсичні розчинники або дороговартісні реактиви та

прилади [11-15].

Через наявність такої кількості різних варіантів визначень та різних умов виконання даних методик, які дуже відрізняються одна від одної, виникає необхідність наявності в лабораторіях великого асортименту реактивів та приладів [16-18].

Це виглядає недоцільним з економічної точки зору та викликає додаткові труднощі при виконанні даних методик. Наявність всіх цих недоліків свідчить про те, що вдосконалення уже існуючих методик та розробка нових методів кількісного визначення тинідазолу в лікарських препаратах є актуальним.

Саме тому в нашій роботі ми вдосконалювали методику спектрофотометричного визначення тинідазолу в лікарських препаратах.

1.5. Спектрофотометричний метод аналізу в УФ області та його використання в аналізі лікарських засобів.

Серед сучасних методів фармацевтичного аналізу оптичні методи займають важливе місце, оскільки широко використовуються для кількісного визначення та ідентифікації (встановленні справжності) лікарських засобів, а також для контролю їх чистоти. Спектрофотометрія – простий, точний та швидкий метод, який виконується на відносно недорогому приладі. Вимірювання проводять на спектрофотометрі, який дозволяє проводити дослідження в різних областях спектра. Довжина хвилі від 200 нм до 400 нм має назву ультрафіолетова область. Джерелом ультрафіолетового (УФ) випромінювання зазвичай є воднева лампа або дейтерієва лампа. УФ-спектрофотометричне визначення проводять в розчинах, де в якості розчинника використовують очищену воду, спирти (метанол, етанол), кислоти, луги та багато органічних розчинників. При цьому розчинник не має поглинати світло в тій області спектра, що і речовина, яка аналізується. Вигляд спектра поглинання може змінюватися в залежності від розчинника чи рН розчину.

Для проведення аналізу спектрофотометричним методом спочатку відбирають і зважують наважку досліджуваного препарату, розчиняють її у необхідному розчиннику. Якщо потрібно, то проводять розведення отриманого розчину, та вимірюють оптичну густину, обираючи довжину хвилі, що вказана в методиці. Концентрацію аналізованої речовини можна знайти:

- за величиною питомого показника поглинання (спосіб має досить велику похибку);
- за градувальним графіком (зручно використовувати при досить великих серіях вимірювань);
- за оптичною густиною розчину стандартного зразку (найточніший метод, але є складнощі у придбанні стандартних зразків).

В основі спектрофотометричних вимірювань та розрахунків лежить закон Бугера-Ламберта-Бера – це основний закон світлопоглинання, який вказує на те, що оптична густина розчину прямо пропорційна його концентрації і товщині поглинаючого шару розчину.

$$A = \varepsilon l C$$

ε - Коефіцієнт поглинання [19, 20].

Отже, головна умова для кількісного аналізу методом спектрофотометрії – підпорядкування закону Бугера-Ламберта-Бера в межах відповідних концентрацій. Для перевірки підпорядкування закону готують серію стандартних розчинів та вимірюють їх оптичну густину (A), після чого будують графік залежності оптичної густини розчинів від концентрації. На графіку визначають область концентрацій, в межах яких співвідношення A/C залишається постійним [19, 20].

Розділ 2. Експериментальна частина.

Випускна кваліфікаційна робота виконана у НМУ імені О.О. Богомольця на кафедрі аналітичної, фізичної та колоїдної хімії.

2.1. Матеріали і методи.

2.1.1. Мета дослідження. Метою роботи, після аналізу літературних джерел, є розробка методики спектрофотометричного визначення тинідазолу в твердій лікарській формі.

2.1.2. Об'єкти дослідження. Для розробки методики було обрано Тинідазол (торгова марка Тева Україна (Україна, Київ)) та Тинідазол (виробник Балканфарма-Дупниця, АТ, Болгарія). Препарати реалізуються аптеками та мають склад:

Зразок 1. Тинідазол (торгова марка Тева Україна (Україна, Київ)). Склад: 1 таблетка містить тинідазолу 500 мг; допоміжні речовини: лактоза, мікрокристалічна целюлоза, крохмаль, желатин, магнію стеарат, колоїдний кремнію діоксид, тальк, натрію крохмальгліколят [21].

Зразок 2. Тинідазол (виробник Балканфарма-Дупниця, АТ, Болгарія). Склад: 1 таблетка містить тинідазолу 500 мг; допоміжні речовини: крохмаль кукурудзяний, моногідрат лактози, мікрокристалічна целюлоза, магнію стеарат, колоїдний безводний кремнію діоксид, кросповідон, титану діоксид, сополімер метакрилатний, тальк, полісорбат 80, макрогол 6000 [22].

Досліджуваний зразок 1	Досліджуваний зразок 2
 <p>The image shows a white and green box for Tnidazol-Teva. The text on the box includes 'teva', 'Тинідазол-Тева', 'Тинідазол', and '4 таблетки, вкриті плівковою оболонкою 500 МГ'.</p>	 <p>The image shows a white and blue box for Tnidazol 500 mg. The text on the box includes 'actavis', 'Тинідазол 500 мг', 'Tinidazole', 'Антибактеріальний засіб', and '4 таблетки вкриті плівковою оболонкою'.</p>

2.1.3. Посуд та обладнання.

1. Мірний посуд класу точності А (колби, мірні піпетки).
2. Спектрофотометр SPECORD 200-222 U 214.
3. Кювети кварцеві (товщина поглинаючого шару 10 мм).
4. Лабораторні ваги MettlerToledo XS204.
5. рН-метр рН -150 МІ зі скляним та хлорсрібним електродами.

2.1.4. Реактиви.

1. Фармакопейний стандартний зразок тинідазолу.
2. Фосфатний буферний розчин (рН 6,85)
3. Метанол.
4. Вода дистильована.

2.1.5. Приготування стандартного розчину

Точну наважку тинідазолу 0,015 г розчиняли в метиловому спирті об'ємом 50 мл та старанно перемішували. Концентрація отриманого розчину 0,3 мг/мл.

