

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: **РОЗРОБКА МЕТОДИКИ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНОГО
МЕТОДУ ВИЗНАЧЕННЯ ТІОСУЛЬФАТ-ЙОНІВ У РІДКИХ
ЛІКАРСЬКИХ ФОРМАХ**

Виконала: здобувачка вищої освіти 5-
го курсу, групи 118Ф1Б напряму
підготовки 22 «Охорона здоров'я»
освітня програма «Фармація»

Муравинець Тетяна Василівна

Керівниця: завідувачка кафедри,
к.х.н., доцентка Зайцева Галина
Миколаївна

Рецензентка: к.х.н., доцентка

Глушаченко Ольга Олександрівна

Київ – 2026

ЗМІСТ		Сторі нки
Перелік умовних позначень, символів, скорочень та термінів		4
ВСТУП		5
ОСНОВНА ЧАСТИНА		8
Розділ 1	Хіміко-фармацевтичні властивості натрій тіосульфату та методи його визначення	8
1.1	Сполуки, що містять тіосульфат йон, та їх застосування у фармації та медицині	8
1.2	Фармакологічна дія тіосульфатів	10
1.3	Класичні методи ідентифікації і кількісного визначення тіосульфатів	11
1.3.1	Методи виявлення та ідентифікації тіосульфат-йона	11
1.3.2	Методи кількісного визначення тіосульфату	13
1.4	Обмеження та проблеми існуючих методів визначення тіосульфатів	16
1.5	Перспективи удосконалення методів визначення тіосульфат-йонів	16
Розділ 2	Об'єкти дослідження, матеріали та методи	19
2.1	Об'єкти дослідження	19
2.2	Реагенти, хімічний посуд і обладнання	20
2.3	Методики приготування стандартних і робочих розчинів	22
2.4	Методики дослідження оптимальних умов спектрофотометричного визначення тіосульфат-йонів	24
2.5	Методика побудови градуювального графіка	26
2.6	Методика спектрофотометричного визначення тіосульфат-йонів	26

2.7	Статистична обробка результатів аналізу	27
Розділ 3	Результати дослідження та їх обговорення	28
3.1	Оптимізація умов спектрофотометричного визначення тіосульфат-йонів	28
3.1.1.	Вплив концентрації метиленового синього	28
3.1.2.	Вплив кислотності середовища	29
3.1.3	Кінетика реакції та стабільність аналітичного сигналу	30
3.2.	Аналітичні характеристики спектрофотометричного методу	32
3.2.1.	Лінійність, межа виявлення та межа кількісного визначення	33
3.2.2.	Прецизійність і відтворюваність методу	35
3.3.	Результати визначення тіосульфат-йонів у зразку	36
	ВИСНОВКИ	39
	СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	40
	ДОДАТКИ	44
	SUMMARY	46

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, СКОРОЧЕНЬ ТА ТЕРМІНІВ

ДФУ — Державна фармакопея України

ICH Q2(R1) — Міжнародні настанови з валідації аналітичних методик

АФІ — активний фармацевтичний інгредієнт

ΔA — різниця оптичної густини між холостим та досліджуваним розчином

A — оптична густина

λ — довжина хвилі, нм

LOD — межа виявлення

LOQ — межа кількісного визначення

R — коефіцієнт кореляції

S — нахил калібрувальної прямої

σ — стандартне відхилення холостого дослідження

s — середньоквадратичне відхилення

RSD — відносне стандартне відхилення, %

\bar{x} — середнє арифметичне значення

n — кількість паралельних визначень

pH — водневий показник

ммоль/л — мілімоль на літр

моль/л — моль на літр

г/л — грам на літр

ВСТУП

Актуальність. Забезпечення точного та відтворюваного визначення активних речовин у лікарських формах у фармацевтичному аналізі є важливим завданням, оскільки гарантує їхню ефективність і безпеку. Сполуки, які мають характерні окисно-відновні властивості потребують особливої уваги. До таких сполук відносяться тіосульфати, що використовуються як антидоти, детоксиканти та допоміжні засоби у фармакотерапії [1,2]. Натрій тіосульфат серед них є найпоширенішим і входить до складу лікарських засобів у вигляді ін'єкційних розчинів, інфузійних форм тощо [1-3].

З метою забезпечення якості лікарських засобів проводять кількісний контроль вмісту тіосульфатів за допомогою аналітичних методів, рекомендованих ДФУ [1]. Базовими методами фармацевтичного контролю є класичні титриметричні підходи, зокрема йодометричне титрування, завдяки простоті та надійності [1, 4, 5]. Разом з тим методи титриметрії мають низку обмежень. На точність результатів титрування може впливати чутливість нестабільність титрантів, необхідність точного дотримання температури, рН середовища та концентрації реактивів тощо [4, 6].

Сучасні дослідження пропонують нові підходи до вдосконалення таких методів. Зростає потенціал комбінованих методів для аналізу сірковмісних антиоксидантів, включаючи тіосульфати [7, 8]. Спектрофотометричні методи аналізу, зокрема із застосуванням органічних барвників [8], поєднують високу чутливість, простоту виконання та доступність апаратурного забезпечення, що робить їх перспективними для рутинного фармацевтичного контролю. Метилловий синій є доступним і стабільним барвником, здатним вступати в реакції, що супроводжуються характерними спектральними змінами, придатними для кількісного аналізу [7].

У зв'язку з цим розробка спектрофотометричної методики визначення тіосульфат-йонів у рідких лікарських формах з використанням метилового синього є актуальним науковим і практичним завданням сучасного фармацевтичного аналізу

Мета та завдання дослідження

Метою роботи є розробка, оптимізація та аналітичне обґрунтування спектрофотометричної методики кількісного визначення тіосульфат-йонів у рідких лікарських формах із застосуванням метилового синього.

Завдання дослідження:

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

1. Проаналізувати наукові та фармакопейні джерела щодо існуючих методів визначення тіосульфат-йонів у лікарських засобах та обґрунтувати доцільність застосування спектрофотометричного підходу.
2. Дослідити умови взаємодії тіосульфат-йонів з метиловим синім та оптимізувати основні аналітичні параметри методу (довжину хвилі, концентрації реагентів, рН середовища, час реакції).
3. Розробити методику спектрофотометричного визначення тіосульфат-йонів у модельних розчинах і рідких лікарських формах та оцінити вплив компонентів матриці.
4. Провести аналітичну оцінку розробленої методики за показниками лінійності, точності, прецизійності та межі кількісного визначення.

Методи дослідження:

У роботі застосовано спектрофотометричний метод аналізу, що ґрунтується на вимірюванні оптичної густини продуктів взаємодії тіосульфат-йонів з метиловим синім у видимій області спектра. Кількісне визначення проводили за методом калібрувального графіка.

Пробопідготовку модельних розчинів і рідких лікарських форм здійснювали шляхом відповідного розведення очищеною водою; вплив компонентів матриці оцінювали методом добавок.

Аналітичну придатність методики оцінювали відповідно до рекомендацій ДФУ за показниками лінійності, точності та прецизійності [9].

Статистичну обробку результатів проводили з використанням методів варіаційної статистики з розрахунком середнього значення та відносного стандартного відхилення [10].

Новизна та значення одержаних результатів. Розроблено та аналітично обґрунтовано спектрофотометричну методику визначення тіосульфат-йонів у рідких лікарських формах із використанням метилового синього як аналітичного реагенту. Встановлено оптимальні умови взаємодії реагентів, що забезпечують підвищену чутливість і селективність методу в присутності типових допоміжних речовин рідких лікарських форм.

Розроблена методика є простою у виконанні, не потребує складного або дорогого обладнання та може бути використана для рутинного контролю якості рідких лікарських засобів, що містять тіосульфат-йони. Отримані результати можуть бути впроваджені у практику фармацевтичних лабораторій контролю якості, а також використані в навчальному процесі при викладанні фармацевтичного аналізу.

Апробація результатів дослідження

Результати роботи апробовано на VI Науково-практичній конференції з міжнародною участю «PLANTA+. НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА». 23 СІЧНЯ 2026 р., м. Київ, Україна – постерна доповідь. (Сертифікат учасника, Додаток 1).

Публікації

Муравинець Т. В., Зайцева Г.М. СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ТІОСУЛЬФАТ-ЙОНІВ У РІДКИХ ЛІКАРСЬКИХ ФОРМАХ З ВИКОРИСТАННЯМ МЕТИЛЕНОВОГО СИНЬОГО. Матеріали VI Науково-практичної конференції з міжнародною участю «PLANTA+. НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА». 23 СІЧНЯ 2026 р., м. Київ, Україна. С. 241. (Додаток 2).

Структура роботи: загальна кількість сторінок - 47 , кількість розділів - 3 , кількість додатків - 2 , кількість використаних джерел - 29

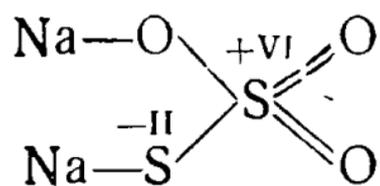
ОСНОВНА ЧАСТИНА

Розділ 1. Хіміко-фармацевтичні властивості натрій тіосульфату та методи його визначення

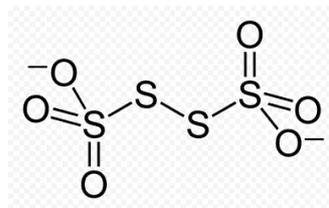
1.1. Сполуки, що містять тіосульфат йон та їх застосування у фармації та медицині

Тіосульфат йон є аніоном тіосульфатної кислоти $\text{H}_2\text{S}_2\text{O}_3$, який характеризується наявністю тіо-групи, що заміщує один атом Оксигену у сульфатній групі. Його хімічна формула - $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$.

