

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ О. О. БОГОМОЛЬЦЯ
ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ
КАФЕДРА АНАЛІТИЧНОЇ, ФІЗИЧНОЇ ТА КОЛОЇДНОЇ ХІМІЇ

ВИПУСКНА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

На тему «Кількісне визначення діючої речовини клотримазол у розчинах для зовнішнього застосування».

Виконала: здобувачка вищої освіти 5-го курсу, групи 118Ф1Б
напряму підготовки 226 Фармація, промислова фармація

Коновальчук Богдана Миколаївна

Керівник: Доцентка кафедри аналітичної, фізичної та
колоїдної хімії, кандидат педагогічних наук,

Чхало Оксана Миколаївна

Рецензент: Доцентка кафедри хімії ліків та лікарської
токсикології, к.хім.н., Глушаченко Ольга Олександрівна

Київ – 2026

ЗМІСТ

Перелік умовних позначень, символів, скорочень і термінів.	4
Вступ.	5
ОСНОВНА ЧАСТИНА. Розділ 1. Клотримазол. Фізико-хімічні властивості, методи ідентифікації та кількісного визначення.	8
1.1. Фізико-хімічні властивості клотримазолу.	8
1.2. Фармакологічні властивості клотримазолу.	9
1.3. Сульффталеїнові барвники у фармацевтичному аналізі.	9
Розділ 2. Експериментальна частина.	12
2.1. Матеріали та методи.	12
2.1.1. Мета дослідження.	12
2.1.2. Об'єкт дослідження.	12
2.1.3. Посуд, прилади та реактиви.	13
2.1.4. Приготування розчинів.	13
2.1.4.1. Для спектрофотометричного визначення.	13
2.1.4.2. Для ацидиметричного визначення (згідно ДФУ).	15
2.1.5. Методики.	16
2.1.5.1 Спектрофотометричне визначення клотримазолу.	16
2.1.5.2. Методика об'ємного (ацидиметричного титрування) клотримазолу (згідно Європейської фармакопеї).	17
Розділ 3. Результати роботи та їх обговорення.	18

3.1. Визначення довжини хвилі, при якій доцільно проводити вимірювання у видимій області спектра.	18
3.2. Градувальний графік (ГГ).	20
3.3. Кількісне спектрофотометричне визначення діючої речовини клотримазол у Об'єкті дослідження та часткова валідація методики.	22
3.4. Кількісне визначення клотримазолу у Зразках об'ємним методом.	26
Висновки.	28
Список використаних джерел.	29
Додатки.	33
Анотація (Summary).	37

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

АП – протигрибкові препарати

АФІ – активний фармацевтичний інгредієнт

ФА – фармацевтичний аналіз

БТС – бромтимоловий синій

БКП - бромкрезоловий пурпурний

БКЗ – бромкрезоловий зелений

БФС – бромфеноловоий синій

ІА – іонний асоціат

ВКР – випускна кваліфікаційна робота

ФСЗ – фармакопейний стандартний зразок

ЛЗ – лікарські засоби

ТШХ – тонкошарова хроматографія

ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія

РХ- рідинна хроматографія

ГГ – градувальний графік

ДФУ – державна фармакопея України

Ph.Eur. – European Pharmacopoeia

г – грам

мл – мілілітр

мг- міліграм

нм – нанометр

ВСТУП

За даними експертів ВООЗ початок ХХІ століття відмічається помітним зростанням захворюваності населення Планети на мікози[1]. Пояснень цього факту існує декілька, а саме: погіршення екологічних умов, міграція, зміна клімату на Планеті тощо. У залежності від способу інфікування розрізняють екзогенні мікози (інфікування відбувається від збудника з зовнішнього середовища або через контакт із хворою людиною) та ендогенні мікози (інша назва – опортуністичні, причиною є надлишкове вживання деяких лікарських препаратів). Нижче представлено класифікацію мікозів:

- Системні;
- Підшкірні;
- Епідермічні;
- Поверхневі;
- Опортуністичні.

Антимікозними препаратами (АП) називають лікарські засоби, які використовуються у терапії мікозів [3], Рисунок 1:

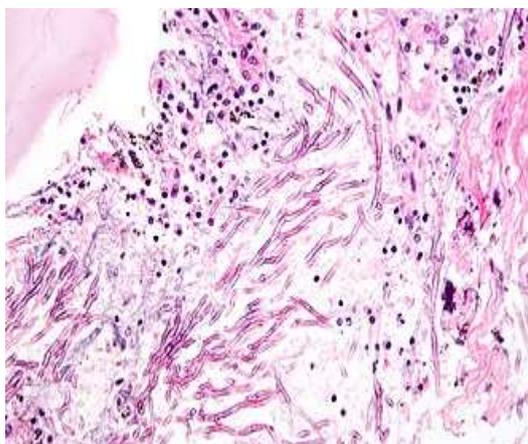


Рисунок 1. Прояви мікозу [3].

АП проявляють фунгіцидну та фунгістатичну дію. Класифікують АП на дві групи: протигрибкові антибіотики та протигрибкові препарати синтетичного походження (азоли, аліламіни, піримідини, нітрофеноли, похідні ундецилової кислоти).

Азолами [4] називають клас п'ятичленних гетероароматичних сполук, до складу яких обов'язково входить атом Нітрогену. Імідазол є похідним азолу, до складу якого входить два атоми Нітрогену, клотримазол – сполука, яка належить до підгрупи імідазолів класу азолів, Рисунок 2:

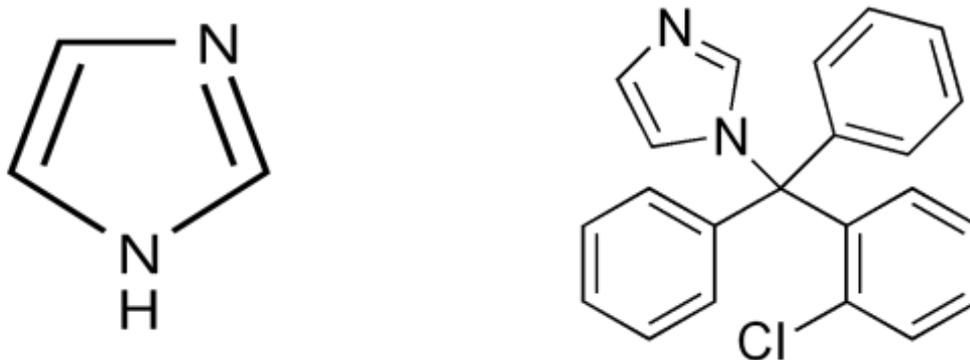


Рисунок 2. Імідазол та клотримазол [4].

Антимікозні препарати з клотримазолом випускаються вітчизняними виробниками у вигляді кремів, мазей та вагінальних таблеток з кінця минулого сторіччя та застосовуються при лікуванні грибкових інфекцій, які можуть бути викликані різними збудниками.

Актуальність теми: Враховуючи вищезазначене, розробка нових ЛЗ з клотримазолом та, відповідно, кількісне визначення діючої речовини клотримазол у ліках є актуальним.

Мета: Розробити, апробувати та виконати часткову валідацію методики кількісного спектрофотометричного визначення клотримазолу у розчинах для зовнішнього застосування.

Завдання дослідження:

1. Провести аналіз фізико-хімічних та фармакологічних властивостей клотримазолу, визначити можливу токсичність та взаємодію з іншими лікарськими речовинами;
2. Проаналізувати методики ідентифікації та кількісного визначення клотримазолу у різноманітних лікарських формах (мазях, кремах, розчинах);
3. Розробити та апробувати методику кількісного спектрофотометричного визначення клотримазолу у розчинах для зовнішнього застосування;
4. Спираючись на методику кількісного визначення клотримазолу у субстанції, яка представлена у Європейській фармакопеї, виконати кількісне визначення АФІ клотримазол у розчинах для зовнішнього застосування.

Методи дослідження: Бібліосемантичний, спектрофотометрія, титриметричний аналіз (ацидиметрія у неводному середовищі).

Апробація результатів дослідження. Результати роботи були представлені на VI Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Planta+. Наука, практика та освіта. Київ, Україна, 23 січня 2025 р.