2.1.6. Приготування розчину порівняння.

1 мл метанолу переносили в мірну колбу ємністю 20 мл та доводили до мітки фосфатним буферним розчином. Перемішували.

2.1.7. Приготування розчинів для калібрування.

Переносили в мірну колбу ємністю 20 мл необхідний об'єм стандартного розчину та доводили до мітки фосфатним буферним розчином.

2.1.8. Приготування досліджуваних розчинів зразків.

10 таблеток зразку подрібнювали та розтирали в порошок. Відбирали наважку 0,5 г отриманого порошку, додавали 50 мл метилового спирту, старанно перемішували та фільтрували. 1 мл отриманого розчину переносили в мірну колбу на 20 мл та доводили до мітки буферним розчином, перемішували.

2.1.9. Проведення спектрофотометричного визначення тинідазолу.

1 мл розчину стандартного або аналізованого поміщують у мірну колбу ємністю 20 мл. Вміст колби доводять до позначки фосфатним буферним розчином. Оптичну густину розчинів реєстрували на спектрофотометрі відносно розчину порівняння, використовуючи кварцеві кювети з товщиною поглинаючого шару 10 мм при довжині хвилі λ 317 нм. Концентрацію тинідазолу в досліджуваних розчинах визначали за допомогою градуювального графіку.

Розділ 3. Результати та їх обговорення.

3.1. Спектр поглинання та визначення оптимальної довжини хвилі.

В роботах різних дослідників наводяться дані про здатність тинідазолу поглинати світло в ультрафіолетовій області спектру. Тому ми провели дослідження спектральних характеристик даної сполуки в області від 200 до 400 нм. Для цього проводили вимірювання оптичної густини розчину тинідазолу на спектрофотометрі та будували графічну залежність оптичної густини розчину від довжини хвилі (рис. 3).

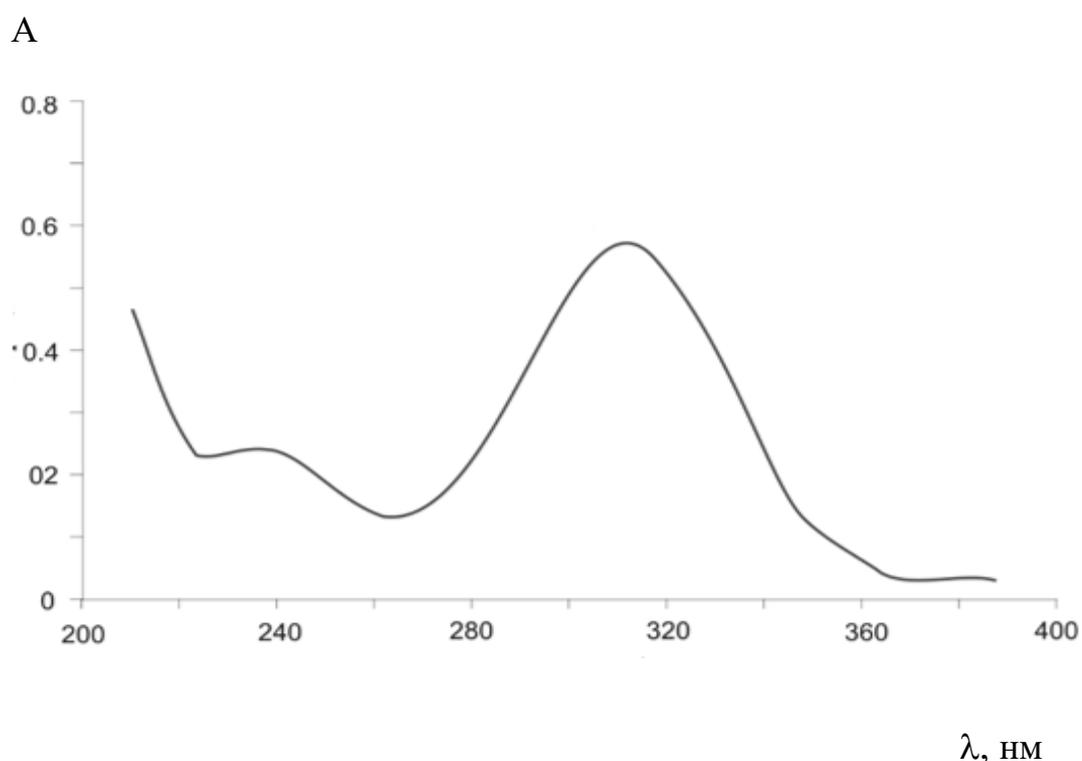


Рис. 3. Спектр поглинання тинідазолу.

Дослідивши спектр поглинання, робимо висновок, що максимальне поглинання світла відбувається при довжині хвилі 317 нм.

3.2. Вибір оптимального значення рН спектрофотометричного дослідження.

Нами вивчались спектральні характеристики тинідазолу в області 200 – 400 нм в розчинах з різними значеннями рН. Отримані спектри поглинання наведені на рис. 4.