Найбільш поширеним представником таких сполук у медицині та лікарських засобах є натрій тіосульфат [1-3,5,8], структурну формулу якого представлено на Рис. 1.



а



б

Рис.1 Структурна формула натрій тіосульфату (а) та тетратіонат йону (б).

У тіосульфат йоні центральний атом сірки утворює зв'язки з трьома атомами оксигену та атомом Сульфуру (S-S зв'язок) причому ступені окиснення двох атомів Сульфуру у тіосульфаті різні (Рис.1.).

Суша сіль натрій тіосульфату є кристалогідратом $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 5\text{H}_2\text{O}$ з характерною формою кристалів:



Натрій тіосульфат характеризується такими основними фізико-хімічними властивостями: являє собою безбарвні кристали, добре розчинні у воді, які мають слабкий запах сірководню при нагріванні.

Фізико-хімічні властивості тіосульфату натрію: молекулярна маса — 248,18 г/моль (пентагідрат); температура плавлення — 48 °С (з подальшою дегідратацією); рН водних розчинів — слабколужний (6,5–9,0); легко окиснюється до сульфату та сульфіту під дією кисню й світла; у кислому середовищі розкладається з виділенням сірки та діоксиду сірки [2,5,11].

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ виявляє добрі відновні властивості і легко окиснюється до тетратіонату [4-6, 11] – $\text{S}_4\text{O}_6^{2-}$ (Рис.1), утворює стійкі комплексні сполуки з деякими катіонами металів, таких як Ag^+ , Hg^{2+} , Cu^{2+} тощо.

Розчини натрій тіосульфату є обмежено стабільними у водному середовищі та схильні до повільного окиснення і розкладання. За умови приготування на свіжопрокип'яченій воді та зберігання у темному скляному посуді стандартизований розчин тіосульфату натрію зберігає сталі аналітичні характеристики протягом 7–10 діб [1, 4, 5, 6], що зумовлює необхідність його періодичної стандартизації. Але натрій тіосульфат нестійкий у кислому середовищі у якому розкладається з утворення вільної сірки та сірка (IV) оксиду.

Завдяки своїм відновним властивостям, здатності до комплексоутворення та детоксикаційної дії тіосульфати широко застосовуються як активні фармацевтичні форми. У лікарських формах як АФІ натрій тіосульфат застосовується у вигляді ін'єкційних розчинів для внутрішньовенного введення як антидот і засіб дезінтоксикаційної терапії [2, 3, 11]. Насамперед натрій тіосульфат використовується як антидот при ціанідами або сполуками, що містять галогени у своєму складі [2,12]. Рідка лікарська форма $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ використовується також як допоміжний засіб при лікуванні інтоксикації організму важкими металами, такими як ртуть, свинець тощо [3, 5], оскільки утворює розчинні, нетоксичні комплексні сполуки.

У низьких дозах застосовується при алергічних захворюваннях, ревматизмі, артритах, системному червоному вовчаку [3, 12, 13]. У цьому випадку тіосульфат діє як антиоксидант та стимулятор обмінних процесів. При лікуванні подагри, склеродермії, дерматологічних хвороб, зокрема грибкових інфекцій тощо [13, 14]. У вигляді 10-30% розчину використовується для обробки шкіри при паразитарних захворюваннях.

При дерматологічних захворюваннях використовують зовнішні лікарські засоби – мазі або розчини, що містять тіосульфат [14, 15].

1.2. Фармакологічна дія тіосульфатів

Фармакологічна дія тіосульфатів пояснюється їхньою здатністю нейтралізувати токсичні метаболіти з утворенням стійких і стабільних нетоксичних речовин. Фармакологічна група, до якої відноситься натрій тіосульфат V03B06.

Механізм дії натрій тіосульфату (біохімічний механізм детоксикації ціанідів) полягає у наданні тіосульфатом донорного атому Сульфуру для ферменту роданازی (TST), який каталізує реакцію:



і перетворює токсичний ціанід у відносно нетоксичний тіоціанат, що виводиться з сечею [15,16].

Ця реакція обмежена активністю ферменту та доступністю тіосульфату. Тобто має кіфазний характер (ферментативне обмеження), що означає залежність ефективності детоксикації від концентрації ціанід йонів і наявного запасу тіосульфату у організмі [17].

Розподіл, трансформацію і виведення тіосульфату з організму в основному забезпечується роданазною реакцією. Головний кінцевий метаболіт – тіоціанат- виводиться нирками із сечею. У дослідженнях на тваринах та клінічних спостереженнях було показано, що кліренс тіоціанату корелює з нирковою функцією [16, 17].

Деякі дослідження останніх років припускають, що окрім класичної дії як донор Сульфуру, тіосульфат може взяти участь у метаболізмі сірководню, що має потенційні судинорозширювальні або цитозахисні ефекти [17].

Натрій тіосульфат вважається відносно безпечним (низька токсичність при терапевтичних дозах), але надмірне введення його може призвести до побічних ефектів: гіпотензії через вплив на судинний тонус або осмотичні зміни, нудоти, блювання, шлунково-кишкових розладів [15].

Основна потенційна небезпека застосування розчинів $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ є накопичення тіоціанату. Особливо у пацієнтів з нирковою недостатністю, бо призводить до ціаністоїнатової інтоксикації симптомами якої є: слабкість, тремор, порушення зору або слуху, порушення функції щитоподібної залози, неврологічні прояви тощо.

У поєднанні $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ з іншими антидотами (нітритами) можливе утворення шкідливих для організму проміжних сполук. Наприклад, сульфідометгемоглобіну, який може конкурувати з ціанідами за мішені в дихальному ланцюгу клітин [16, 17].

Натрій тіосульфат як самостійний антидот є менш ефективним у порівнянні з комбінованими антидотами через його повільний початок дії, низьку проникність у клітини, короткий період напіввиведення та обмежений об'єм розподілу [12, 13].

Таким чином, фармакологічна роль і механізм дії тіосульфатів зумовлює необхідність точного кількісного визначення їх вмісту у лікарських формах, що забезпечує якість та безпеку терапії.

1.3 Класичні методи ідентифікації і кількісного визначення тіосульфатів

1.3.1. Методи виявлення та ідентифікації тіосульфату

Згідно з вимогами ДФУ, ідентифікація лікарських речовин неорганічної природи ґрунтується на виявленні характерних фізико-хімічних властивостей і проведенні специфічних хімічних реакцій, які підтверджують наявність

певного аніону або катіону у складі субстанції [1]. Для натрій тіосульфату ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) ДФУ регламентує декілька реакцій, що дозволяють достовірно визначити наявність тіосульфат-іона ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) у зразку.

Реакція з хлоридною кислотою.

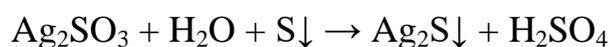
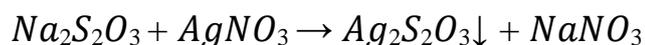
При додаванні до розчину тіосульфату розбавленої хлоридної кислоти відбувається характерна реакція розкладу з утворенням газоподібного оксиду Сульфуру (IV) та осадженням колоїдної сірки.



Виділення білого або жовтуватого осаду та характерний запах SO_2 є специфічними ознаками наявності тіосульфат йонів у зразку [1].

Реакція з аргентум нітратом.

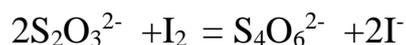
До розчину, що містить тіосульфат додають розчин аргентум нітрату. У результаті взаємодії білий осад аргентум тіосульфату, який на повітрі поступово темніє за рахунок утворення аргентум оксиду.



Цю реакцію використовують для тіосульфатів у присутності сульфатів і сульфатів, оскільки продукти їх взаємодії з реагентом має різну стійкість та колір [1, 4, 5].

Реакція з йодом у присутності калій йодиду.

Тіосульфат є сильним відновником, який відновлює вільний йод до йодид йонів.



Знебарвлення розчину йоду є підтвердженням присутності тіосульфату. Це явище широко використовується не тільки для ідентифікації, а й для кількісного визначення. Реакція чутлива і специфічна [19].

Перевірка домішок сульфідів

Додатково проводять пробу з розчином нітропрусида натрію, що дозволяє виявити можливу домішку сульфідів. За наявності останніх

з'являється фіолетове забарвлення, тоді як чистий тіосульфат не дає кольорової реакції.

Отже, аналітичні реакції, передбачені ДФУ, базуються на властивості тіосульфату як середньої солі тіосульфурової кислоти, нестійкої у кислому середовищі. Її розклад із виділенням сірки та діоксиду сірки є якісною ознакою для цієї групи сполук. Реакція з йодом, навпаки, відображає редокс-поведінку тіосульфату - його здатність переходити у тетратіонат-іон ($S_4O_6^{2-}$) при окисненні.

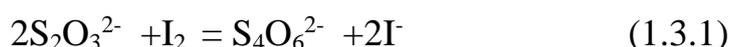
Використання йодометричного підходу в ідентифікаційних пробах обґрунтоване високою селективністю цієї реакції, яка не спостерігається для інших сірковмісних аніонів (наприклад, сульфатів чи сульфідів).

Таким чином, наведені реакції забезпечують комплексну ідентифікацію тіосульфату натрію відповідно до фармакопейних вимог, підтверджуючи іонний склад та хімічну індивідуальність речовини.

1.3.2. Методи кількісного визначення тіосульфатів

Титриметричні методи.

Класично вміст натрій тіосульфату у лікарських формах визначають йодометричним титруванням. В основі методу лежить реакція:



Цю реакцію рекомендовано у ДФУ із використанням розчину крохмаль як індикатора [1, 4, 6]. Фармакопеї інших провідних країн світу також рекомендують дану реакцію для визначення тіосульфату.

На сьогодні у альтернативних методах пропонують використовувати автоматичні титратори з визначенням кінцевої точки титрування методом потенціометрії, що підвищує точність визначення [4, 6].