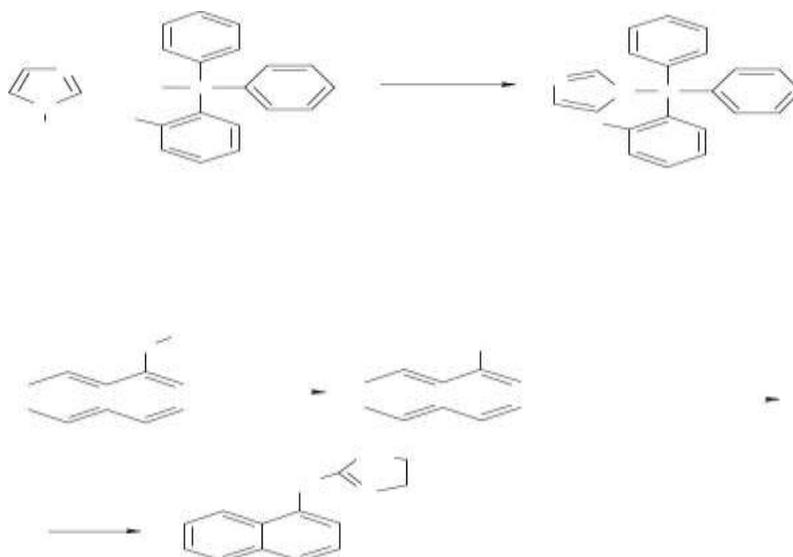
Структура роботи. Робота представлена на 40 сторінках, додатків -2, рисунків- 9, таблиць- 6.

ОСНОВНА ЧАСТИНА. Розділ 1. Клотримазол. Фізико-хімічні властивості, методи ідентифікації та кількісного визначення.

1.1. Фізико-хімічні властивості клотримазолу.

Клотримазол (міжнародна назва 1-[(2-хлорофеніл)дифенілметил]-1H-імідазол) є сполукою синтетичного походження з молярною масою 344,8г/моль. За агрегатним станом це білий або блідо-білий кристалічний порошок, який майже нерозчинний у воді, має низьку розчинність у метиленхлориді та ефірі. Зберігають речовину у щільно закритому хімічному контейнері без доступу повітря [2].

Синтез клотримазолу [4] може відбуватися через пряме алкілювання імідазолу сполукою 2-хлортрифенілметилхлоридом за нижче наведеною схемою:



Ідентифікацію проводять фізико-хімічними методами (за показниками температури плавлення та абсорбцією сполуки в метанольному середовищі при 260 нм, методом ТШХ а також за появою жовтогарячого забарвлення при взаємодії сполуки з оксидом гідраргіуму та натрій нітритом.

Кількісно згідно Європейської фармакопеї (Додаток 1) сполуку визначають неводною ацидиметрією у присутності нафтолбензеїну.

1.2. Фармакологічні властивості клотримазолу.

Клотримазол проявляє яскраво виражені протигрибкові властивості оскільки має можливість гальмувати синтез ергостеролу і, тим самим, пошкоджує цитоплазматичну мембрану стінки грибів, тобто проявляє фунгіцидну та фунгістатичну властивість [5-12].

Клотримазол має здатність абсорбуватися на поверхні епідермісу, отже лікарські засоби з цією діючою речовиною використовуються на шкірно.

Лікарські засоби призначають хворим при грибкових інфекціях шкіри для місцевого застосування (лікування та профілактики). Побічними небажаними ефектами можуть бути прояви алергії, артеріальна гіпотензія, свербіж та набряки, відчуття жару. Всмоктується препарат не більше ніж на 10%, метаболізація відбувається у печінці [5-12].

1.3. Сульфогфталейнові барвники у фармацевтичному аналізі.

Фармацевтичним аналізом (ФА) називають розділ фармацевтичної хімії [4], метою якого є визначення якісного та кількісного складу лікарських речовин та лікарських препаратів. ФА має характерну особливість - постійне систематичне вдосконалення. Методи ФА відрізняються різноманітністю, але незмінним є висока чутливість кожного оскільки об'єктами дослідження є речовини, які мають вплив на здоров'я та життя людини. У залежності від поставлених задач, ФА може включати в себе різні види та форми контролю, різні умови проведення хімічних реакцій.

Станом на сьогодні класифікувати методи ФА можна на фізичні, хімічні, фізико-хімічні та біологічні, але для сучасного ФА характерною ознакою є те, що методи можуть підлягати синергії або інтеграції один до

одного. Особливої уваги заслуговують інструментальні методи ФА, оскільки методики постійно змінюються, база приладів оновлюється тощо. У царині методів ФА знаходяться оптичні методи дослідження, які базуються на взаємодії хімічних сполук різної природи з електромагнітним випромінюванням. Оптичні абсорбційні методи ґрунтуються на можливості вимірювання інтенсивності світла, яке випромінює сполука (фотометричні методи - колориметрія, фотоколориметрія, спектрофотометрія, атомна абсорбція) та на можливості вимірювати інтенсивність світла, випромінюваного речовиною (флуорометрія, емісійний спектральний аналіз)[4].

В основі деяких фотометричних методів (спектрофотометрія у ІЧ – області) лежать хімічні взаємодії утворення або руйнування забарвлених сполук [13-14]. Якщо аналізована сполука безбарвна, вимірюванням в ІЧ – області передують кольорові реакції аналізованої речовини з певним реагентом (індикатором, кольоровим реагентом), від вибору реагенту залежить ефективність, чутливість та точність методики ФА. Широко розповсюдженими кольоровими реагентами у ФА є сульффталеїнові барвники.

Сульффталеїнові барвники [15] завдяки атому Сульфуру утворюють міцні зв'язки із сполуками до складу яких входить Нітроген (утворюються забарвлені асоціати). Перші методики кількісного визначення N- вмісних речовин були розроблені та апробовані у 50-х роках минулого століття, тоді найбільше розповсюдження мали галогенопохідні сульффталеїнових барвників, оскільки фотометричні реакції з галогенами вважалися більш чутливими. Серед найбільш розповсюджених сульффталеїнових барвників найбільший коефіцієнт розподілу був у іонних асоціатів четвертинних амонієвих сполук (ацетилхолін, карбахолін, пентамін, прозерин, метиленовий синій), похідних хіноклідину (ацеклидин, фенкарол, темехин) і

амінозину з бромпохідними сульфопфталейнів (БТС, БКП, БКЗ, БФС). Експериментальними роботами доведено [12-15], що у екстракційно-фотометричних методах кількісного визначення лікарських препаратів використовують БТС. З індикатором БТС кількісно визначають пентамін, метдилазин, прометазин, метацин, циклодол, стефаглабрин, прозерин, тропацин, атропін, теонікол, еритроміцин, лоперамід, ребоксетин тощо.

БФС використовують при кількісному визначенні еритроміцину, новакоїну та новокаїнамиду, анабазину, нікотину, левамізолу, анальгіну, аторвастатину, лоперамиду, цетеризину, офлоксацину тощо.

Фотометричною реакцією з БКП кількісно визначають хінін, хлоргексидин, цинаризин, носкапін, молсидомін, ребоксетин, похідні фенотіазину.

БКЗ, як кольоровий реагент, використовують при визначенні бісакоділу, діазепаму, тримебутину тощо.

Попередніми науковими дослідженнями з'ясовано, що сульфопфталейнові барвники мають високу селективність по відношенню до речовин з основним характером взаємодії і тому можуть бути використані при проведенні дослідження комбінованих лікарських форм.

Бромкрезоловий пурпурний (БКП) – сульфопфталейновий барвник (Рисунок 3), який проявляє слабкі кислотні властивості, тому, при взаємодії з гетероциклами, до складу входить Нітроген, утворює за рахунок донорно-акцепторної взаємодії забарвлений ІА [4]:

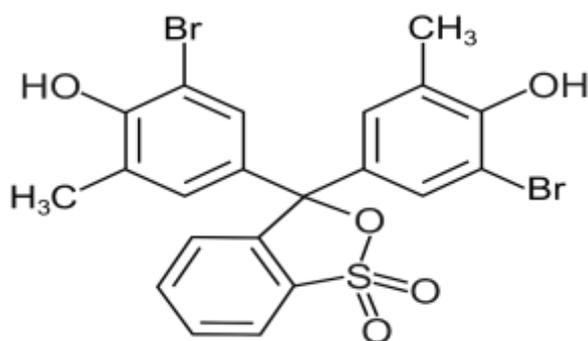


Рисунок 3. Бромкрезоловий пурпурний.

Розділ 2. Експериментальна частина.

Випускна кваліфікаційна робота (ВКР) виконувалася згідно плану кафедри аналітичної, фізичної та колоїдної хімії Університету.

2.1. Матеріали та методи.

2.1.1. Мета дослідження.