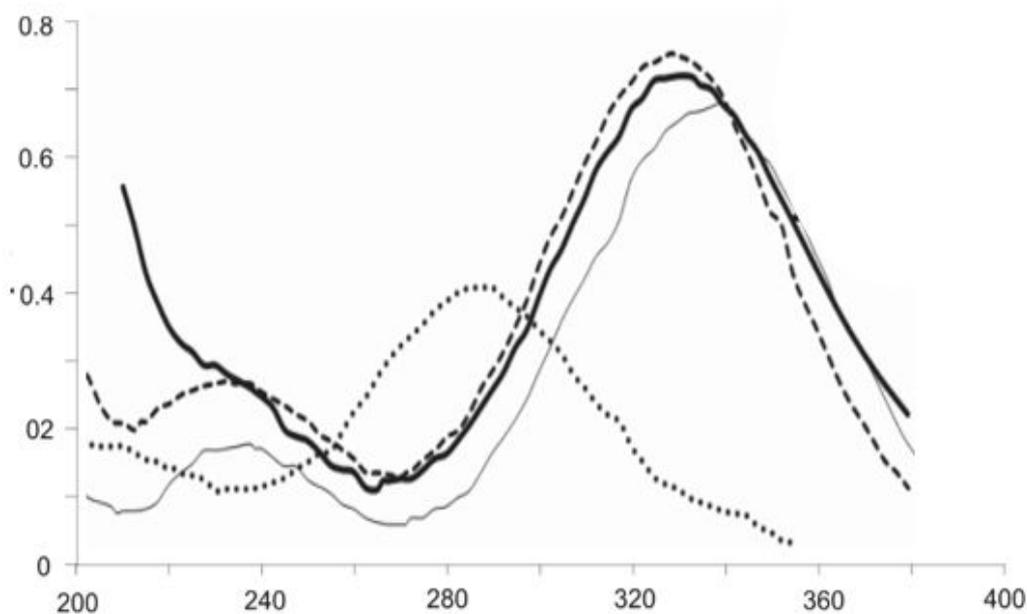


Рис. 4. Спектр поглинання розчину тинідазолу при різних значеннях рН

----- в спирті рН = 7,6

..... в кислоті рН = 1,5

———— в воді рН = 5,5

———— в лузі рН = 13,35

Дослідили вплив рН розчину на спектр поглинання в області рН від 2 до 10. Отримали значення максимумів світлопоглинання та дійшли висновку, що оптимальним значенням рН для нашого дослідження є значення 6,85. Залежність максимуму поглинання тинідазолу від рН розчину представлена на рис. 5.

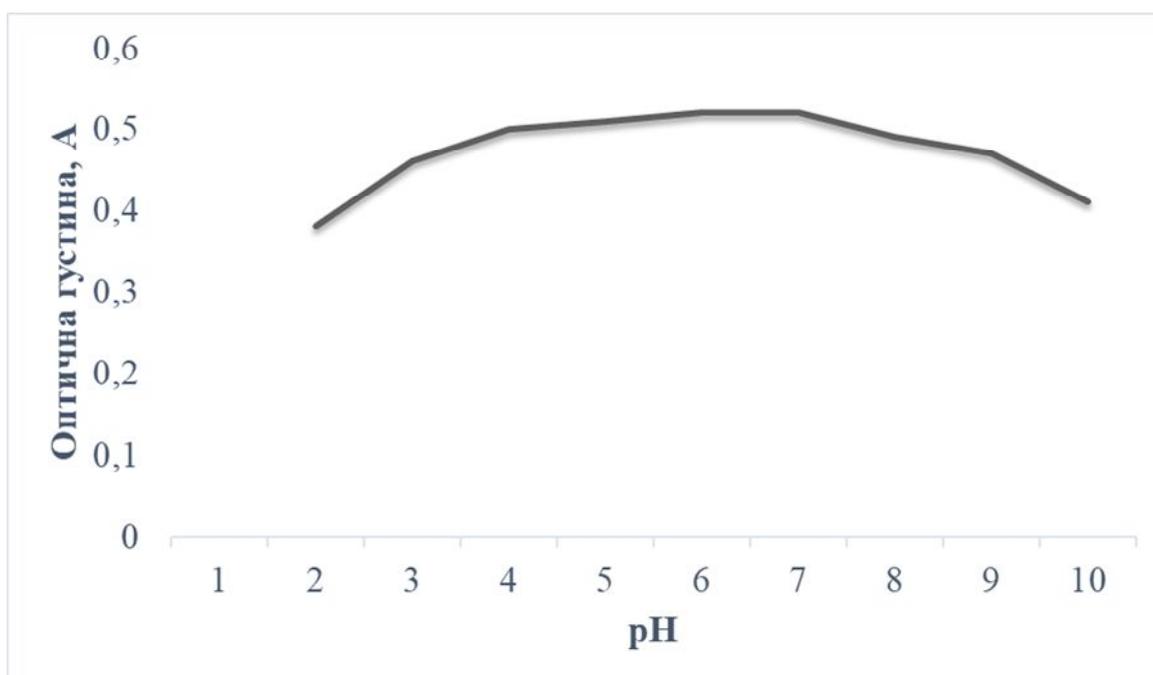


Рис. 5. Вплив рН розчину на оптичну густину тинідазолу.

Було також визначено, що спектр поглинання тинідазолу не змінює свій максимум в присутності інших речовин, які зазвичай входять до складу твердих лікарських форм, таких як крохмаль, лактоза та інші.

3.3. Градувальна залежність оптичної густини розчину від концентрації стандартного розчину тинідазолу. Перевірка лінійності залежності.

Для отримання даних для побудови градувального графіку залежності оптичної густини від концентрації тинідазолу вимірювали оптичну густину розчинів, отриманих розведенням стандартного розчину за методикою, описаною в п. 2.1.7., при оптимальній довжині хвилі 317 нм. Градувальна залежність оптичної густини від концентрації тинідазолу в стандартних розчинах приведена в Таблиці 1 та на Рис. 6.

Таблиця 1. Залежність оптичної густини розчинів від концентрації тинідазолу.

№ розчину	Концентрація розчину тинідазолу, мкг/мл	Оптична густина А
1	2,5	0,06
2	5	0,15
3	7,5	0,24
4	10	0,33
5	12,5	0,41
6	15	0,5
7	17,5	0,59
8	20	0,67
9	22,5	0,75
10	25	0,82
11	27,5	0,89
12	30	0,97