Спектрофотометричні методи.

Спектрофотометрія оснований на вимірі оптичної густини розчинів сполук, що мають забарвлення. Ці методи дозволяють визначати

мікроконцентрації тіосульфату, що особливо важливо для лікарських засобів і біологічних рідин [15, 18, 19].

Фотометричні методи визначення тіосульфат-іонів ($S_2O_3^{2-}$) ґрунтуються на здатності тіосульфату вступати в окисно-відновні, комплексоутворювальні або інгібіторні реакції з утворенням забарвлених продуктів або зміною інтенсивності світлопоглинання аналітичної системи. Завдяки високій чутливості, відносній простоті апаратного оформлення та можливості аналізу розбавлених розчинів ці методи широко застосовуються в аналітичній хімії, екологічному моніторингу та біохімічних дослідженнях.

Одним із класичних підходів є спектрофотометричне визначення тіосульфату шляхом утворення комплексних сполук з неорганічними реагентами. Зокрема, застосування натрій нітропрусиду як комплексоутворювального реагенту дозволяє визначати тіосульфат у присутності споріднених сірковмісних іонів, таких як тіоціанат і тіосечовина. Метод базується на утворенні стабільного забарвленого комплексу, інтенсивність якого пропорційна концентрації аналіту та вимірюється у видимій області спектра [18]. Перевагою методу є задовільна селективність і можливість одночасного аналізу кількох сполук.

Широкого застосування набули методи, що ґрунтуються на взаємодії тіосульфату з йодом. У класичному варіанті тіосульфат відновлює йод до йодид-іонів, а надлишок або продукти реакції визначають фотометрично. Так, у біологічних рідинах тіосульфат може бути визначений через утворення комплексу йод–амілоза, що характеризується інтенсивним поглинанням у видимій області спектра [19]. Даний підхід відзначається достатньою чутливістю, однак потребує ретельного контролю матричних ефектів.

Модифіковані йодометричні методи передбачають використання органічної фази. Зокрема, реакція окиснення тіосульфату йодом у присутності формальдегіду та концентрованої сульфатної кислоти з подальшою екстракцією надлишку йоду у вигляді трийодид-іонів дозволяє здійснювати визначення в ультрафіолетовій області при 350 нм [22]. Метод

характеризується низькими межами виявлення та успішно застосовується для аналізу природних вод.

Для визначення слідових кількостей тіосульфату у природних і стічних водах розроблено методи з екстракцією та попереднім концентруванням аналіту. Застосування хелатних реагентів та органічних розчинників у поєднанні зі спектрофотометричним детектуванням дозволяє суттєво знизити межі виявлення та підвищити селективність аналізу [21]. Такі методи особливо ефективні в умовах складного іонного складу зразків.

Сучасним напрямом розвитку фотометричних методів є застосування похідної спектрофотометрії. Пряме та друге похідне спектральне визначення тіосульфату базується на аналізі спектрів поглинання за різних значень рН, що дає змогу розділяти внески сульфідів, сульфітів і тіосульфатів без попереднього розділення [21, 22]. Метод відзначається високою лінійністю, низькою відносною стандартною похибкою та придатністю для швидкого аналізу водних систем.

Перспективним підходом є використання срібних наночастинок як сенсорного елемента для фотометричного та колориметричного визначення тіосульфату. Взаємодія $S_2O_3^{2-}$ з AgNPs призводить до зміни оптичних властивостей наночастинок, що фіксується за допомогою УФ-вид спектроскопії або навіть візуально. Запропоновані методи демонструють високу чутливість і можуть бути реалізовані з використанням смартфонів для експрес-аналізу *in situ* [23].

Окрему групу становлять інгібіторні методи, в яких тіосульфат гальмує перебіг реакцій окисного знебарвлення барвників. Наприклад, інгібування реакції окиснення кристалічного фіолетового пероксидом водню дозволяє визначати мікрокількості тіосульфату в слабкокислому середовищі. Інтенсивність залишкового забарвлення пропорційна концентрації аналіту, що забезпечує задовільну чутливість і відтворюваність методу [8,24].

1.4 Обмеження та проблеми існуючих методів визначення тіосульфатів

Попри бурхливий розвиток аналітичних технологій, методи визначення натрій тіосульфату у лікарських засобах мають низку обмежень.

Проблеми титриметрії базуються на нестабільності стандартних розчинів йоду та тіосульфату, які швидко втрачають точний титр, що ускладнює їх зберігання [1, 4, 6]. Температура, освітлення, кислотність середовища розчину істотно впливають на точність титриметричних вимірів. Використання візуального визначення точки кінця титрування також спричиняє похибки.

Обмеження спектрофотометрії пов'язані з інтерференцією з іншими речовинами, які утворюють забарвлені комплексні сполуки. При застосування цього методу необхідно ретельно проводити виміри градуальної залежності оптичної густини від концентрації забарвленої сполуки [4-6]. Метод чутливий до мутності та забарвлення матриці.

Найбільшою критичною проблемою є нестабільність натрій тіосульфату у водних розчинах. Це знижує точність аналізу.

1.5. Перспективи удосконалення методів визначення тіосульфат-йонів

Подальший розвиток методів визначення тіосульфат-йонів у біологічних об'єктах і лікарських засобах зумовлений необхідністю поєднання високої чутливості аналізу з доступністю та простотою реалізації. Незважаючи на значні досягнення у сфері інструментальних методів, зокрема рідинної хроматографії з мас-спектрометричним детектуванням, такі підходи залишаються малодоступними для рутинного фармацевтичного контролю через високу вартість апаратури та складність пробопідготовки [25-28].

У цьому контексті спектрофотометричні методи зберігають провідне значення як прості, відтворювані та економічно доцільні інструменти аналізу. Перспективним напрямом їх удосконалення є використання органічних

барвників, які вступають у специфічні окисно-відновні або інгібіторні взаємодії з тіосульфат-йонами, що супроводжуються характерними змінами спектрів поглинання.

Метиленовий синій є одним із найбільш придатних реагентів для реалізації таких методик. Його перевагами є висока молярна екстинкція у видимій області спектра, стабільність у водних розчинах, доступність та добра відтворюваність спектральних характеристик. У присутності відновників, зокрема тіосульфат-йонів, метиленовий синій може зазнавати відновлення або опосередковано брати участь в інгібіторних окисно-відновних реакціях, що відкриває можливість кількісного спектрофотометричного аналізу.

На відміну від класичних йодометричних методів, спектрофотометричні методики з метиленовим синім не потребують використання нестабільних титрантів, складного контролю температури та багатостадійної стандартизації. Це є особливо важливим для аналізу рідких лікарських форм, де необхідна оперативність і мінімізація похибок, пов'язаних з умовами експерименту. Аналогічні підходи з використанням органічних барвників уже продемонстрували ефективність для визначення тіосульфат-йонів і споріднених відновних сполук у водних та модельних системах [22].

Подальше вдосконалення спектрофотометричної методики з метиленовим синім може здійснюватися у кількох напрямках. По-перше, оптимізація умов реакції (рН середовища, концентрація барвника, час взаємодії) дозволяє підвищити селективність визначення тіосульфату відносно сульфатів і сульфідів. По-друге, застосування похідної спектрофотометрії або математичної обробки спектрів відкриває можливість усунення спектральних перекривань і зменшення впливу матричних ефектів, що є актуальним для біологічних та фармацевтичних проб [29].

Важливою перспективою є адаптація спектрофотометричної методики з метиленовим синім для аналізу лікарських засобів ін'єкційного та інфузійного застосування, що містять натрій тіосульфат як активний фармацевтичний інгредієнт. У порівнянні з високочутливими, але складними методами ВЕРХ–

МС/МС, такі методики можуть бути впроваджені у практику фармацевтичних лабораторій контролю якості як альтернативний або скринінговий метод [26-28].

Таким чином, використання спектрофотометрії з метиленовим синім є перспективним напрямом удосконалення методів визначення тіосульфат-йонів. Запропонований підхід поєднує достатню чутливість, простоту реалізації та відповідність вимогам рутинного фармацевтичного аналізу, що обґрунтовує доцільність його подальшого розвитку і практичного застосування.

РОЗДІЛ 2. ОБ'ЄКТИ ДОСЛІДЖЕННЯ, МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

2.1 Об'єкти дослідження

Об'єкти дослідження обрано з урахуванням практичної значущості, фармакотерапевтичної актуальності та аналітичної доцільності розробки спектрофотометричної методики визначення тіосульфат-йонів у рідких лікарських формах.

Натрій тіосульфат

Як основний об'єкт дослідження обрано зразок лікарського засобу “Натрію тіосульфат” у формі розчину для ін'єкцій, що широко застосовується у медичній практиці як антидот. Згідно з інструкцією, 1 мл розчину містить 300 мг натрію тіосульфату; до складу препарату входять допоміжні речовини: натрію гідрокарбонат, динатрію едетат та вода для ін'єкцій. Лікарський засіб являє собою прозору безбарвну або злегка забарвлену рідину.

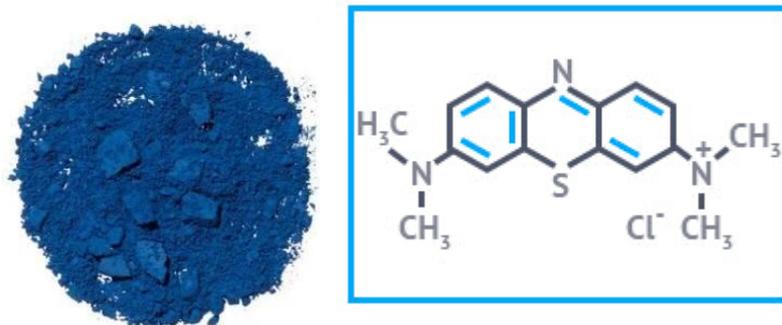


Вибір саме цієї лікарської форми зумовлений тим, що рідкі ін'єкційні препарати потребують особливо точного кількісного контролю діючої речовини, а присутність допоміжних компонентів може впливати на результати аналітичного визначення. Це створює доцільну модельну систему для оцінки селективності та аналітичної придатності розроблюваного спектрофотометричного методу.