Метою ВКР була розробка, апробація та часткова валідація методики спектрофотометричного визначення клотримазолу у розчині для зовнішнього застосування

2.1.2. Об'єкт дослідження.

Об'єктом дослідження (Рисунок 3) ми обрали розчин для зовнішнього застосування, діючою речовиною у якому є сполука клотримазол. Вітчизняним виробником зазначено, що концентрація діючої речовини становить 1%, тобто до складу 1 мл препарату входить 10 мг АФІ у перерахуванні на 100% сухої речовини. Допоміжними речовинами є пропіленгліколь, поліетиленгліколь, етанол, Рисунок 4:



Рисунок 4. Об'єкт дослідження, фото з сайту <https://tabletki.ua>.

2.1.3. Посуд, прилади та реактиви.

1. Хімічний лабораторний посуд класу А (Додаток 2).
2. Терези лабораторні ТВЕ-0,21-0,001-а-2 (Додаток 2).
3. Спектрофотометр SPECORD 200-222 U 214.
4. Фармакопейний стандартний зразок Clotrimazole , реєстраційний номер 23593, каталожний номер С0110.
5. Хлороформ, х.ч.
6. Бромкрезоловий пурпурний (БКП) концентрації 0,2 %.
7. Для ацидиметричного титрування індикатор нафтолбензеїн концентрації 0,2 %.
8. Для неводного ацидиметричного титрування кислота хлорна, концентрації 0,1М.
9. Кислота концентрована етанова.

2.1.4. Приготування розчинів.

2.1.4.1. Для спектрофотометричного визначення.

Приготування розчину БКП концентрації 0,2%.

На терезах лабораторних зважували 0,2 г кристалічного БКП, вміщували наважку у мірну колбу на 100 мл до доводили до позначки хлороформом. Перемішували.

Приготування розчину ФСЗ клотримазолу концентрації 1г /100 мл (1000 мг/100мл).

На аналітичних терезах зважують 1 г кристалічного фармакопейного стандартного зразка та розчиняють у 100 мл хлороформу. Перемішують, при необхідності фільтрують.

Приготування розчину Зразка концентрації 10 мг/100 мл.

Відбирають 1 мл Об'єкту дослідження, вміщують аліквоту у мірну колбу на 100 мл, додають до позначки розчинник хлороформ. Перемішують.

Приготування розведених ФСЗ клотримазолу (для побудови ГГ концентрації 5-15 мг/100 мл).

Певні аліквоти розчину, концентрація якого 1000 мг/100 мл (наведені у Таблиці1), вміщують у мірні колби на 100 мл, доводять хлороформом до позначки, перемішують:

Таблиця 1. Приготування розчинів клотримазолу концентрації 5,0-15,0 мг/100 мл.

№	Аліквоти розчину ФСЗ концентрації 1000 мг/100 мл, мл	Концентрація розчинів клотримазолу, мг/100 мл
1	0,5	5,00
2	0,7	7,00
3	0,9	9,00
4	1,1	11,00
5	1,3	13,00
6	1,5	15,00

Приготування компенсаційного розчину концентрації 0,005 мг/100 мл.

Розчин № 1 (Таблиця 1) розводили у 1000 разів. Для цього відбирали 1 мл розчину з концентрацією 5 мг/100 мл, вміщували у мірну колбу на 1000 мл, доводили хлороформом до позначки. Перемішували.

2.1.4.2. Для ацидиметричного визначення (згідно ДФУ).

Приготування розчину нафтолбензеїну концентрації 0,2%.

На терезах лабораторних зважували 0,2 г кристалічного нафтолбензеїну (Рисунок 5), вміщували наважку у мірну колбу на 100 мл до доводили до позначки хлороформом:

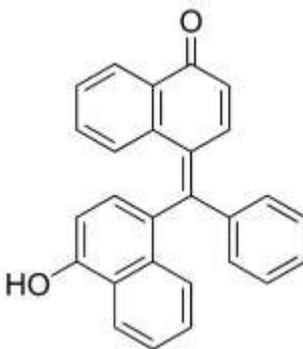


Рисунок 5. Нафтолбензеїн.

Перемішували.

Приготування титранту (0,1 М HClO_4).

Готують стандартними методиками для неводного титрування (900 мл етанатної концентрованої змішують з 8,5 мл хлорної концентрованої та 30 мл етанатного ангідриду). Стандартизацію титранту проводять за калій гідрофталатом.

Приготування Зразку.

Згідно Європейській фармакопеї (Додаток 1) 1 мл розчину хлорної кислоти реагує з 34,48 мг клотримазолу. Враховуючи це, на аналіз брали 50 мл розчину Об'єкту дослідження (Зразка).

2.1.5. Методики.

2.1.5.1 Спектрофотометричне визначення клотримазолу.

До 10 мл приготованих розчинів клотримазолу (розведеного ФСЗ для ГГ або Зразка, кожних окремо) додавали 1 мл приготованого розчину БКП і на фоні компенсаційного розчину вимірювали величину абсорбції (оптичну густину А) при довжині хвилі $\lambda = 410$ нм на спектрофотометрі SPECORD 200-222 U 214, Рисунок 6 :



Рисунок 6. Спектрофотометр SPECORD 200-222 U 214, фото з сайту <https://img.ua/novini/tehnologiya-specord-60-rokiv>.

Масу (концентрацію) клотримазолу встановлювали за ГГ стандартними розрахунковими методиками.

2.1.5.2. Методика об'ємного (ацидиметричного титрування) клотримазолу (згідно Європейської фармакопеї).

У конічну колбу для титрування відбирали 50 мл Об'єкту дослідження (Зразка), додавали 1 мл приготованого розчину нафтолбензеїну і титрували у неводному середовищі раніше приготованим титрантом (0,1М HClO_4),
Рисунок 7.

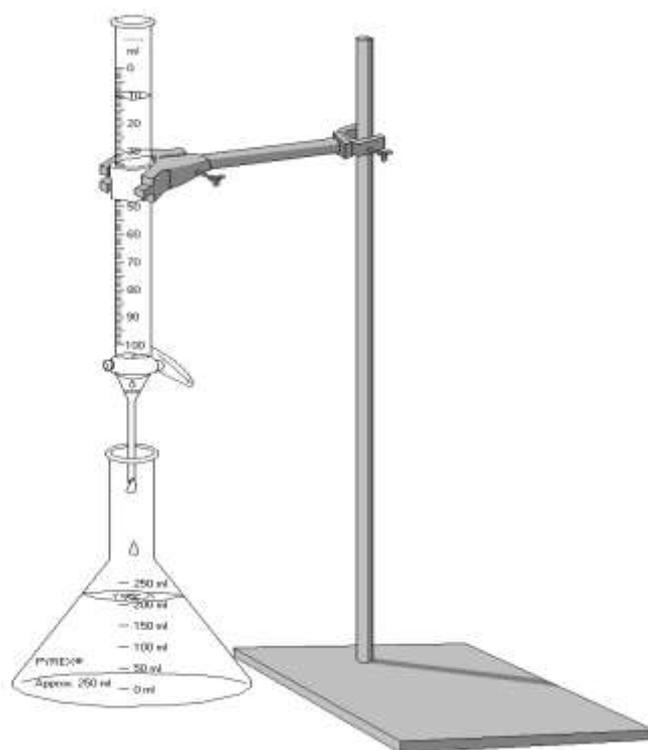


Рисунок 7. Ацидиметричне титрування [13-14].

Точку еквівалентності встановлювали за зміною забарвлення індикатора (з бурого до зеленого). Масу (концентрацію) клотримазолу у Об'єкті дослідження визначали загальновідомими формулами титриметричного аналізу [13-14].

Розділ 3. Результати роботи та їх обговорення.

При аналізі методик кількісного визначення клотримазолу у субстанції та лікарських засобах нами було з'ясовано, що АФІ клотримазол можна визначати об'ємними методами (Додаток 1), методом рідинної хроматографії, інструментальними методами ВЕРХ, ТШХ та УФ – спектрофотометрією. Дослідники роблять наголос на перевагах та недоліках у визначенні [16-24]. На нашу думку, найбільш оптимальною методикою визначення клотримазолу є спектрофотометрія, цю методику розробили, апробували та валідували запорізькі вчені Ю. Бурлака, О. Тарханова, С. Васюк та І. Кейтлін (Спектрофотометричне визначення клотримазолу у лікарських формах, Вопросы фармації, 2010, т.12,№4), тому, при розробці нашої методики ми спиралися на висновки наших запорізьких колег.