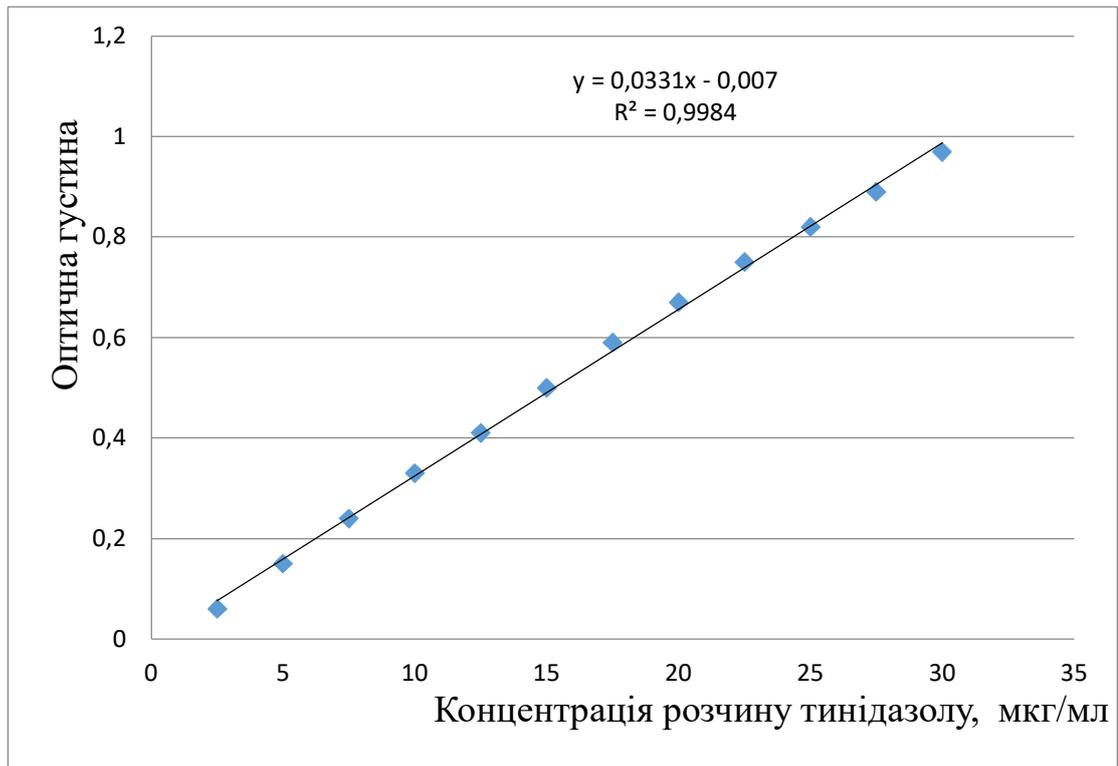


Рис. 6. Градувальний графік

Провели оцінку даної залежності на лінійність.

Отримали функцію лінійної регресії $y = 0,0331 \cdot x - 0,007$ (коефіцієнт кореляції $R^2 = 0,9984$).

Розраховували довірчі інтервали та стандартні відхилення для коефіцієнтів лінійної регресії a та b . У нашому випадку прийняли загальний вигляд функції лінійної регресії як $y = a \cdot x - b$.

$$s_0^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{v} = 0,00016$$

$$s_b^2 = \frac{n \cdot s_0^2}{n \cdot \sum_{i=1}^n x_i^2 - (\sum_{i=1}^n x_i)^2} = 1,79091 \cdot 10^{-7}$$

$$s_a^2 = \frac{s_b^2}{n} \cdot \sum_{i=1}^n x_i^2 = 6,06297 \cdot 10^{-5}$$

$$s_b = \sqrt{s_b^2} = 0,000423$$

$$s_a = \sqrt{s_a^2} = 0,007787$$

Отримали стандартне відхилення для коефіцієнта a , яке дорівнює 0,007787, та для коефіцієнта b , що має значення 0,000423.

Щоб розрахувати довірчий інтервал знайшли табличне значення коефіцієнта Стьюдента при значенні довірчої ймовірності $P = 0,95$ та ступенях свободи $\nu = 10 - t(0,95; 10) = 2,2281$.

Для коефіцієнта a порахували довірчий інтервал:

$$a \pm s_a \cdot t(0,95; 10) = 0,0331 \pm 0,0173$$

А також для b :

$$b \pm s_b \cdot t(0,95; 10) = 0,007 \pm 0,0009$$

Отже, можемо констатувати, що вимоги до лінійності залежності виконуються і отримана залежність абсорбції (оптичної густини) від концентрації тинідазолу у досліджуваному нами діапазоні концентрацій лінійна.

3.4. Визначення тинідазолу в аналізованих зразках та валідація методики.

Для проведення аналізу обраних нами Зразків готували їх розчини за методикою, яка описана в п. 2.1.8. та вимірювали їх оптичну густину при оптимальній довжині хвилі 317 нм. Для оцінки точності визначення проводили в вибірці 10 вимірювань Результати яких представлені в Таблиці 2.

Згідно інструкції до застосування Зразок № 1 та Зразок № 2 містять 500 мг тинідазолу.

Отже, дійсне значення вмісту вмісту тинідазолу у Зразках (500 мг) знаходиться у довірчому інтервалі, тому ми робимо висновок, що результати нашого визначення можна вважати правильними.

Таблиця 2. Визначення кількісного вмісту тинідазолу у Зразках (по інструкції вміст у зразках 500 мг)

	Маса тинідазолу у твердій лікарській формі, враховуючи розведення, мг	
	Зразок 1	Зразок 2
1	496,8	502,2
2	498,1	489,9
3	502,1	499,4
4	501,6	501,5
5	499,3	502,0
6	489,9	497,7
7	501,5	501,6
8	495,8	496,7
9	498,6	498,4
10	498,8	495,7
Середнє значення,	498,3	498,5
Стандартне відхилення, s	3,59	3,81
Дисперсія, s^2	12,89	14,56
Відносне стандартне відхилення, %	0,72	0,76
Довірчий інтервал	$498,3 \pm 2,6$	$498,5 \pm 2,7$
Відносна похибка середнього значення, %	0,52	0,55

Часткову валідацію даної методики, як і кожної аналітичної методики, проводили за наступними характеристиками: за специфічністю, правильністю, лінійністю, прецизійністю та робастністю [23, 24]. Цю

перевірку методики проводять для того, щоб зрозуміти, чи можливо нею користуватись, не прив'язуючись до місця, де проводиться аналіз, та до особи аналітика (тобто виключити особисті похибки). Отже, нами перевірялись ці параметри для спектрофотометричного визначення тинідазолу у твердій лікарській формі.