Метиленовий синій

Як аналітичний реагент у роботі використано метиленовий синій (метилтіонінію хлорид) з хімічною формулою $C_{16}H_{18}ClN_3S$ і молярною масою 319,85 г/моль. Метиленовий синій є водорозчинним фенотіазиним

барвником, що характеризується інтенсивним максимумом поглинання у видимій області спектра (665нм).



Вибір метиленового синього обґрунтований його редокс-активними властивостями. У кислому середовищі метиленовий синій здатний відновлюватися до лейкометиленового синього, тоді як тіосульфат-йони проявляють відновні властивості. Внаслідок окисно-відновної взаємодії між тіосульфат-йонами та метиленовим синім відбувається зменшення інтенсивності синього забарвлення розчину.

Аналітичне обґрунтування вибору системи

Аналітичний сигнал у запропонованій методиці формується за рахунок зміни оптичної густини метиленового синього, яка є пропорційною концентрації тіосульфат-йонів у розчині. Це дозволяє використовувати спектрофотометричний метод як простий, чутливий та відтворюваний інструмент кількісного аналізу.

Таким чином, система «натрію тіосульфат — метиленовий синій» є обґрунтованим та доцільним вибором для розробки спектрофотометричної методики визначення тіосульфат-йонів у рідких лікарських формах.

2.2. Реагенти, хімічний посуд і обладнання

У дослідженні застосовували реактиви кваліфікації «ч.д.а.» або «х.ч.», а також дистильовану воду, що відповідає вимогам аналітичної чистоти.

Основні реагенти

Натрій тіосульфат пентагідрат ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$);

Калій дихромат ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$);

Калій йодид (KI);

Кислота сульфатна (H₂SO₄);
Кислота хлоридна (HCl);
Метиленовий синій (C₁₆H₁₈ClN₃S);
Крохмаль розчинний.
Дистильована (деіонізована) вода.

Усі реактиви використовували без додаткового очищення. Розчини готували безпосередньо перед використанням або зберігали в темному місці за температури (20 ± 2) °C відповідно до вимог аналітичної практики. Стандартизацію розчину натрію тіосульфату проводили безпосередньо перед серією вимірювань.

Скляний посуд

Для проведення стандартизації розчину натрію тіосульфату та виконання титриметричних визначень використовували наступний скляний лабораторний посуд:

Бюретка скляна градуйована місткістю 25 мл (клас точності А)
Мірні піпетки місткістю 5,00; 10,00 мл (клас А) ;
Конічні колби (Ерленмейера) місткістю 100–250 мл –;
Мірні колби місткістю 100, 250, 500 та 1000 мл;
Скляні палички;
Воронки скляні;
Годинникове скло.

Для спектрофотометричного визначення тіосульфат-йонів у взаємодії з метиленовим синім застосовували такий лабораторний посуд:

Кювети скляні або кварцові з оптичною довжиною шару 1,0 см;
Мірні колби місткістю 25, 50, 100 та 250 мл;
Мірні піпетки 1,00; 2,00; 5,00; 10,00 мл;
Хімічні стакани місткістю 50–250 мл;
Скляні палички;
Воронки скляні.

Усі об'ємні вимірювання виконували з використанням мірного скляного посуду класу точності А. Перед початком експерименту скляний посуд промивали дистильованою водою та відповідними розчинами реагентів для запобігання систематичним похибкам аналізу.

Прилади, використані у дослідженні

Для проведення експериментальних досліджень застосовували такі аналітичні прилади та допоміжне лабораторне обладнання:

Аналітичні ваги;

рН-метр лабораторний;

Титраційна установка (штатив, тримач бюретки);

Термометр лабораторний.

Спектрофотометр КФКЗ

Сушильна шафа;

Дистилятор або система очищення води;

Лабораторний таймер.

Усі вимірювання проводили з використанням атестованих лабораторних приладів, відкаліброваних відповідно до чинних метрологічних вимог. Спектрофотометричні визначення виконували за температури (20 ± 2) °С, що забезпечувало відтворюваність та достовірність отриманих результатів.

2.3 Методики приготування стандартних і робочих розчинів

Приготування стандартного розчину натрію тіосульфату 0,01 моль/л

Стандартний розчин натрію тіосульфату концентрації 0,01 моль/л готували з кристалічного натрію тіосульфату пентагідрату ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), який не є первинним стандартом, тому надалі підлягав обов'язковій стандартизації.

Молярна маса $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ становить 248,18 г/моль. Для приготування 0,5 л розчину концентрації 0,01 моль/л розрахункову масу речовини визначали за формулою:

$$m = C \cdot M \cdot V = 0,01 \text{ моль/л} \cdot 248,18 \text{ г/моль} \cdot 0,5 \text{ л} = 1,24 \text{ г}$$

Точно зважену наважку 1,24 г $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ розчиняли у невеликій кількості свіжопрокип'яченої та охолодженої дистильованої води, кількісно переносили у мірну колбу об'ємом 500 мл та доводили об'єм до мітки дистильованою водою. Розчин ретельно перемішували та витримували не менше 24 годин перед стандартизацією. Зберігали у темному скляному посуді. Розчини меншої концентрації готували розведенням вихідного.

Стандартизація розчину натрію тіосульфату

Концентрацію приготованого розчину тіосульфату натрію визначали методом йодометричного титрування з використанням первинного стандарту калій дихромату з молярною концентрацією еквівалента 0,01 моль/л.

До точно відміряної аликвоти стандартного розчину калій дихромату 10 мл додавали надлишок калій йодиду (5мл) та розчин сульфатної кислоти 1 моль/л (10 мл), унаслідок чого виділявся еквівалентний йод. Отриманий йод титрували досліджуваним розчином натрію тіосульфату до світло-жовтого забарвлення, після чого додавали крохмальний індикатор і продовжували титрування до повного зникнення синього кольору.

Стандартизацію проводили у трьох паралельних визначеннях; за результат приймали середнє значення молярної концентрації.

Приготування розчину хлоридної кислоти 1 моль/л

Робочий розчин хлоридної кислоти концентрації 1 моль/л готували шляхом розведення концентрованої HCl ($\approx 37\%$, $\rho \approx 1,19$ г/мл).

Для приготування 1 л 1 М HCl відмірювали приблизно 83 мл концентрованої кислоти, обережно додавали її до води при постійному перемішуванні, після чого доводили об'єм до мітки дистильованою водою.

Приготування розчину сульфатної кислоти 1 моль/л

Робочий розчин сульфатної кислоти концентрації 1 моль/л готували шляхом відповідного розведення концентрованої H_2SO_4 ($\approx 98\%$, $\rho \approx 1,84$ г/мл).

Для приготування 1 л 1 М H_2SO_4 відмірювали приблизно 54 мл концентрованої кислоти, яку повільно додавали до води з постійним

перемішуванням, охолоджували та доводили об'єм розчину до мітки дистильованою водою.

Приготування розчину метиленового синього

Для приготування розчину 1 г/л наважку метиленового синього переносили у мірну колбу на 500 мл, доводили до позначки дистильованою водою та перемішували. Молярна концентрація такого розчину складала 3,13 ммоль/л. Розчин зберігали у темному посуді, захищеному від світла. Розчини меншої концентрації готували шляхом розведення перед використанням.

Стандартний розчин калій дихромату з молярною концентрацією еквівалента 0,01 моль/л готували розведенням розчину з молярною концентрацією еквівалента 0,1 моль/л, приготовленого з фіксаналу.

2.4 Методики дослідження оптимальних умов спектрофотометричного визначення тіосульфат-йонів

Методика дослідження впливу концентрації метилового синього

Готували серію розчинів з різними концентраціями метилового синього - у мірні колби на 25 мл вносили 0; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 мл розчину 1 г/л метиленового синього, додавали 4,0 мл 1 моль/л розчину хлоридної кислоти, 4 мл стандартного розчину тіосульфат-йонів (0,16 ммоль/л), доводили до позначки водою дистильованою, перемішували. Після завершення реакції оптичну густину вимірювали при аналітичній довжині хвилі 665 нм, що відповідає максимуму різниці поглинання нульового розчину і поглинання продукту взаємодії.

За отриманими даними будували залежність оптичної густини від концентрації метилового синього.

Методика дослідження впливу реакційного середовища (рН)

Вплив кислотності середовища на перебіг реакції між тіосульфат-йонами та метиловим синім вивчали у діапазоні значень рН 1-5. Для цього використовували різні об'єми розчину хлоридної кислоти 1 моль/л.

До серії мірних колб на 25 мл додавали 1 мл розчину метилового синього 0,2 г/л та 0; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 мл розчину хлоридної кислоти 1 моль/л і додавали 4 мл стандартного розчину натрій тіосульфату 0,001 моль/л. Дистильованою водою доводили до мітки, переміщували, через 20 хв реєстрували оптичну густина при фіксованій довжині хвилі 665 нм. Отримані результати порівнювали між собою, оцінюючи інтенсивність забарвлення, стабільність сигналу та відтворюваність вимірювань.

Методика дослідження впливу часу перебігу реакції

Для встановлення оптимального часу перебігу реакції між тіосульфат-йонами та метиловим синім проводили кінетичні дослідження. Розчини готували за оптимальних умов концентрації реагентів і рН: 1 мл розчину метилового синього 0,2 ммоль/л, 2 мл 1 моль/л хлоридної кислоти, 4 мл стандартного розчину натрій тіосульфату 0,001 моль/л. Після чого оптичну густина вимірювали через визначені проміжки часу від моменту змішування компонентів.