3.1. Визначення довжини хвилі, при якій доцільно проводити вимірювання у видимій області.

Для визначення найоптимальнішої довжини хвилі при проведенні оптичних методів дослідження вивчали залежність аналітичного сигналу методу (оптичної густини А) від зміни довжини хвилі у діапазоні 390-450 нм. Визначення проводили за методикою так, як описано у п. 2.1.5.1, вимірювання оптичної густини проводили для розчину 4 (концентрація розчину 11,00 мг/100 мл). Результати представили у вигляді Таблиці 2 та Рисунком 8 (спектр поглинання):

Таблиця 2. Зміна величини оптичної густини А розчину клотримазолу з концентрацією 11,00 мг/100 мл у залежності від довжини хвилі.

λ	390	400	405	410	420	430	440
A	0,012	0,152	0,534	0,731	0,320	0,201	0,111

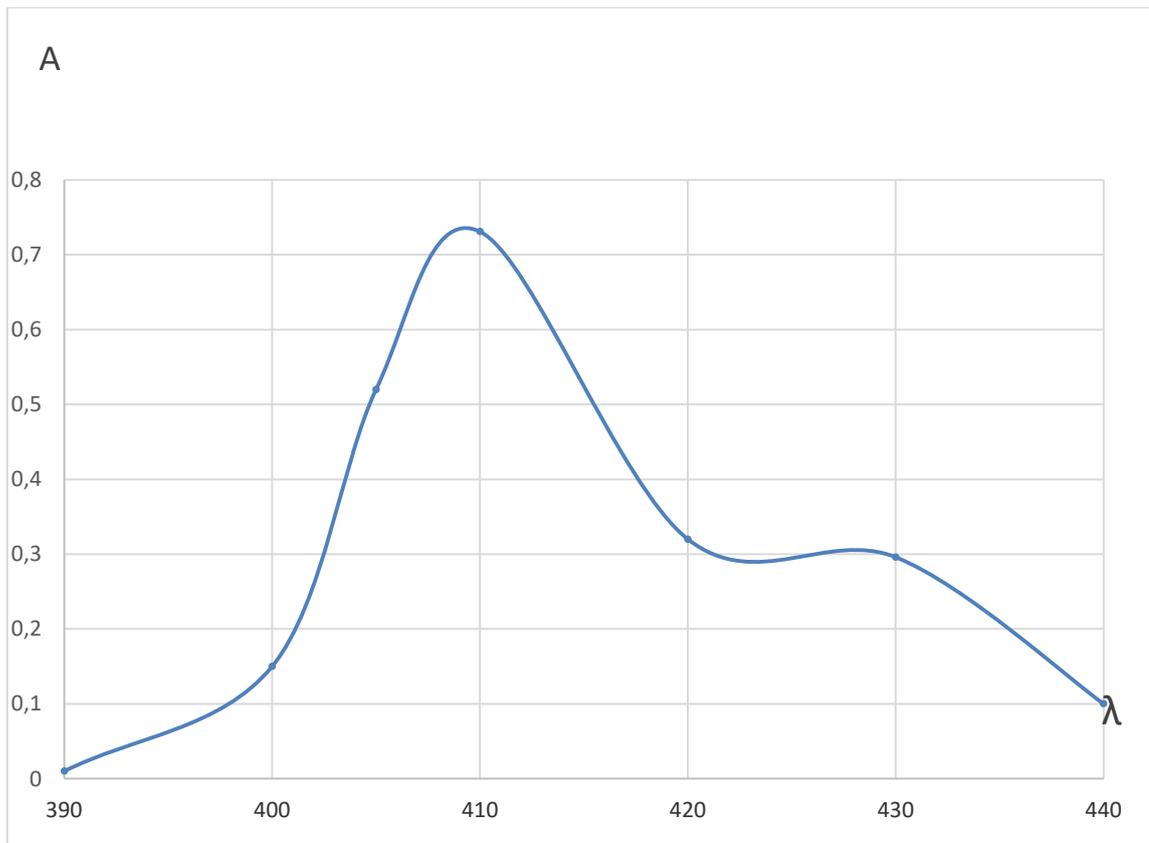


Рисунок 8. Спектр поглинання іонного асоціату «клотримазол – БКП», концентрація АФІ 11,00 мг/100 мл.

Враховуючи наведені експериментальні дані можна зробити висновок, що спектрофотометричні визначення найдоцільніше проводити при довжині хвилі 410 нм оскільки саме при цьому значення спостерігається максимальна абсорбція. Відповідно, усі подальші вимірювання, а також апробацію методики ми проводили саме при цьому значення довжині хвилі.

3.2. Градувальний графік (ГГ).

Методи оптичних методів дослідження можуть бути дуже різноманітними, але визначення концентрації (маси) діючої речовини зручно знаходити за градувальним графіком (ГГ).

Градувальним графіком називають залежність величини абсорбції (оптичної густини A) від концентрації розведених стандартних розчинів [25-26]. Після визначення довжини хвилі дослідження, яку ми вважаємо найоптимальнішою при спектрофотометричних вимірюваннях, ми знаходили оптичну густину іонних асоціатів «АФІ -БКП», що приготували з розведених ФСЗ. Наступним кроком будували залежність $A = f(C)$, аналізували методику на лінійність. Результати представляли у вигляді Таблиці 3 та графічної залежності (Рисунок 9):

Таблиця 3. Залежність величини оптичної густини A від концентрації розведених ФСЗ клотримазолу.

№	Концентрація стандартних розведених розчинів, мг/ 100 мл	Оптична густина A
1	5,00	0,072
2	7,00	0,306
3	9,00	0,510
4	11,00	0,731
5	13,00	0,980
6	15,00	1,222

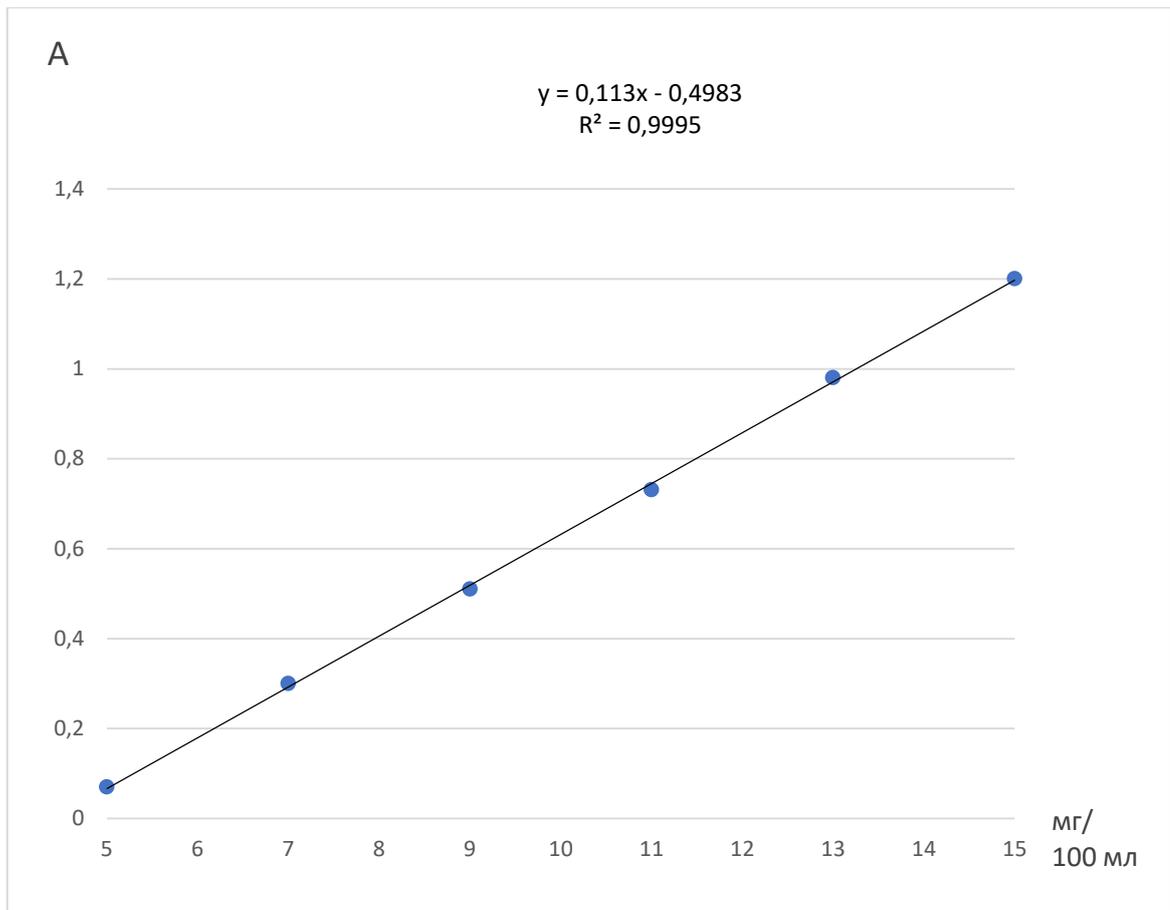


Рисунок 9. Градувальний графік (залежність $A = f(C)$).