3.4.1. Оцінка специфічності методики. Робасність та прецизійність методики.

Висновок про специфічність певної аналітичної методики можна зробити тоді, коли буде встановлено, що допоміжні речовини або домішки не заважають визначенню певної субстанції за даною методикою. Так, нами було встановлено, що спектр поглинання тинідазолу не змінює свій максимум в присутності інших речовин, які зазвичай входять до складу твердих лікарських форм, таких як крохмаль, целюлоза, желатин, лактоза та інші. Отже, робимо висновок, що методика спектрофотометричного визначення тинідазолу вважається специфічною [23-25].

Робасність, іншим словом надійність, методики оцінюється по впливу різних незначних зовнішніх факторів, які можуть впливати на результат визначення, зокрема на величину оптичної густини тинідазолу. Щоб зробити висновок про робасність нашої методики ми проводили дослідження в різні дні з перервами між ними. Результати визначень наведено в таблиці 3 та таблиці 4.

Для оцінки прецизійності методики ми здійснювали визначення кількості тинідазолу серії проб (ми готували серію із 5 проб) одного і того ж зразка. Дослідження проводили для обох зразків, взятих для нашого дослідження. Прецизійність, близькість отриманих результатів або їх розбіжність, яка може бути спричинена випадковими похибками, ми оцінювали на рівні збіжності [25], результати про що також наведені в таблицях 3 та 4.

Підтверджена також внутрішньолабораторна точність нашої методики за допомогою величини відносного довірчого інтервалу для серії з 5 визначень, які виконувались у різні дні. Відносний довірчий інтервал менший за критичне значення що відповідає критерію прийнятності.

Таблиця 3. Результати перевірки прецизійності методики спектрофотометричного визначення тинідазолу (внутрішньолабораторна точність).

№ проби	Зразок 1, знайдено тинідазолу, враховуючи розведення, мг	
	День 1	День 2
1	496,8	499,9
2	498,1	501,5
3	502,1	495,8
4	501,6	498,6
5	499,3	498,8
Середнє значення,	499,6	498,9
Стандартне відхилення, s	2,26	2,09
Дисперсія, s^2	5,11	4,37
Відносне стандартне відхилення, %	0,45	0,42
Довірчий інтервал	$499,6 \pm 2,8$	$498,9 \pm 2,6$
Відносна похибка середнього значення, %	0,56	0,52

Дійсне значення вмісту тинідазолу у Зразку 1 (500 мг) потрапляє у довірчий інтервал, тому результати визначення вважаємо правильними.

Таблиця 4. Результати перевірки прецизійності методики спектрофотометричного визначення тинідазолу (внутрішньолабораторна точність).

№ проби	Зразок 2, знайдено тинідазолу, враховуючи розведення, МГ	
	День 1	День 2
1	497,7	502,2
2	501,6	499,9
3	496,7	499,4
4	498,4	501,5
5	495,7	502,0
Середнє значення,	498,0	501,0
Стандартне відхилення, s	2,24	1,27
Дисперсія, s^2	5,05	1,62
Відносне стандартне відхилення, %	1,01	0,32
Довірчий інтервал	498,0 ± 2,8	501,0 ± 1,6
Відносна похибка середнього значення, %	0,56	0,31

Так само, дійсне значення вмісту тинідазолу у Зразку 2 (500 мг) потрапляє у довірчий інтервал, тому результати визначення вважаємо правильними.

Розрахунок метрологічних характеристик проводили, користуючись наступними формулами.

RSD - відносне стандартне відхилення:

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

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

де s – стандартне відхилення

Дисперсія:

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

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

Довірчий інтервал:

$$\bar{x} \pm \Delta_{\bar{x}}$$

Відносна похибка середнього значення:

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

3.5. Порівняльний аналіз методик кількісного визначення тинідазолу.

Провівши аналіз літературних даних, ми з'ясували, що тинідазол при контролі якості ліків визначають в фармацевтичних препаратах методом ацидиметрії. Для фіксування точки еквівалентності використовують метод потенціометрії [7]. Титриметричний метод аналізу, зокрема ацидиметрія, має певні недоліки, як то трудомісткість процесу виконання, який включає в себе приготування та стандартизацію титрованого (стандартного) розчину перхлоратної кислоти. Метод не вважається високоселективним та, аналогічно до всіх об'ємних методів, має досить багато джерел помилок титрування [19]. Інші відомі методи також мають певні недоліки, як то час виконання надто довгий, методи надто трудомісткі, в методах використовуються токсичні розчинники або дорогі реактиви та прилади. Метод спектрофотометричного визначення є недорогим, простий у виконанні, точний та не вимагає високої кваліфікації аналітика.

ВИСНОВКИ

- Проаналізовано та вивчено застосування тинідазолу в медичній практиці, його будову, властивості та механізм дії, побічні реакції та протипоказання.
- Здійснено аналіз відомих методик кількісного визначення тинідазолу ацидиметрія, спектрофотометрія, вольтамперометрія та полярографія.
- Запропонована методика кількісного визначення тинідазолу у твердій лікарській формі, яка є специфічною, точною та швидкою та здійснена її часткова валідація.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Електронний ресурс. Режим доступу:
<https://uk.wikipedia.org/wiki/%D0%A2%D0%B8%D0%BD%D1%96%D0%B4%D0%B0%D0%B7%D0%BE%D0%BB>
2. Електронний ресурс. Режим доступу:
<https://mozdocs.kiev.ua/likiview.php?id=7017>
3. Електронний ресурс. Режим доступу:
<https://compendium.com.ua/uk/akt/84/2761/tinidazolum/>
4. Anthwal A., Rawat D., Rawat M. 5-Nitroimidazole derivatives: A scope of Modification for Medicinal chemists. *Research Journal of Chemical Sciences*. 2013; 3(7):104-113.
5. Електронний ресурс. Режим доступу:
<https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/2200/tinidazol>
6. J.G. Chandorkar, S.B. Umbarkar, C.V. Rode, V.B. Kotwal, M.K. Dongare. Synthesis of tinidazole by condensation–oxidation sequence using MoO₃/SiO₂ bifunctional catalyst, *Catalysis Communications*. Volume 8, Issue 10, 2007, Pages 1550-1555, ISSN 1566-7367,
<https://doi.org/10.1016/j.catcom.2007.01.001>
7. European Pharmacopoeia 9.8. Schisandra fruit. European directorate for the quality of medicines. Strasbourg. – 2019. P. 3553-3555.
8. Nagegowda P., Basavaiah K. Assay of tinidazole by titrimetry and spectrophotometry in non-aqueous medium. *Bulg. Chem. Commun.* - 2004. - Vol. 36, No 2. - P. 100 – 106.
9. Nagaraja P., et.al. Spectrophotometric determination of metronidazole and tinidazole in pharmaceutical preparations. *J. Pharm. Biomed. Anal.* - 2002. - Vol. 28, No 3-4. - P. 527 – 535.
10. Lopez-Martinez L., Luna V.F.J., Lopez-de-Alba P.L. Simple spectrophotometric determination of tinidazole in formulation and serum // *Anal. Chim. Acta.* - 1997. - Vol. 340, No 1. -P. 241 -244