Реєстрацію спектрів або значень оптичної густини здійснювали послідовно, що дозволяло простежити зміну інтенсивності забарвлення у часі. На основі отриманих даних будували залежність оптичної густини від часу.

Методика дослідження стабільності утвореного забарвлення

Стабільність забарвлення продукту взаємодії тіосульфат-йонів з метиловим синім оцінювали шляхом багаторазових вимірювань оптичної густини одного й того самого аналітичного розчину протягом визначеного часу зберігання.

Аналітичні проби готували за оптимальних умов концентрації реагентів, рН і часу перебігу реакції, після чого вимірювали оптичну густина одразу після завершення реакції та через рівні проміжки часу. Оцінювали зміну аналітичного сигналу у відсотках від початкового значення.

2.5 Методика побудови градуювального графіка

Для побудови градувальної кривої готовили серію стандартних розчинів з вмістом натрій тіосульфату 0; 0,02; 0,04; 0,08; 0,16; 0,24; 0,32 ммоль/л. Для цього у мірні колби на 25 мл поміщали 4,0 мл хлоридної кислоти 1 моль/л і 1 мл розчину метиленового синього 0,2 г/л та додавали відповідно 0; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 мл вихідного стандарту натрій тіосульфату 1 ммоль/л, доводили водою до позначки, ретельно перемішували. Через 20 хв вимірювали оптичну густина розчинів при 665 нм, товщина кювети 1 см.

Результати представляли у вигляді градувальної кривої у координатах ΔA від концентрації натрій тіосульфату. Зменшення інтенсивності забарвлення розчину порівняння ΔA по відношенню до кожного розчину, що містив тіосульфат, розраховували за формулою $\Delta A = A_0 - A_i$.

2.6 Методика спектрофотометричного визначення тіосульфат-йонів

Підготовка досліджуваного розчину

За допомогою мірної піпетки відбирали 1,00 мл досліджуваного зразка, що відповідає 300 мг тіосульфату, та переносили у мірну колбу місткістю 500 мл. Об'єм доводили дистильованою водою до мітки та ретельно перемішували (розчин А). Отримана концентрація тіосульфат-йонів у розчині А становила приблизно 0,19 ммоль/л, що відповідає лінійному діапазону градувальної кривої.

Проведення аналізу. До мірної колби місткістю 25 мл послідовно вносили: 1,0 мл розчину метиленового синього концентрацією 0,20 г/л; 2 мл 1,0 моль/л розчину хлоридної кислоти, 1 мл розчину А. Об'єм доводили дистильованою водою до мітки та ретельно перемішували. Реакційну суміш витримували впродовж 20 хв за кімнатної температури для повного розвитку знебарвлення.

Оптичну густина отриманого розчину вимірювали на КФК-3 спектрофотометрі при аналітичній довжині хвилі 665 нм, що відповідає максимуму поглинання реакційної системи, у кюветі з оптичною довжиною шару 1 см. Як холостий розчин використовували суміш реагентів без додавання тіосульфат-йонів.

Кількісне визначення. Концентрацію тіосульфат-йонів у досліджуваному розчині визначали за градуовальною кривою, побудованою в діапазоні концентрацій 0–0,3 ммоль/л (розділ 2.5.). Отримане значення перераховували на вихідний зразок з урахуванням загального коефіцієнта розведення.

Результат виражали у мг тіосульфату в 1 мл зразку як середнє значення не менше ніж трьох паралельних визначень.

2.7. Статистична обробка результатів експерименту

Обробку експериментальних даних здійснювали з використанням методів варіаційної статистики [10]. Результати подано у вигляді середнього арифметичного значення та відносного стандартного відхилення (RSD, %). Для оцінки достовірності відмінностей між серіями результатів застосовували t-критерій Стьюдента при рівні значущості $\alpha = 0,05$.

Аналітичну придатність розробленої методики оцінювали відповідно до рекомендацій фармакопейних вимог [1,9]. Вивчали такі валідаційні характеристики, як:

- ✓ лінійність,
- ✓ точність,
- ✓ прецизійність (повторюваність),
- ✓ межа виявлення та межа кількісного визначення,
- ✓ специфічність щодо компонентів лікарських форм.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

3.1 Оптимізація умов спектрофотометричного визначення тіосульфат-йонів

Для оптимізації умов аналізу вивчали вплив таких параметрів, як концентрація метилового синього, реакційне середовище (рН), час перебігу реакції та стабільність утвореного забарвлення.

3.1.1. Вплив концентрації метилового синього

Кількість метилового синього є одним з ключових факторів, що впливають на величину аналітичного сигналу. За недостатньої концентрації барвника спостерігається низька оптична густина та мала різниця поглинання, тоді як надлишок МС призводить до зменшення ΔA внаслідок лімітування реакції тіосульфат-йонами. З метою встановлення оптимальної концентрації МС, що забезпечує максимальну чутливість та лінійність спектрофотометричного визначення тіосульфат-йонів, проводили серію експериментів при сталих концентраціях тіосульфат-йонів та варійованому вмісті барвника.

Експериментально встановлено, що за використання метилового синього з концентрацією 0,2-0,25 г/л у кількості 1,0 мл досягається максимальне значення ΔA , що відповідає оптимальному співвідношенню реагентів і забезпечує найвищу чутливість методу (рис. 3.1).

Оптимальною вважали таку концентрацію барвника, за якої досягався максимальний аналітичний сигнал при збереженні стабільності забарвлення та відсутності надлишкового фону поглинання, зумовленого власною абсорбцією метилового синього. Тому зазначену концентрацію метилового синього обрано як оптимальну для подальших досліджень

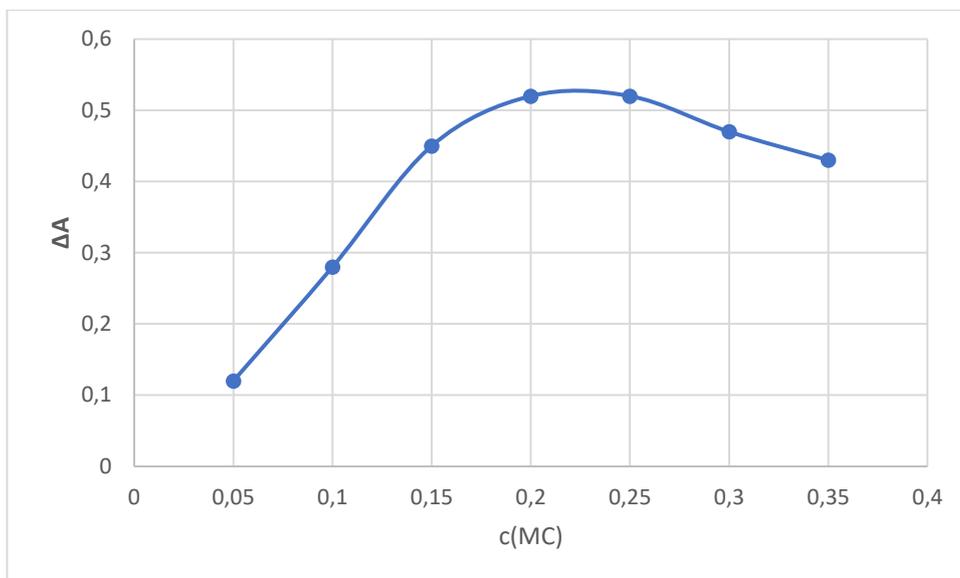


Рис.3.1. Вплив концентрації МС на ΔA : $c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 0,16$ ммоль/л, $V(\text{МС})=1$ мл.

3.1.2. Вплив кислотності середовища

Реакція тіосульфат-йонів з метиленовим синім має окисно-відновний характер і супроводжується зменшенням інтенсивності забарвлення барвника внаслідок його відновлення. Додавання кислоти є необхідним для створення оптимального кислого середовища та забезпечення відтворюваності аналітичного сигналу. Як кислотний компонент реакційного середовища застосовували хлоридну кислоту, яка забезпечує стабільне кисле середовище та не чинить впливу на спектральні характеристики метиленового синього. Оптимальне значення рН визначали як таке, за якого спостерігалось максимальне та стабільне поглинання, мінімальний вплив фонових процесів і найменша дисперсія результатів, що свідчило про сприятливі умови перебігу аналітичної реакції.

Результати дослідження впливу концентрації хлоридної кислоти на величину аналітичного сигналу представлено на Рис. 3.2.

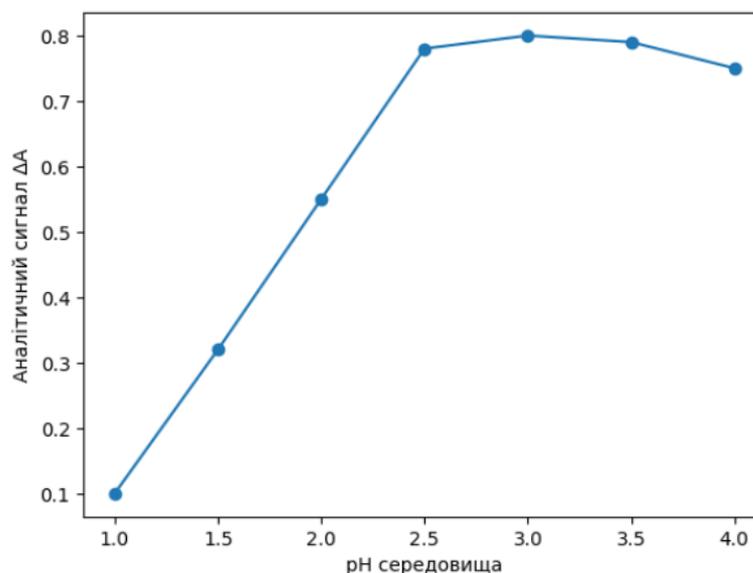


Рис. 3.2. Залежність аналітичного сигналу ΔA від рН середовища: $c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 0,16$ ммоль/л, $\lambda = 665$ нм, $t = 20$ хв.