Згідно з вимогами ДФУ проводили статистичну оцінку результатів:

Маємо функцію лінійної регресії $y = 0,113 \cdot x - 0,4983$ (коефіцієнт кореляції $R^2 = 0,9995$).

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

$$s_0^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - Y_i)^2}{\nu} = 0,0001062$$

$$s_b^2 = \frac{n \cdot s_0^2}{n \cdot \sum_{i=1}^n x_i^2 - (\sum_{i=1}^n x_i)^2} = 1,51764 \cdot 10^{-6}$$

$$s_a^2 = \frac{s_b^2}{n} \cdot \sum_{i=1}^n x_i^2 = 0,00016947$$

$$s_b = \sqrt{s_b^2} = 0,001232$$

$$s_a = \sqrt{s_a^2} = 0,013018$$

Отже, стандартне відхилення для коефіцієнта a складає 0,013018, для коефіцієнта b – 0,001232.

Для розрахунку довірчого інтервалу виписуємо значення коефіцієнта Стьюдента при довірчій ймовірності $P = 0,95$ та ступенях свободи $\nu = 4$ – $t(0,95; 4) = 2,7764$.

Розраховуємо довірчий інтервал для коефіцієнта a :

$$a \pm s_a \cdot t(0,95; 4) = 0,4983 \pm 0,0361$$

Розраховуємо довірчий інтервал для коефіцієнта b :

$$b \pm s_b \cdot t(0,95; 4) = 0,113 \pm 0,00342$$

Враховуючи вищенаведені результати можна зробити відповідь про відповідність методики спектрофотометричного визначення вимогам ДФУ [25-26].

3.3. Кількісне спектрофотометричне визначення діючої речовини клотримазол у Об'єкті дослідження та часткова валідація методики.

Концентрацію клотримазолу у Зразку знаходили за ГГ загальновідомими методиками, результати дослідження (враховуючи розведення) представлено у Таблиці 4. Внутрішньолабораторну точність перевіряли згідно [25-26], вимірювання проводили також на наступний день, статистично результати обробляли так, як зазначено у ДФУ [25-26].

Аналізуючи результати, які представлені у Таблиці 4, можна зробити наголос на тому, що концентрації діючої речовини клотримазол, які були визначені у рідкій лікарській формі, корелюють між собою, відносне стандартне відхилення та відносна похибка середнього значення не перебільшує 1% і відповідає вимогам ДФУ:

Таблиця 4. Результати кількісного спектрофотометричного визначення діючої речовини клотримазол у Об'єкті дослідження.

Об'єкт дослідження	Концентрація АФІ клотримазол, мг, враховуючи розведення	
	День 1	День 2
	10,11	10,08
	10,13	10,11
	9,99	9,98
	9,97	9,97
	10,09	9,98
Середнє значення,	10,06	10,02
Стандартне відхилення, s	0,0729	0,0658
Дисперсія, s^2	0,00532	0,00433
Відносне стандартне відхилення, %	0,725	0,656
Довірчий інтервал,	10,06 \pm 0,090	10,02 \pm 0,082
Відносна похибка середнього значення, %	0,90	0,82

Наступним етапом нашого дослідження було вивчення стабільності ІА «клотримазол – БКП». Для виконання цієї процедури ми проводили вимірювання оптичної густини А іонного асоціату кожні 10 хвилин, довірчий інтервал, відносну похибку та відносну похибку середнього значення визначали так, як у публікаціях [25-26], результати наведено у Таблиці 5. Аналізуючи наведені експериментальні дані та статистичну оцінку результатів можна стверджувати, що значення оптичної густини А корелюють між собою, іонні асоціати є стабільними, значення довірчого інтервалу та відносна похибка середнього значення відповідають вимогам ДФУ:

Таблиця 5.

Аналіз стабільності розчину іонного асоціату «клотримазол-БКП», концентрація АФІ 11,00мг/100 мл, довжина хвилі дослідження – 410 нм.

								Середнє	RSD,%	Довірчий інтервал	Відносна похибка середнього значення	Дисперсія
t, хв.	0	10	20	30	40	50	60					
Оптична густина А	0,731	0,732	0,732	0,732	0,734	0,735	0,735	0,733	0,2228	0,733 ± 0,00151	0,206	2,6666·10 ⁻⁶

3.4. Кількісне визначення клотримазолу у Зразках об'ємним методом.

Згідно Європейської фармакопеї (Додаток 1) кількісно клотримазол у субстанції визначають методом ацидиметричного титрування з наступним визначенням точки еквівалентності індикаторним методом.

При знайомстві із фаховою літературою методику визначення клотримазолу у розчинах для зовнішнього застосування титриметричним методом ми не знайшли, тому, наступним кроком нашої роботи було провести об'ємний аналіз за участю індикаторів.

Ми провели ацидиметричне титрування у неводному середовищі з метою визначення концентрації діючої речовини клотримазол у лікарській формі (розчині для зовнішнього застосування) у першу чергу для того, щоб порівняти метод ІЧ – спектрофотометричного визначення та ацидиметричне титрування, Таблиця 6.

Проводячи аналіз результатів експерименту, можна зробити висновок, що відносне стандартне відхилення у ацидиметрії не перебільшує 1,7%, відносна похибка середнього значення знаходиться у межах допустимого інтервалу.

Для оцінки внутрішньолабораторної точності ми провели об'ємні визначення також і на наступний календарний день (Таблиця 6), результати знайденої концентрації клотримазолу корелюють між собою і статистична оцінка результатів відповідає вимогам ДФУ.

Однак, з нашої точки зору, метод об'ємного аналізу поступається точністю методу спектрофотометрії (але помилка експерименту відповідає вимогам ДФУ), підготовка до проведення досліджень вимагає додаткового приготування розчинів та стандартизацію титранту (у нашому випадку HClO_4). Перевагою титриметричного аналізу вважаємо простоту виконання

та низьку собівартість аналізів. Відмічаємо, що для проведення рутинних системних аналізів обидва методи можуть бути придатними:

Таблиця 6. Результати кількісного ацидиметричного визначення діючої речовини клотримазол у розчині для зовнішнього застосування (Об'єкті дослідження).

Кількісний вміст клотримазолу, мг (враховуючи розведення)		
Зразок	День 1	День 2
	10,15	10,12
	10,22	10,19
	9,88	9,96
	9,86	9,92
	9,91	9,90
Середнє значення, \bar{x}	10,00	10,02
Стандартне відхилення, s	0,168	0,129
Дисперсія, s^2	0,0282	0,0167
Відносне стандартне відхилення, %	1,68	1,29
Довірчий інтервал	10,00 \pm 0,21	10,02 \pm 0,16
Відносна похибка середнього значення, %	2,08	1,60

ВИСНОВКИ

1. Проаналізовано фізико-хімічні та фармакологічні властивості клотримазолу, можлива токсичність та взаємодія з іншими лікарськими речовинами;
2. Проаналізовано методики ідентифікації та кількісного визначення клотримазолу у різноманітних лікарських формах (мазях, кремах, розчинах);
3. Розроблена та апробована методика кількісного спектрофотометричного визначення клотримазолу у розчинах для зовнішнього застосування;
4. Спираючись на методику кількісного визначення клотримазолу у субстанції, яка наведена у Європейській фармакопеї, проведено кількісне визначення АФІ клотримазол у розчинах для зовнішнього застосування, порівняно кількісні методи спектрофотометричного визначення та титриметричного ацидиметричного титрування.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Всесвітня організація охорони здоров'я <http://www.who.int/en>.
2. <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/3586/klotrimazol>.
3. <https://uk.wikipedia.org/Мікоз>.
4. Фармацевтична хімія: Підручник. Ред. П.О. Безуглий. – Вінниця: Нова Книга, 2008 – 560с.
5. Довідник лікарських препаратів Компендіум [Електронний ресурс]. - Режим доступу:<https://compendium.com.ua/>
6. Фармакологія за Рангом і Дейлом, пер.9-го англ.вид. у 2-х томах Т.1/Джеймс М.Рітер, Род Флавер, ГремГендерсон, Юн Конг Лоук, Девід Мак К,юн, Гемфрі П Ранг; наук.ред.перекл. Ганна Зайченко, Микола Хайтович.-К.ВСВ ”Медицина“, 2021-588 с.
7. Фармакологія з основами патології / Колесник Ю.М.,Чекман І.С., Беленічев І.Ф., Горчакова Н.О., Нагорна О.О., Бухтіярова Н.В., Моргунцова С.А., Зайченко Г.В. : підручник. Вінниця: Нова книга, 2021. – 572 с.
8. Побічна дія ліків: підручник для студентів вищих навчальних закладів медичної освіти/Беленічев І.Ф., Горчакова Н.О., Бухтіярова Н.В, Самура Т.А., Бухтіярова Т.А., Нагорна О.О., Моргунцова С.А., Єгоров А.А., Риженко О.В., Тихоновський О.В. Запоріжський державний медичний Університет. Вінниця: Нова книга, 2021. – 360 с.