11. Bhargav Y, et al. Method development and validation for the simultaneous estimation of Ofloxacin and Tinidazole in bulk and pharmaceutical dosage form by reverse phase HPLC method. *J. Research in Pharmacy and Biotechnology*. 2013; No1(6). P.797-802.
12. Gummadi S., Thota D., Varri S., Pratyusha V., Jillella V. Development and validation of UV spectroscopic methods for simultaneous estimation of ciprofloxacin and tinidazole in tablet formulation. *International Current Pharmaceutical*. 2012, No 1(10). C.317-321.
13. Pereira F.C., et.al. Differential pulse Polarographic determination of clotrimazole after derivatization with Procion Red HE-3B. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2002. Vol. 27, No 1-2. P.201 – 208.
14. Ozkan S.A. Voltammetric determination of tinidazole in tablets. *Analisis*. 1997. Vol. 25. No 4. P. 130- 131.
15. Pant M, Dadare K, Khatri N. Application of UV spectrophotometric methods for simultaneous estimation of norfloxacin and tinidazole in bulk and tablet dosage forms. *J. Der Pharma Chemica*. 2012. No 4(3). P. 1041-1046.
16. Ouyang L.Q., et al. Simultaneous determination of metronidazole and tinidazole in plasma by using HPLC-DAD coupled with second-order calibration. *Chin. Chem. Lett.* - 2010. - Vol. 21, No 10. - P. 1223 - 1226.
17. Roychowdhury U., Das S.K. Rapid identification and quantitation of clotrimazole, miconazole, and ketokonazole in pharmaceutical creams and ointments by thin-layer chromatography-densitometr. *J. AOAC* - 1996. - Vol. 79, No 3. - P. 656 - 659.
18. Kasnia V., Kumar M., Mahadevan N. Simultaneous Estimation of Amoxicillin, Tinidazole and Omeprazole in Microsphere Formulation by RP-HPLC. *International Journal of Recent Advances in Pharmaceutical Research*. – 2012, No 2(2). – P.78-83.

19. Аналітична хімія. В.В. Болотов, О.М. Свечнікова, С.В. Колісник та ін. Х., 2004; ДФУ. Х., 2001.
20. Електронний ресурс. Режим доступу:
<https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/432/fotokolorimetriya>.
21. Електронний ресурс. Режим доступу:
<https://aptekaplus.com.ua/ua/tinidazol/tinidazol-tabl-po-500-mg-4-664>
22. Електронний ресурс. Режим доступу:
<https://podorozhnyk.ua/ingredients/t/tinidazol/>
23. 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.
24. Георгіянц В.А. Валідація аналітичних методик у фармації : теорія, нормативні аспекти, проблеми практики. В.А. Георгіянц. О.А. Євтіфєєва. *Фармацевтичний часопис*. 2007. №2. С.13 – 18.
25. Електронний ресурс. Режим доступу:
<https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/1662/validaciya-analitichnix-metodik-i-viprobuvan>
26. Фармацевтична хімія: Підручник. Ред. П.О. Безуглий. Вінниця: Нова Книга, 2011 – 560с.
27. Дей, Р., Андервуд, А. (1989). *Кількісна аналітична хімія*. (п'яте видання). PEARSON Prentice Hall.

ДОДАТКИ

Додаток 1.

Лабораторні терези Mettler Toledo XS204

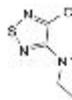


Додаток 2.

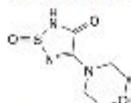
Витяг з Європейської фармакопеї

EUROPEAN PHARMACOPOEIA 8.0

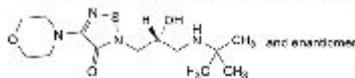
Tinidazole



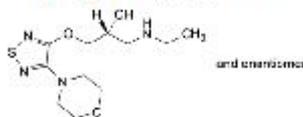
E. 4-(4-chloro-1,2,5-thiadiazol-3-yl)morpholine,



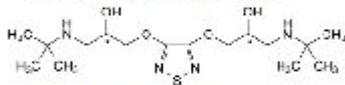
G. 4-(morpholin-4-yl)-1,2,5-thiadiazol-3(2H)-one 1-oxide,



H. 2-[(2RS)-3-[(1,1-dimethylethyl)amino]-2-hydroxypropyl]-4-(morpholin-4-yl)-1,2,5-thiadiazol-3(2H)-one,



I. (2RS)-1-(ethylamino)-3-[[4-(morpholin-4-yl)-1,2,5-thiadiazol-3-yl]oxy]propan-2-ol,

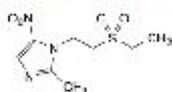


J. 1,1'-[1,2,5-thiadiazol-3,4-diylbis(oxy)]bis[3-[(1,1-dimethylethyl)amino]propan-2-ol].

07/2008:1051

TINIDAZOLE

Tinidazolium

C₈H₁₃N₃O₂S
[19387-91-8]M_r 247.3

DEFINITION

1-[2-(Ethylsulfonyl)ethyl]-2-methyl-5-nitro-1H-imidazole.