Як бачимо, величина аналітичного сигналу ΔA істотно залежить від кислотності середовища. За низьких значень рН (1,0–1,5) спостерігається незначне зменшення оптичної густини, що зумовлено недостатньою швидкістю відновлення метиленового синього тіосульфат-йонами. Зі зростанням рН до 2,5–3,0 величина ΔA різко зростає і досягає максимального значення, що свідчить про оптимальні умови перебігу окисно-відновної реакції. Подальше підвищення рН призводить до незначного зниження аналітичного сигналу, ймовірно внаслідок зменшення стабільності реакційної системи. Таким чином, оптимальним діапазоном рН для спектрофотометричного визначення тіосульфат-йонів є рН 2,5–3,0.

3.1.3 Кінетика реакції та стабільність аналітичного сигналу

Оптимальний час реакції визначали як момент досягнення плато на кінетичній кривій, після якого подальше збільшення часу не призводило до істотних змін аналітичного сигналу. Такий підхід забезпечував відтворюваність результатів і мінімізацію похибок, пов'язаних з неповнотою або надмірною тривалістю реакції.

Кінетичні дослідження показали, що інтенсивність забарвлення реакційної системи швидко зменшується в початковий період реакції, що зумовлено відновленням метиленового синього тіосульфат-іонами (рис.3.3.)

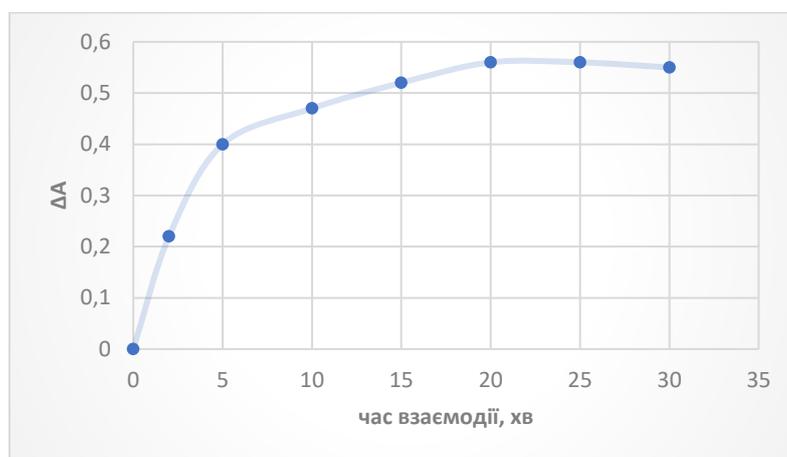


Рис. 3.3. Залежність оптичної густини розчину від часу перебігу реакції між тіосульфат-іонами та метиленовим синім: $c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 0,16$ ммоль/л, $c_0(\text{МС})=0,2$ г/л, $V(\text{МС}) = 1$ мл, $\text{pH}=2,5$; $\lambda = 665$ нм.

Кінетична крива (рис.3.2) має виражений спадний характер. У початковий період реакції (0–10 хв) спостерігається різке більшення ΔA , що зумовлено швидким відновленням метиленового синього тіосульфат-іонами. У проміжку 10–20 хв швидкість зміни оптичної густини поступово зменшується. Починаючи з 20-ї хвилини, крива виходить на плато, що свідчить про практичне завершення реакції та досягнення рівноважного стану. Подальше збільшення часу перебігу реакції не призводить до істотних змін аналітичного сигналу. Таким чином, 20 хв було визначено як оптимальний час перебігу реакції, після якого аналітичний сигнал є стабільним і відтворюваним (табл. 3.1).

Таким чином, забарвлення продукту взаємодії тіосульфат-іонів з метиленовим синім є достатньо стабільним у досліджуваному часовому інтервалі, що дозволяє проводити спектрофотометричні вимірювання без жорсткого обмеження часу аналізу протягом щонайменше 2 годин після приготування аналітичного розчину.

Таблиця 3.1. Зміна оптичної густини аналітичного розчину у часі: $c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 0,16$ ммоль/л, $c_0(\text{МС})=0,2$ г/л, $V(\text{МС}) = 1$ мл, $\text{pH}=2,5$; $\lambda = 665$ нм, $n=3$

Час після завершення реакції, хв	Оптична густина $A (\bar{x} \pm s)$	ΔA	Зміна, % від A_0
0	$0,560 \pm 0,003$	0,000	0,0
15	$0,558 \pm 0,004$	0,002	0,36
30	$0,555 \pm 0,004$	0,005	0,89
45	$0,553 \pm 0,005$	0,007	1,25

3.2. Аналітичні характеристики спектрофотометричного методу

Кількісне визначення тіосульфат-йонів проводили за методом калібрувального графіка, який будували у визначеному концентраційному діапазоні шляхом вимірювання оптичної густини стандартних розчинів. Лінійність калібрувальної залежності оцінювали за коефіцієнтом кореляції. Перед проведенням експерименту стандартизували приготовлений розчин натрій тіосульфату. Результати наведено у табл. 3.2.

Таблиця 3.2. Результати стандартизації розчину натрію тіосульфату ($n = 5$)

№ визначення	Об'єм $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, мл	Об'єм $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, мл	Розрахована концентрація $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, моль/л
1	10,00	10,06	0,00994
2	10,00	9,96	0,01004
3	10,00	10,03	0,00998
4	10,00	9,99	0,01001
5	10,00	10,03	0,00998

На основі статистичної обробки результатів отримали, що середнє значення: $C = 0,00998$ моль/л, середньоквадратичне відхилення: $s = 3,8 \times 10^{-5}$ моль/л, відносне стандартне відхилення: $RSD = 0,38\%$ Таким чином, молярна концентрація розчину натрію тіосульфату становить $(0,00998 \pm 0,00004)$ моль/л. Значення відносного стандартного відхилення не перевищує $0,4\%$, що свідчить про високу відтворюваність і придатність розчину для подальших аналітичних визначень.

3.2.1. Лінійність, межа виявлення та межа кількісного визначення

Результати залежності ΔA від концентрації тіосульфату у розчині за визначених оптимальних умов наведено у табл. 3.3.

Таблиця 3.3. Результати спектрофотометричного визначення тіосульфат-йонів для побудови градувальної кривої ($n = 3$)

Концентрація $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, ммоль/л	Об'єм стандарту 1 ммоль/л, мл	Оптична густина A_{665} ($\bar{x} \pm s$)
0,00	0,0	$0,005 \pm 0,002$
0,02	0,5	$0,041 \pm 0,003$
0,04	1,0	$0,081 \pm 0,003$
0,08	2,0	$0,157 \pm 0,004$
0,16	4,0	$0,301 \pm 0,005$
0,24	6,0	$0,432 \pm 0,006$
0,32	8,0	$0,560 \pm 0,007$

Примітка: значення при 0 ммоль/л відповідає холостому досліді та враховується при побудові калібрувальної прямої.

На основі отриманих даних побудовано градувальну криву залежності оптичної густини від концентрації тіосульфат-йонів (рис.3.4), яка описується рівнянням: $\Delta A = 1,73 C + 0,004$, де ΔA – різниця оптичної густини нульового розчину і оптичної густини досліджуваного розчину при 665 нм, C -

концентрація тіосульфат-йонів, ммоль/л. Коефіцієнт кореляції:
 $R = 0,9964$.

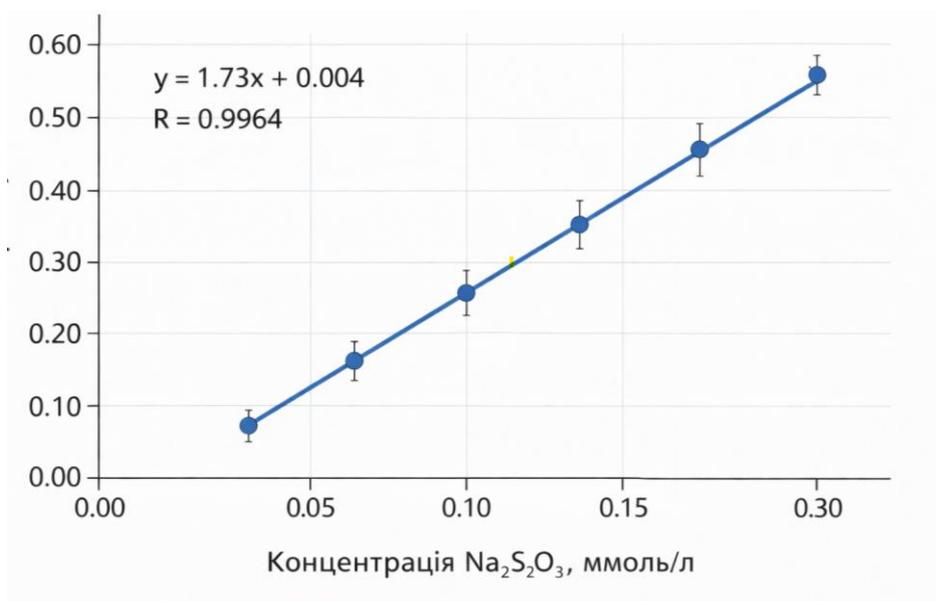


Рис.3.4. Залежність зміни оптичної густини від концентрації натрій тіосульфату.