9. Фармакологія. Підручник для медичних і стоматологічного факультетів Вищих медичних навчальних закладів освіти. І.С.Чекман, В.М.Бобирьов, В.В.Кресюн, В.В.Годован, Н.О.Горчакова, Л.І.Казак, Т.В.Кава, Г.Ю.ОстровськаТ.А.Петрова, Л.М.Рябушко Вінниця: Нова книга, 2020. – 472 с.
- 10.Довідник еквівалентності лікарських засобів Rxindex Спеціалізоване медичне видання / за ред І.А. Зупанця, В.П. Черних 4 вид. Перероблене К.: Фармацевт практик- 2020. – 2033 с.
- 11.Pharmacology / [M. A. Clark, R. Finkel, J. A. Rey et al.]. – [7th ed.]. – Baltimore : Lippincott Williams & Wilkins, 2018. – 638 p.
- 12.www.pharma-center.com.ua.веб-сайт ДЦФ МОЗ України [web-page] URL.
- 13.Практикум з аналітичної хімії. Навч. Посіб. Для студ. вищ. навч. закл. / В.В.Болотов, Ю.В.Сич, О.М.Свечнікова та ін.; За аг. Ред.. В.В.Болотова. - Х: Вид-во НФаУ: Золоті сторінки.2003.- 240с.
14. Аналітична хімія. Підручник для вищих навчальних закладів / А.С. Алемасова, В.М. Зайцев, Л.Я. Єнальєва, Н.Д. Щепіна, С.М. Гождзінський / Під ред. В.М. Зайцева. – Донецьк: ДонНУ, 2009. – 415 с.
- 15.СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ МЕТФОРМІНУ ГІДРОХЛОРИДУ В ТАБЛЕТКАХ ЗА РЕАКЦІЄЮ З

- БРОМКРЕЗОЛОВИМ ЗЕЛЕНИМ. *Фармацевтичний часопис*, (2), 19–30. <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2023.2.14046>
16. Chromatographic determination of clotrimazole, ketoconazole and flucanazole in pharmaceutical formulations / Abdel-Moety E.M., Khattab F.I., Kelani K.M., Abou Al-Alamein A.M. // *Farmaco.* – 2002. – Vol. 57, № 11. – P. 931–938.
17. Stability indicating methods for the determination of some antifungal agents using densitometric and RP-HPLC methods / Mousa B.A., El-Kousy N.M., El-Bagary R.I., Mohamed N.G. // *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo).* – 2008. – Vol. 56, № 2. – P. 143–149.
18. M Cakar . High-performance thin-layer chromatography determination of some antimycotic imidazole derivatives and preservatives in medicinal creams and a gel / Cakar M., Popović G., Agbaba D. // *J. AOAC Int.* – 2005. – Vol. 88, № 5. – P. 1544–1548.
19. J Ekiert R. . Determination of azole antifungal medicines using zero-order and derivative UV spectrophotometry / Ekiert R.J., Krzek J. // *Acta Pol Pharm.* – 2009. – Vol. 66, № 1. – P. 19–24.
20. Analysis of some antifungal drugs by spectrophotometric and spectrofluorimetric methods in different pharmaceutical dosage forms / Khashaba P.Y., El-Shabouri S.R., Emara K.M., Mohamed A.M. // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2000. – Vol. 22, № 2. – P. 363–376.

21. Farhadi K. Triiodide ion and alizarin red S as two new reagents for the determination of clotrimazole and ketoconazole / Farhadi K., Maleki R. // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2002. – Vol. 30, № 4. – P. 1023–1033.
22. Cardoso S.G. Spectrophotometric determination of carvedilol in pharmaceutical formulations through charge–transfer and ion–pair complexation reactions / Cardoso S.G., Ieggli C.V., Pomblum S.C. // *Pham.* – 2007. – Vol. 62, № 1. – P. 34–37.
23. Erk N. Spectrophotometric determination of indinavir in bulk and pharmaceutical formulations using bromocresol purple and bromothymol blue / Erk N. // *Pham.* – 2007. – Vol. 59, № 3. – P. 183–186.
24. Rahman N. Extractive spectrophotometric methods for determination of diltiazem HCl in pharmaceutical formulations using bromothymol blue, bromophenol blue and bromocresol green / Rahman N., Hejaz–Azmi S.N. // *J. of Pharm. and Biom.l Anal.* – 2000. – № 24. – P. 33–41.
25. Валідація аналітичних методик і випробувань. Державна Фармакопея України. Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е видання. Харків : ПІРЕГ, 2001. С.58 – 67. Доповнення 1. 2004. С. 2 – 4.
26. 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.

ДОДАТКИ

Додаток 1. Витяг з Європейської фармакопеї.

EUROPEAN PHARMACOPOEIA 8.0

Clotrimazole

Time (min)	Mobile phase A (per cent V/V)	Mobile phase B (per cent V/V)
0 - 2	30	30
2 - 22	30 + 20	30 + 80
22 - 27	20	80

Flow rate: 1.5 mL/min.

Detection: spectrophotometer at 240 nm.

Injection: 10 µL.

Relative retention with reference to clotrimazole (retention time = about 16 min): impurity A = about 0.07; impurity B = about 0.48; impurity C = about 0.62; impurity D = about 0.69; impurity E = about 0.82; impurity F = about 0.89; impurity G = about 0.93; impurity H = about 1.13; impurity I = about 1.16; impurity J = about 1.55.

System suitability: reference solution (a):

- resolution: baseline separation between the peaks due to impurity G and clotrimazole,
- the chromatogram obtained is similar to the chromatogram supplied with *clotrimazole* for system suitability CRS.

Limits:

- correction factors: for the calculation of contents, multiply the peak areas of the following impurities by the corresponding correction factor: impurity A = 1.5; impurity B = 1.3;
- impurity G: not more than 2.5 times the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (b) (0.5 per cent);
- impurities F, H, I: for each impurity, not more than 1.5 times the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (b) (0.3 per cent);
- impurities A, B, C, D, E, J: for each impurity, not more than the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (b) (0.2 per cent);
- any other impurity: for each impurity, not more than the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (b) (0.2 per cent);
- total: not more than 7.5 times the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (b) (1.5 per cent);
- disregard limit: 0.25 times the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (b) (0.05 per cent).

Water (2.5.12): 4.8 per cent to 5.8 per cent, determined on 0.250 g.

Use a mixture of 1 volume of *dimethylformamide R* and 4 volumes of *methanol R* as the solvent.

ASSAY

Dissolve 0.500 g in 50 mL of a mixture of 1 volume of *anhydrous acetic acid R* and 7 volumes of *methyl ethyl ketone R*. Titrate with 0.1 M *perchloric acid*, determining the end-point potentiometrically (2.2.20).

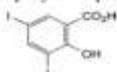
1 mL of 0.1 M *perchloric acid* is equivalent to 68.5 mg of $C_{22}H_{19}Cl_2I_2N_7NaO_2$.

STORAGE

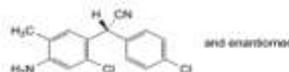
In an airtight container, protected from light.

IMPURITIES

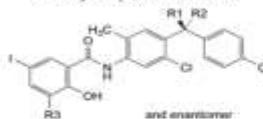
Specified impurities: A, B, C, D, E, F, G, H, I, J.