Content: 98.0 per cent to 101.0 per cent (dried substance).

CHARACTERS

Appearance: almost white or pale yellow, crystalline powder.

Solubility: practically insoluble in water, soluble in acetone and in methylene chloride, sparingly soluble in methanol.

IDENTIFICATION

First identification: A, C.

Second identification: A, B, D, E.

A. Melting point (2.2.14): 125 °C to 128 °C.

B. Ultraviolet and visible absorption spectrophotometry (2.2.25).

Test solution. Dissolve 10.0 mg in methanol R and dilute to 100.0 mL with the same solvent. Dilute 1.0 mL of this solution to 10.0 mL with methanol R.

Spectral range: 220-350 nm.

Absorption maximum: at 310 nm.

Specific absorbance at the absorption maximum: 340 to 360.

C. Infrared absorption spectrophotometry (2.2.24).

Comparison: tinidazole CRS.

D. Thin-layer chromatography (2.2.27).

Test solution. Dissolve 20 mg of the substance to be examined in methanol R and dilute to 10 mL with the same solvent.

Reference solution. Dissolve 20 mg of tinidazole CRS in methanol R and dilute to 10 mL with the same solvent.

Plate: TLC silica gel GF₂₅₄ plate R.

Pretreatment: heat at 110 °C for 1 h and allow to cool.

Mobile phase: butanol R, ethyl acetate R (25:75 V/V).

Application: 10 µL.

Development: over 2/3 of the plate.

Drying: in air.

Detection: examine in ultraviolet light at 254 nm.

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 the reference solution.

E. To about 10 mg add about 10 mg of zinc powder R, 0.3 mL of hydrochloric acid R and 1 mL of water R. Heat in a water-bath for 5 min and cool. The solution gives the reaction of primary aromatic amines (2.3.1).

TESTS

Appearance of solution. The solution is clear (2.2.1) and not more intensely coloured than reference solution Y_s (2.2.2, Method II).

Dissolve 1.0 g in acetone R and dilute to 20 mL with the same solvent.

Related substances. Liquid chromatography (2.2.29). Protect solutions from light.

Test solution. Dissolve 10.0 mg of the substance to be examined in 10.0 mL of methanol R and dilute to 100.0 mL with the mobile phase.

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

Reference solution (b). Dissolve 5.0 mg of tinidazole impurity A CRS and 5.0 mg of tinidazole impurity B CRS in 10.0 mL of methanol R and dilute to 100.0 mL with the mobile phase. Dilute 2.0 mL of this solution to 10.0 mL with the mobile phase.

Reference solution (c). Dilute 1.0 mL of reference solution (b) to 50.0 mL with the mobile phase.

Column:

- size: l = 0.25 m, Ø = 3.0 mm;

- stationary phase: octylsilyl silica gel for chromatography R (5 µm).

Regular column conditioning by subsequent flushing with 50 mL of water R, 100 mL of methanol R, 25 mL of water R and 100 mL of the mobile phase is recommended.

Mobile phase: acetonitrile R, methanol R, water R (10:20:70 V/V/V).

Flow rate: 0.5 mL/min.

Detection: spectrophotometer at 320 nm.

Injection: 20 µL.

Run time: 1.5 times the retention time of tinidazole.

Relative retention with reference to tinidazole (retention time = about 6 min): impurity A = about 0.6; impurity B = about 0.7.

System suitability: reference solution (b):

- resolution: minimum 2.0 between the peaks due to impurities A and B.

Limits:

- **impurities A, B:** for each impurity, not more than the area of the corresponding peak in the chromatogram obtained with reference solution (c) (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 4 times the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (a) (0.4 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).

Heavy metals (2.4.8): maximum 20 ppm.

1.0 g complies with test D. 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 an oven at 105 °C.

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

ASSAY

Dissolve 0.150 g in 25 mL of anhydrous acetic acid R. Titrate with 0.1 M perchloric acid, determining the end-point potentiometrically (2.2.20).

1 mL of 0.1 M perchloric acid is equivalent to 24.73 mg of $C_{13}H_{13}N_3O_8S_6$.

STORAGE

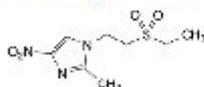
Protected from light.

IMPURITIES

Specified impurities: A, B.



A. 2-methyl-5-nitro-1H-imidazole.

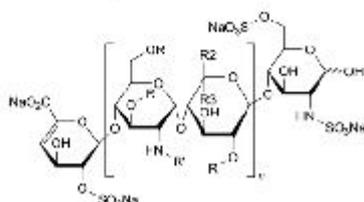


B. 1-[2-(ethylsulfonyl)ethyl]-2-methyl-4-nitro-1H-imidazole.

01/2008:1271

TINZAPARIN SODIUM

Tinzaparinum natrium



$n = 1$ to 25, R = H or SO_3Na , R' = H or SO_3Na or CO_2CH_3 ,
R2 = H and R3 = CO_2Na or R2 = CO_2Na and R3 = H

DEFINITION

Tinzaparin sodium is the sodium salt of a low-molecular-mass heparin that is obtained by controlled enzymatic depolymerisation of heparin from porcine intestinal

mucosa using heparinase from *Flavobacterium heparinum*. The majority of the components have a 2-O-sulfo-4-eneopyranosuronic acid structure at the non-reducing end and a 2-N,6-O-disulfo-D-glucosamine structure at the reducing end of their chain.

Tinzaparin sodium complies with the monograph on Low-molecular-mass heparins (0828) with the modifications and additional requirements below.

The mass-average relative molecular mass ranges between 5500 and 7500 with a characteristic value of about 6500.

The degree of sulfatation is 1.8 to 2.5 per disaccharide unit.

The potency is not less than 70 IU and not more than 120 IU of anti-factor Xa activity per milligram calculated with reference to the dried substance. The ratio of the anti-factor Xa activity to anti-factor IIa activity is between 1.5 and 2.5.