Отримана градувальна залежність має лінійний характер у діапазоні концентрацій 0–0,32 ммоль/л тіосульфат-йонів. Високе значення коефіцієнта кореляції ($R = 0,9964$) свідчить про добру лінійність методу та відсутність систематичних відхилень у досліджуваному концентраційному інтервалі. Максимальне значення аналітичного сигналу ($\Delta A = 0,56$) спостерігалось для концентрації 0,32 ммоль/л, що узгоджується з результатами оптимізації умов аналізу.

Низькі значення стандартного відхилення підтверджують добру відтворюваність спектрофотометричних вимірювань та придатність методу для кількісного визначення тіосульфат-йонів у лікарських формах.

Межу виявлення (LOD) та межу кількісного визначення (LOQ) визначали відповідно до вимог Державної фармакопеї України з використанням стандартного відхилення холостого дослідження та нахилу калібрувальної прямої. Стандартне відхилення σ визначали за результатами

багаторазових вимірювань оптичної густини холостого розчину. Розрахунок проводили за формулами $LOD = 3,3\sigma/S$ та $LOQ = 10\sigma/S$.

З градуювальної залежності маємо рівняння калібрувальної прямої $A = 1,73 C + 0,004$. Нахил калібрувальної прямої (S), що характеризує чутливість методу, розраховували як відношення зміни оптичної густини до зміни концентрації тіосульфат-йонів у лінійному діапазоні. За експериментальними даними значення нахилу становило $1,73 A \cdot л/ммоль$.

Стандартне відхилення холостого дослідження (σ) визначали за результатами багаторазових вимірювань оптичної густини розчину, що не містив тіосульфат-йонів. Значення σ розраховано на основі даних, наведених у таблиці поб удови градуювальної кривої, та воно становило $0,002$.

Отримані значення LOD та LOQ становили відповідно $0,0038$ та $0,0116$ ммоль/л, що свідчить про достатню чутливість спектрофотометричного методу та можливість визначення тіосульфат-йонів у низьких концентраціях.

3.2.2. Прецизійність і відтворюваність методу

Прецизійність спектрофотометричного методу визначення тіосульфат-йонів оцінювали за результатами багаторазових вимірювань оптичної густини стандартних і модельних розчинів у межах лінійного діапазону градуювальної кривої. Для цього аналіз проводили у кількох паралельних визначеннях за однакових експериментальних умов, після чого здійснювали статистичну обробку отриманих даних (табл.3.4). Отримані результати свідчать про високу прецизійність та добру відтворюваність спектрофотометричного методу визначення тіосульфат-йонів. Значення RSD у всьому дослідженому діапазоні концентрацій не перевищують граничних значень, установлених вимогами ДФУ. Невеликі коливання аналітичного сигналу в межах серії вимірювань зумовлені переважно інструментальними чинниками та не мають істотного впливу на кінцевий результат аналізу. Найвища відтворюваність спостерігається у верхній частині лінійного діапазону, що є типовим для

методів абсорбційної спектрофотометрії та підтверджує аналітичну надійність розробленої методики.

Таблиця 3.4. Точність та повторюваність спектрофотометричного методу

Концентрація Na ₂ S ₂ O ₃ , ммоль/л	A, n = 6 ($\bar{x} \pm s$)	RSD, %	Критерії прийнятності (ДФУ)
0.02	0.034 ± 0.001	2.9	≤ 5 %
0.04	0.069 ± 0.002	2.4	≤ 5 %
0.08	0.138 ± 0.003	2.2	≤ 5 %
0.16	0.277 ± 0.004	1.4	≤ 3 %
0.32	0.560 ± 0.006	1.1	≤ 2 %

Таким чином, отримані експериментальні дані підтверджують, що розроблений спектрофотометричний метод характеризується достатньою прецизійністю та відтворюваністю і відповідає вимогам Державної фармакопеї України до кількісних аналітичних методів.

3.3. Результати визначення тіосульфат-йонів у зразку

Отримані результати дослідження дозволили запропонувати спектрофотометричну методику визначення вмісту тіосульфат-йонів у зразку.

Принцип методу. Визначення вмісту тіосульфат-йонів ґрунтується на спектрофотометричному методі у видимій області спектра, що базується на реакції взаємодії тіосульфат-йонів з метиленовим синім у кислому середовищі, унаслідок чого відбувається зменшення інтенсивності забарвлення барвника. Зміна оптичної густини розчину пропорційна концентрації тіосульфат-йонів у заданому діапазоні. Кількісну оцінку проводили методом зовнішнього калібрування.

Номінальний вміст тіосульфату в досліджуваному зразку становив 300 мг/мл, що значно перевищує верхню межу лінійності калібрувальної

залежності (0,3 ммоль/л), у зв'язку з чим аналіз проводили після розведення проби. Застосування розведення забезпечує приведення концентрації тіосульфат-йонів до лінійного діапазону калібрувальної залежності та дозволяє мінімізувати матричний вплив компонентів зразку, що підвищує точність і відтворюваність спектрофотометричного визначення. Результати визначення представлено у табл. 3.5. Розрахунок вмісту натрію тіосульфату здійснювали за градуовальною залежністю $A = 1,73C + 0,004$, де (C) — концентрація тіосульфат-йонів, ммоль/л та перераховували на вміст $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ у зразку об'ємом 1 мл у мг, врахуючи ступінь розведення вихідної кількості АФІ.

Таблиця 3.5. Результати спектрофотометричного визначення тіосульфат-йонів у зразку (n = 5)

№ визначення	ΔA (665 нм)	Розраховано C, ммоль/л	Вміст $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ у зразку, мг/мл
1	0,266	0,151	298
2	0,269	0,153	302
3	0,267	0,152	300
4	0,270	0,154	304
5	0,265	0,150	296

Перерахунок результатів спектрофотометричного визначення у масовий вміст натрію тіосульфату у вихідному зразку показав добру узгодженість експериментальних даних із номінальним значенням 300 мг/мл. Середній вміст натрію тіосульфату у досліджуваному лікарському засобі становить 301 ± 4 мг/мл при довірчій ймовірності 0,95. Отримане значення відповідає номінальному вмісту, заявленому виробником, та задовольняє вимоги ДФУ щодо точності та відтворюваності кількісного визначення. Значення відносного стандартного відхилення не перевищує 2 %, що свідчить про високу прецизійність розробленої методики. Межі виявлення та кількісного

визначення забезпечують можливість аналізу в усьому робочому діапазоні концентрацій. Сукупність отриманих даних підтверджує аналітичну надійність і придатність методики для визначення натрію тіосульфату у зразках (табл.3.6).

Таблиця 3.6. Валідаційні характеристики методики

Параметр	Результат	Критерій	Відповідність
Лінійність	$R = 0,9964$	$\geq 0,995$	✓
Діапазон	0–0,32 ммоль/л	—	✓
Прецизійність	$RSD = 1,05 \%$	$\leq 2 \%$	✓
Правильність	100,0 %	98–102 %	✓
LOD	0,0038 ммоль/л	—	✓
LOQ	0,0116 ммоль/л	—	✓
Стабільність сигналу	$\geq 45\text{хв}$	—	✓

ВИСНОВКИ

1. На підставі аналізу наукових і фармакопейних джерел встановлено, що традиційні титриметричні методи визначення тіосульфат-йонів, зокрема йодометрія, мають низку обмежень, пов'язаних з нестабільністю реагентів і суб'єктивністю фіксації точки кінця титрування. Показано перспективність спектрофотометричного підходу з використанням метиленового синього як доступного та чутливого аналітичного реагенту.
2. Експериментально досліджено умови взаємодії тіосульфат-йонів з метиленовим синім та встановлено оптимальні параметри аналізу: концентрація метиленового синього 0,2–0,25 г/л, кисле середовище з рН 2,5–3,0 та час перебігу реакції 20 хв. Показано, що за цих умов формується стабільний і відтворюваний аналітичний сигнал.
3. Розроблено методику спектрофотометричного визначення тіосульфат-йонів у модельних розчинах і рідких лікарських формах на основі зменшення інтенсивності поглинання метиленового синього при 665 нм. Побудовано лінійну градувальну залежність у діапазоні концентрацій 0–0,32 ммоль/л.
4. Проведена аналітична оцінка показала, що запропонована методика характеризується доброю лінійністю ($R = 0,996$), достатньою чутливістю, високою точністю та прецизійністю.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Державна фармакопея України : у 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-ге вид. – Харків, 2015.
2. Natrii thiosulfas // European Pharmacopoeia. – 10th ed. – Strasbourg : EDQM, 2020.
3. Sweetman S. C. Martindale: The Complete Drug Reference. – 38th ed. – London : Pharmaceutical Press, 2014.
4. Аналітична хімія.: Підручник для ВНЗ. Н.К. Федущак, Ю.І. Бідниченко, С.Ю. Крамаренко, В.О. Калібабчук та ін. – Вінниця: Нова Книга, 2012. – С. 602
5. Фармацевтична хімія :: підручник / ред. П. О. Безуглий. — Вінниця : Нова Книга, 2008. — С. 146,237,254,326,434. — 560 с. — ISBN 978-966-382-113-9.
6. Harvey D. Analytical Chemistry 2.1. – DePauw University, 2016. – Розд. Titrimetric Analysis.
7. Gürkan, R., Altunay, N. & Gürkan, N. Extraction, preconcentration and spectrophotometric determination of trace levels of thiosulfate in environmental waters. *J IRAN CHEM SOC* 14, 1033–1049 (2017). <https://doi.org/10.1007/s13738-017-1053-9>
8. Rao Z. M., Huang S. P., Zhang S. Q. Inhibitory spectrophotometric determination of microamounts of thiosulfate based on the oxidizing discoloration reaction between crystal violet and hydrogen peroxide// *Chinese Journal of Analytical Chemistry*. – 2004. – Vol. 32, No. 8. – P. 1190–1192.
9. 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
10. Пушкарьова Я.М., ЗайцеваГ.М. "Основи хімічної метрології." НМУ.- 2024.-С.115.