A. 2-hydroxy-3,5-diodobenzoic acid.



B. (2RS)-(4-amino-2-chloro-5-methylphenyl)(4-chlorophenyl)ethanimine,

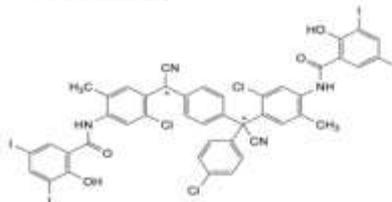
C. R1 = H, R2 = CO₂H, R3 = I: (2RS)-[2-chloro-4-[(2-hydroxy-3,5-diiodobenzoyl)amino]-5-methylphenyl](4-chlorophenyl)acetic acid.D. R1 = H, R2 = CONH₂, R3 = I: N-[4-[(1RS)-2-amino-1-(4-chlorophenyl)-2-oxoethyl]-5-chloro-2-methylphenyl]-2-hydroxy-3,5-diiodobenzamide.

E. R1 = H, R2 = CN, R3 = Cl: 3-chloro-N-[5-chloro-4-[(1RS)-(4-chlorophenyl)cyanomethyl]-2-methylphenyl]-2-hydroxy-5-iodobenzamide.

F. R1 + R2 = O, R3 = I: N-[5-chloro-4-(4-chlorobenzoyl)-2-methylphenyl]-2-hydroxy-3,5-diiodobenzamide.

G. R1 = H, R2 = C(=NH)OCH₃, R3 = I: methyl (2RS)-[2-chloro-4-[(2-hydroxy-3,5-diiodobenzoyl)amino]-5-methylphenyl]-2-(4-chlorophenyl)acetimidate.H. R1 = H, R2 = CO-OCH₃, R3 = I: methyl (2RS)-[2-chloro-4-[(2-hydroxy-3,5-diiodobenzoyl)amino]-5-methylphenyl](4-chlorophenyl)acetate.

I. R1 = R3 = H, R2 = CN: N-[5-chloro-4-[(1RS)-(4-chlorophenyl)cyanomethyl]-2-methylphenyl]-2-hydroxy-5-iodobenzamide.

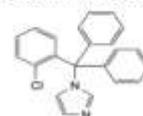


J. N-[5-chloro-4-[[4-[[2-chloro-4-[(2-hydroxy-3,5-diiodobenzoyl)amino]-5-methylphenyl]cyanomethyl]phenyl](4-chlorophenyl)cyanomethyl]-2-methylphenyl]-2-hydroxy-3,5-diiodobenzamide.

04/2008:0757

CLOTTRIMAZOLE

Clotrimazolium



$C_{22}H_{19}ClN_7$
[23593-75-1]

M, 344.8

DEFINITION

1-[(2-Chlorophenyl)diphenylmethyl]-1H-imidazole.

General Notices (1) apply to all monographs and other texts

1931

Content: 98.5 per cent to 100.5 per cent (dried substance).

CHARACTERS

Appearance: white or pale yellow, crystalline powder.

Solubility: practically insoluble in water, soluble in ethanol (96 per cent) and in methylene chloride.

IDENTIFICATION

First identification: B.

Second identification: A, C.

A. Melting point (2.2.14): 141 °C to 145 °C.

B. Infrared absorption spectrophotometry (2.2.24).

Comparison: clotrimazole CRS.

C. Thin-layer chromatography (2.2.27).

Test solution. Dissolve 50 mg of the substance to be examined in ethanol (96 per cent) R and dilute to 5 mL with the same solvent.

Reference solution. Dissolve 50 mg of clotrimazole CRS in ethanol (96 per cent) R and dilute to 5 mL with the same solvent.

Plate: TLC silica gel F₂₅₄ plate R.

Mobile phase: concentrated ammonia R₁, propanol R, toluene R (0.5:10:90 V/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.

TESTS

Related substances. Liquid chromatography (2.2.29).

Test solution. Dissolve 50.0 mg of the substance to be examined in acetonitrile R₁ and dilute to 50.0 mL with the same solvent.

Reference solution (a). Dilute 1.0 mL of the test solution to 100.0 mL with acetonitrile R₁. Dilute 1.0 mL of this solution to 10.0 mL with acetonitrile R₁.

Reference solution (b). Dissolve the contents of a vial of clotrimazole for peak identification CRS (containing impurities A, B and F) in 1.0 mL of acetonitrile R₁.

Reference solution (c). Dissolve 5.0 mg of imidazole CRS (impurity D) and 5.0 mg of clotrimazole impurity E CRS in acetonitrile R₁ and dilute to 100.0 mL with the same solvent. Dilute 1.0 mL of this solution to 25.0 mL with acetonitrile R₁.

Column:

- size: $l = 0.15$ m, $\varnothing = 4.6$ mm;
- stationary phase: spherical end-capped octylsilyl silica gel for chromatography R (5 µm);
- temperature: 40 °C.

Mobile phase:

- mobile phase A: dissolve 1.0 g of potassium dihydrogen phosphate R and 0.5 g of tetrabutylammonium hydrogen sulfate R₁ in water R and dilute to 1000 mL with the same solvent;
- mobile phase B: acetonitrile R₁;

Time (min)	Mobile phase A (per cent V/V)	Mobile phase B (per cent V/V)
0 - 3	75	25
3 - 25	75 → 20	25 → 80
25 - 30	20	80

Flow rate: 1.0 mL/min.

Detection: spectrophotometer at 210 nm.

Injection: 10 µL.

Relative retention with reference to clotrimazole (retention time = about 12 min): impurity D = about 0.1; impurity F = about 0.9; impurity B = about 1.1; impurity E = about 1.5; impurity A = about 1.8.

System suitability: reference solution (b):

- resolution: minimum 1.5 between the peaks due to impurity F and clotrimazole;
- the chromatogram obtained is similar to the chromatogram supplied with clotrimazole for peak identification CRS.

Limits:

- impurities A, B: for each impurity, not more than twice the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (a) (0.2 per cent);
- impurities D, E: for each impurity, not more than the area of the corresponding peak in the chromatogram obtained with reference solution (c) (0.2 per cent);
- impurity F: not more than the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (a) (0.1 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 5 times the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (a) (0.5 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).

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 0.300 g in 80 mL of anhydrous acetic acid R. Using 0.3 mL of naphtholbenzein solution R as indicator, titrate with 0.1 M perchloric acid until the colour changes from brownish-yellow to green.

1 mL of 0.1 M perchloric acid is equivalent to 34.48 mg of C₁₂H₁₇ClN₂.

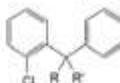
STORAGE

Protected from light.

IMPURITIES

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

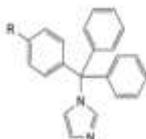
Other detectable impurities (the following substances would, if present at a sufficient level, be detected by one or other of the tests in the monograph. They are limited by the general acceptance criterion for other/unspecified impurities and/or by the general monograph Substances for pharmaceutical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



A. R = OH, R' = C₆H₅; (2-chlorophenyl)diphenylmethanol.

C. R = Cl, R' = C₆H₅; 1-chloro-2-(chlorodiphenylmethyl)benzene.

E. R + R' = O; (2-chlorophenyl)phenylmethanone (2-chlorobenzophenone).



B. R = Cl: 1-[(4-chlorophenyl)diphenylmethyl]-1H-imidazole.

F. R = H: 1-(triphenylmethyl)-1H-imidazole (deschloro-clotrimazole).

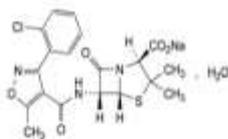


D. imidazole.

01/2008:0661

CLOXACILLIN SODIUM

Cloxacillinum natrium



$C_{19}H_{17}ClN_2NaO_5 \cdot H_2O$
[7081-44-9]

M, 475.9

DEFINITION

Sodium (2S,5R,6R)-6-[[[3-(2-chlorophenyl)-5-methylisoxazol-4-yl]carbonyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylate monohydrate. Semi-synthetic product derived from a fermentation product. Content: 95.0 per cent to 102.0 per cent (anhydrous substance).

CHARACTERS

Appearance: white or almost white, hygroscopic, crystalline powder.

Solubility: freely soluble in water and in methanol, soluble in ethanol (96 per cent).

IDENTIFICATION

First identification: A, D.

Second identification: B, C, D.

A. Infrared absorption spectrophotometry (2.2.24).

Preparation: discs.

Comparison: cloxacillin sodium CRS.

B. Thin-layer chromatography (2.2.27).

Test solution: Dissolve 25 mg of the substance to be examined in 5 mL of water R.