IDENTIFICATION

Carry out identification test A as described in the monograph Low-molecular-mass heparins (0828) using tinzaparin sodium CRS.

Carry out identification test C as described in the monograph Low-molecular-mass heparins (0828). The following requirements apply.

The mass-average relative molecular mass ranges between 5500 and 7500. The mass percentage of chains lower than 2000 is not more than 10.0 per cent. The mass percentage of chains between 2000 and 8000 ranges between 60.0 and 72.0 per cent. The mass percentage of chains above 8000 ranges between 22.0 and 36.0 per cent.

TESTS

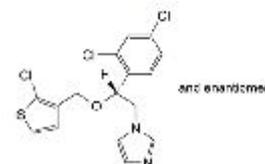
Appearance of solution. Dissolve 1.0 g in 10 mL of water R. The solution is clear (2.2.1) and not more intensely coloured than intensity 5 of the range of reference solutions of the most appropriate colour (2.2.2, Method II)

Absorbance (2.2.25). Dissolve 50.0 mg in 100 mL of 0.01 M hydrochloric acid. The specific absorbance, measured at 231 nm and calculated with reference to the dried substance, is 8.0 to 12.5.

01/2008:2074

TIOCONAZOLE

Tioconazolium



$C_{16}H_{13}Cl_2N_3OS$
[65899-73-2]

M_r 387.7

DEFINITION

1-[(2RS)-2-[(2-Chlorothiophen-3-yl)methoxy]-2-(2,4-dichlorophenyl)ethyl]-1H-imidazole.

Content: 99.0 per cent to 101.0 per cent (anhydrous substance).

CHARACTERS

Appearance: white or almost white, crystalline powder.

Solubility: very slightly soluble in water, very soluble in methylene chloride, freely soluble in alcohol.

IDENTIFICATION

Infrared absorption spectrophotometry (2.2.24).

Comparison: Ph. Eur. reference spectrum of tioconazole.

Додаток 3.

Спектрофотометр UV-Vis SPECORD 200/210 PLUS.



Додаток 4.
Сертифікат учасника конференції.



The certificate is on a dark blue background. At the top left, there are logos for FMU, a circular emblem, and the University of Opole. To the right is a stylized plant logo. The main text is in white and light blue. A large white outline of a flask with a plant growing from it is on the right side. The text 'PLANTA+' is written vertically in large white letters on the far right, with 'НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА' written vertically next to it.

СЕРТИФІКАТ №041/2026
Цим засвідчується, що

Гаєвська О. В.

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

Тривалість 6 годин (0,2 кредита ЕКТС)

23 січня 2026 р.,
м. Київ, Україна

Копія цього розпорядку у ДНУ «Львівський Інститут фармації та лікарської освіти» (Львівська вулиця І. П. Коновалова, 28) вказана 2026 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 КАРПЮК

SUMMARY

Haievska Oleksandra

Topic: «Spectrophotometric determination of tinidazole in solid dosage form».

Department of analytical, physical and colloid chemistry

Scientific supervisor: Oksana Chkhalo

Keywords: Spectrophotometric analysis method, tinidazole, solid dosage form, validation.

Introduction. Tinidazole is a synthetic antibiotic of the nitroimidazole group, which also has antiprotozoal and antithrichomonal activity, causing intracellular reduction of specific anaerobic metabolism. Preparations containing tinidazole and other nitroimidazole derivatives are used to treat infections caused by anaerobic bacteria or protozoa (*Entamoeba histolytica*, *Trichomonas vaginalis*, *Lambia intestinalis*). Therefore, with such widespread use of tinidazole and its derivatives in medicines, constant quality control of medicines is necessary, and it is also necessary to constantly improve the effectiveness of methods for their analysis.

Known methods of tinidazole quality control are not always sufficiently modern and sensitive and have disadvantages, for example, the analysis takes a long time or is very labour-intensive, toxic reagents and solvents, expensive reagents and instruments are used in the analysis. Therefore, it is quite relevant to optimise and improve known methods for analysing tinidazole, as well as to develop new modern and sensitive methods for its quantitative determination.

Optical methods occupy an important place among modern methods of pharmaceutical analysis and are widely used both for the identification of drugs and for their quantitative determination. They are also used to control the purity of drugs. Spectrophotometry allows research to be conducted in different areas of the spectrum and is a simple, accurate and fast method. That is why we set ourselves

the task of developing a spectrophotometric method for the quantitative determination of tinidazole in solid dosage forms.

The aim of the study was to develop a method for the quantitative determination of tinidazole in solid dosage forms using spectrophotometric analysis.

Research methods. Spectrophotometric analysis method.

Results. There are various methods for the quantitative determination of tinidazole. For example, according to the European Pharmacopoeia, the determination is carried out by acidimetry in an ice acetic acid medium. There are spectrophotometric methods of analysis with a preliminary reaction to form coloured compounds of tinidazole with copper (II) cations, cerium (IV) sulphate in the presence of sulphuric acid, ammonium formate and ferric (III) salt, sodium nitrite in an acidic medium, etc. However, the length and labour intensity of the process, the use of toxic or expensive reagents, and complex and expensive equipment can be considered disadvantages of these methods.

For our study, we chose the spectrophotometric method for quantitative determination of tinidazole in the ultraviolet region. Optical density measurements were performed at a wavelength of 317 nm, which was determined by recording the absorption spectrum of a standard tinidazole solution. The comparison solution was a compensation solution that did not contain the substance being determined. The samples for the study were tableted medicines from the pharmacy network containing tinidazole. After performing the necessary sample preparation for each sample, the optical density of the obtained solutions was measured on a spectrophotometer and the tinidazole content was determined using a previously constructed calibration graph. We did a partial validation of the method and found that the validation characteristics (linearity, specificity, robustness, precision) confirm that this method can be used for the quantitative determination of tinidazole in solid dosage forms.

Conclusions. The result of the study is a developed and tested method for the quantitative determination of tinidazole in solid dosage forms.