Reference solution (a): Dissolve 25 mg of cloxacillin sodium CRS in 5 mL of water R.

Reference solution (b): Dissolve 25 mg of cloxacillin sodium CRS, 25 mg of dicloxacillin sodium CRS and 25 mg of fluclloxacillin sodium CRS in 5 mL of water R.

Plate: TLC silanised silica gel plate R.

Mobile phase: mix 30 volumes of acetone R and 70 volumes of a 15.4 g/L solution of ammonium acetate R, then adjust to pH 5.0 with glacial acetic acid R.

Application: 1 µL.

Development: over a path of 15 cm.

Drying: in air.

Detection: expose to iodine vapour until the spots appear; examine in daylight.

System suitability: reference solution (b):

- the chromatogram shows 3 clearly separated spots.

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

C. Place about 2 mg in a test-tube about 150 mm long and 15 mm in diameter. Moisten with 0.05 mL of water R and add 2 mL of sulfuric acid-formaldehyde reagent R. Mix the contents of the tube by swirling; the solution is slightly greenish-yellow. Place the test-tube in a water-bath for 1 min; the solution becomes yellow.

D. It gives reaction (a) of sodium (2.3.1).

TESTS

Solution S. Dissolve 2.50 g in carbon dioxide-free water R and dilute to 25.0 mL with the same solvent.

Appearance of solution. Solution S is clear (2.2.1) and its absorbance (2.2.25) at 430 nm is not greater than 0.04.

pH (2.2.3): 5.0 to 7.0 for solution S.

Specific optical rotation (2.2.7): +160 to +169 (anhydrous substance).

Dissolve 0.250 g in water R and dilute to 25.0 mL with the same solvent.

Related substances. Liquid chromatography (2.2.29).

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

Test solution (b). Dilute 5.0 mL of test solution (a) to 50.0 mL with the mobile phase.

Reference solution (a). Dissolve 50.0 mg of cloxacillin sodium CRS in the mobile phase and dilute to 50.0 mL with the mobile phase. Dilute 5.0 mL of this solution to 50.0 mL with the mobile phase.

Reference solution (b). Dilute 5.0 mL of test solution (b) to 50.0 mL with the mobile phase.

Reference solution (c). Dissolve 5 mg of fluclloxacillin sodium CRS and 5 mg of cloxacillin sodium CRS in the mobile phase and dilute to 50.0 mL with the mobile phase.

Column:

- size: $l = 0.25$ m, $\varnothing = 4$ mm;

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

Mobile phase: mix 25 volumes of acetonitrile R and 75 volumes of a 2.7 g/L solution of potassium dihydrogen phosphate R adjusted to pH 5.0 with dilute sodium hydroxide solution R. Flow rate: 1.0 mL/min.

Detection: spectrophotometer at 225 nm.

Injection: 20 µL of test solution (a) and reference solutions (b) and (c).

Run time: 5 times the retention time of cloxacillin.

System suitability: reference solution (c):

- resolution: minimum 2.5 between the peaks due to cloxacillin (1st peak) and fluclloxacillin (2nd peak).

Limits:

- any impurity: not more than the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (b) (1.0 per cent);

- total: not more than 5 times the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (b) (5.0 per cent);

- disregard limit: 0.05 times the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (b) (0.05 per cent).

N,N-Dimethylaniline (2.4.26, Method B): maximum 20 ppm.

2-Ethylhexanoic acid (2.4.28): maximum 0.8 per cent m/m.

Додаток 2. Посуд та обладнання для проведення ІЧ – спектрофотометричного визначення.

Хімічний посуд



Терези лабораторні
ТВЕ-0,21-0,001-а-2



Анотація (Summary).

Introduction. In the treatment of mycoses, antifungal drugs are used, which can be divided into two groups: antifungal antibiotics and antifungal drugs of synthetic origin, which include Nitrogen. Clotrimazole belongs to the subgroup of imidazoles, class - azoles.

Purpose of the study. To develop a method for the quantitative determination of the active substance clotrimazole, which is part of medicines, with bromocresol purple.

Research methods. IR - spectrophotometry.

Results. Clotrimazole as an API can be quantitatively determined by numerical methods based on instrumental and volumetric methods. The professional literature contains a detailed description of the quantitative determination of the API clotrimazole by HPLC, TLC, LC and UV - spectrophotometry. The European Pharmacopoeia recommends determining clotrimazole in a substance by a volumetric indicator method. Ukrainian scientists proposed to quantitatively determine clotrimazole with sulfophthalein dyes (Yu. Burlaka, O. Tarkhanova, S. Vasyuk and I. Keitlin (Spectrophotometric determination of clotrimazole in dosage forms, Pharmacy Questions, 2010, vol. 12, No. 4), from our point of view, the presented method has low advantages due to ease of implementation, high accuracy and cost-effectiveness. Based on the experimental data that were published by Zaporizhzhia scientists, we developed our own method for quantitative determination of clotrimazole in a liquid dosage form. As the object of study, we chose a liquid dosage form produced by a domestic manufacturer, the solvent was chloroform, and the color reagent was bromocresol purple. The determination of the absorbance value was carried out at a wavelength of 410 nm (the choice was due to the analysis of a previously constructed absorption spectrum for ionic associate "clotrimazole- bromocresol purple", clotrimazole concentration 10.00 mg/100 ml). The concentration of the API was established by the calibration graph method, standard diluted solutions of clotrimazole for GG were prepared

from the pharmacopoeial standard sample. The method was checked for linearity, intralaboratory accuracy. The stability of the ionic associate "clotrimazole-bromocresol purple" was studied for an hour as a function of optical density $A = f(t)$.

Conclusions. Based on previously conducted scientific research, a method for the quantitative determination of clotrimazole in a liquid dosage form was developed and tested, RSD % does not exceed 1.0%.

БРОМКРЕЗОЛОВИЙ ПУРПУРНИЙ ЯК КОЛЬОРОВИЙ РЕАГЕНТ ДЛЯ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ КЛОТРИМАЗОЛУ У РІДКИХ ЛІКАРСЬКИХ ФОРМАХ.

Коновальчук Б.М., Чхало О.М.

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

м. Київ, Україна

bkonovalchuk@gmail.com,

Ключові слова: кількісне визначення, клотримазол, спектрофотометрія.

Вступ. При лікуванні мікозів використовують антимікозні препарати, які можна розділити на дві групи: протигрибкові антибіотики та протигрибкові препарати синтетичного походження, до складу яких входить Нітроген. Клотримазол належить до підгрупи імідазолів, клас - азоли.

Мета дослідження. Розробити методику кількісного визначення діючої речовини клотримазол, що входить до складу лікарських засобів, з бромкрезоловим пурпурним.

Методи дослідження. Спектрофотометрія.

Результати. Кількісно клотримазол як АФІ можна визначати чисельними методиками, які засновані на інструментальних та об'ємних методах. У фаховій літературі знаходиться детальний опис кількісного визначення АФІ клотримазол методом ВЕРХ, ТШХ, РХ та УФ – спектрофотометрією. Європейська фармакопея рекомендує визначати клотримазол у субстанції об'ємним індикаторним методом. Українські вчені Ю. Бурлака, О. Тарханова, С. Васюк та І. Кейтлін запропонували кількісно клотримазол визначати із сульфогфталейновими барвниками. З нашої точки зору представлена методика має низку переваг завдяки простоті виконання, високій точності та економічності. Спираючись на експериментальні дані, які були оприлюднені запорізькими вченими, ми розробили власну методику кількісного визначення клотримазолу у рідкій лікарській формі. Об'єктом дослідження ми обрали рідку лікарську форму, яку виробляє вітчизняний виробник, розчинником - хлороформ, кольоровим реагентом – бромкрезоловий пурпурний.

Визначення величини абсорбції проводили при довжині хвилі 410 нм (вибір був обумовлений аналізом попередньо побудованого спектра поглинання для іонного асоціату «клотримазол - бромкрезоловий пурпурний», концентрація клотримазолу 10,00 мг/100 мл). Концентрацію АФІ встановлювали за методом градуювального графіка, стандартні розведені розчини клотримазолу для ГГ готували зі фармакопейного стандартного зразка. Методику перевіряли на лінійність, внутрішньолабораторну точність. Стійкість іонного асоціату «клотримазол – бромкрезоловий пурпурний» вивчали протягом години як функцію $A = f(t)$.

Висновки. Спираючись на раніше проведені наукові дослідження, розроблена та апробована методика кількісного визначення клотримазолу у рідкій лікарській формі, RSD % не перебільшує 1,0%.