11. Thiosulfate // Wikipedia. – URL: <https://en.wikipedia.org/wiki/Thiosulfate>
12. Hall A. H., Dart R. C., Bogdan G. Sodium thiosulfate or hydroxocobalamin for the empiric treatment of cyanide poisoning? // *Annals of Emergency Medicine*. – 2007. – Vol. 49. – P. 806–813. DOI:10.1016/j.annemergmed.2006.09.021
13. Bebarta V.S. et al. Sodium Thiosulfate as an Antidote to Cyanide Poisoning. — *Ann. Emerg. Med.*, 2017, 69(6): 703–711. — DOI: 10.1016/j.annemergmed.2016.09.034
14. Strazzula L, Nigwekar SU, Steele D, et al. Intralesional Sodium Thiosulfate for the Treatment of Calciphylaxis. *JAMA Dermatol*. 2013;149(8):946–949. doi:10.1001/jamadermatol.2013.4565
15. Фармакологія: підручник (ВНЗ I—III р. а.) / І.В. Нековаль, Т.В. Казанюк.- 7-е вид., переробл. і допов. - «Медицина», 2016 - 552 с. [ISBN 978-617-505-507-6](https://doi.org/10.1016/j.annemergmed.2016.09.034)
16. Hou, Y., Lv, B., Du, J. *et al.* Sulfide regulation and catabolism in health and disease. *Sig Transduct Target Ther* **10**, 174 (2025). <https://doi.org/10.1038/s41392-025-02231-w>
17. Buonvino S., Arciero I., Melino S. Thiosulfate-Cyanide Sulfurtransferase: a mitochondrial essential enzyme. — *Int. J. Mol. Sci.*, 2022, 23(15): 8452. — DOI: 10.3390/ijms23158452
18. Abd El-Kader A. K., Ahmed Y. Z., El-Mottalb M. A. Spectrophotometric determination of thiosulfate, thiocyanate and thiourea ions by using sodium nitroprusside as a complexing agent // *Analytical Letters*. – 1984. – Vol. 17, No. 19. – P. 2259–2266. – DOI: 10.1080/00032718408065373.
19. Dixon K. Spectrophotometric determination of sodium thiosulphate in body fluids by use of an iodine–amylose complex // *Clinica Chimica Acta*. – 1962. – Vol. 7. – P. 453–458. – DOI: 10.1016/0009-8981(62)90083-9.
20. Koh T., Wakabayashi H., Yonemura Y. Spectrophotometric determination of thiosulfate based on an oxidation reaction in the presence of formaldehyde with iodine in the organic phase // *Bulletin of the Chemical Society of Japan*. – 1994. – Vol. 67, No. 1. – P. 119–124. – DOI: 10.1246/bcsj.67.119.

21. Gürkan R., Altunay N., Gürkan N. Extraction, preconcentration and spectrophotometric determination of trace levels of thiosulfate in environmental waters // *Journal of the Iranian Chemical Society*. – 2017. – Vol. 14. – P. 1033–1049. – DOI: 10.1007/s13738-017-1053-9.
22. Dupraz S., Ménez B., Guyot F. Fast determination of the main reduced sulfur species in aquatic systems by a direct and second-derivative spectrophotometric method // *Journal of Analytical Methods in Chemistry*. – 2019. – Article ID 1039487. – DOI: 10.1155/2019/1039487.
23. Chen D., Wang Z., Zhang Y. et al. High-performance colorimetric detection of thiosulfate by using silver nanoparticles for smartphone-based analysis // *ACS Sensors*. – 2017. – Vol. 2, No. 8. – P. 1133–1140.
24. J. Ghasemi, M. Miladi. Kinetic Spectrophotometric Determination Of Thiosulfate Based On Its Inhibitory Effect On The Oxidation Of Methyl Red By Bromate/ *ACAIJ*. – 2006. Vol.3, No.2-3- P.99-102.
25. Li, J., Chen, S., Chen, Y. et al. Method for improving adsorption capacity of gold(I) thiosulfate complex on mercapto-functionalized silica gel by masking copper with ethylenediamine. *Braz. J. Chem. Eng.* **41**, 325–337 (2024). <https://doi.org/10.1007/s43153-023-00326-x>
26. Maseda C, Hayakawa A, Okuda K, Asari M, Tanaka H, Yamada H, Jin S, Horioka K, Matoba K, Shiono H, Matsubara K, Shimizu K. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the determination of thiosulfate in human blood and urine as an indicator of hydrogen sulfide poisoning. *Leg Med (Tokyo)*. 2017 Jan;24:67-74. doi: 10.1016/j.legalmed.2016.12.004. Epub 2016 Dec 18. PMID: 28081792.
27. Jin S., Hyodoh H., Okazaki S. et al. Development for the measurement of serum thiosulfate using LC–MS/MS in forensic diagnosis of hydrogen sulfide poisoning // *Legal Medicine*. – 2016. – Vol. 22. – P. 18–22. – DOI: 10.1016/j.legalmed.2016.07.007.

28. Chwatko G., Bald E. Determination of thiosulfate in human urine by high-performance liquid chromatography // *Talanta*. – 2009. – Vol. 79, No. 2. – P. 229–234. – DOI: 10.1016/j.talanta.2009.03.040.
29. Dupraz S., Ménez B., Guyot F. Fast determination of the main reduced sulfur species in aquatic systems by a direct and second-derivative spectrophotometric method // *Journal of Analytical Methods in Chemistry*. – 2019. – Article ID 1039487. – DOI: 10.1155/2019/1039487.

ДОДАТКИ

Додаток 1

Сертифікат учасника

СЕРТИФІКАТ №186/2026

Цим засвідчується, що

Муравинець Т. В.

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

Тривалістю 6 годин (0,2 кредита ЄКТС)

23 січня 2026 р.,
м. Київ, Україна

Конференція зареєстрована у ДНУ «Український інститут науково-технічної експертизи та інформації» (Посвідчення УкрНТЕІ № 741 від 28 жовтня 2025 р.)

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



Юрій КУЧИН

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

Уляна КАРПЮК

СЕРТИФІКАТ №045/2026

Цим засвідчується, що

Муравинець Т. В.

з постерною доповіддю

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

23 січня 2026 р.,
м. Київ, Україна

Конференція зареєстрована у ДНУ «Український інститут науково-технічної експертизи та інформації» (Посвідчення УкрНТЕІ № 741 від 28 жовтня 2025 р.)

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



Юрій КУЧИН

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

Уляна КАРПЮК

Тези доповіді Муравинець Т. В., Зайцева Г.М.
СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ТІОСУЛЬФАТ-ЙОНІВ У РІДКИХ ЛІКАРСЬКИХ ФОРМАХ З ВИКОРИСТАННЯМ МЕТИЛЕНОВОГО СИНЬОГО. Матеріали VI Науково-практичної конференції з міжнародною участю «PLANTA+. НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА». 23 СІЧНЯ 2026 р., м. Київ, Україна. с. 241.

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ТІОСУЛЬФАТ-ЙОНІВ У РІДКИХ ЛІКАРСЬКИХ ФОРМАХ З ВИКОРИСТАННЯМ МЕТИЛЕНОВОГО СИНЬОГО

Муравинець Т. В., Зайцева Г. М.

Національний медичний університет імені О. О. Богомольця,
 м. Київ, Україна

tatiana.muravynets@gmail.com, g.zaitseva@nmu.ua

Ключові слова: тіосульфат-іони, спектрофотометрія, метиленовий синій, рідкі лікарські форми.

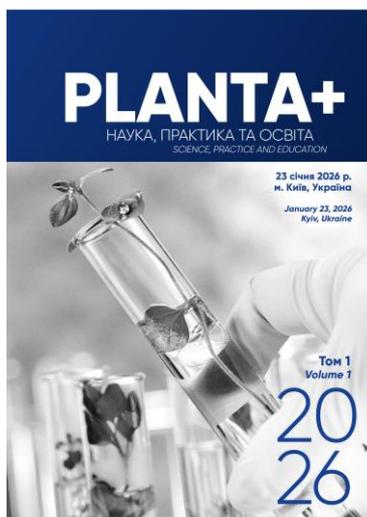
Вступ. Тіосульфат-іони застосовуються у складі ін'єкційних лікарських форм натрію тіосульфату як антидоти та детоксикаційні засоби, що зумовлює необхідність надійного кількісного контролю їх вмісту. Основним фармакопейним методом визначення тіосульфатів є йодометричне титрування, яке має обмеження, пов'язані зі стабільністю титрантів і впливом умов аналізу. Перспективною альтернативою є спектрофотометрія, що відзначається простотою та чутливістю. Метиленовий синій як редокс-активний барвник у кислому середовищі взаємодіє з тіосульфат-іонами зі зменшенням інтенсивності забарвлення, що може бути використано як аналітичний сигнал.

Метою роботи було розробити спектрофотометричну методику визначення тіосульфат-іонів у рідких лікарських формах із використанням метиленового синього.

Матеріали та методи. Дослідження проводили з використанням модельних розчинів тіосульфат-іонів та ін'єкційного розчину натрію тіосульфату. Як реагент застосовували метиленовий синій; реакцію здійснювали у кислому середовищі. Оптимізували концентрацію реагенту, кислотність середовища та час перебігу реакції. Вміст тіосульфат-іонів визначали за методом калібрувального графіка. Результати обробляли статистично з розрахунком відносного стандартного відхилення.

Результати та їх обговорення. Встановлено, що взаємодія тіосульфат-іонів з метиленовим синім у кислому середовищі супроводжується пропорційним зменшенням оптичної густини розчину. Оптимізація умов реакції забезпечувала формування стабільного аналітичного сигналу та його високу відтворюваність у часі. Калібрувальна залежність у дослідженому концентраційному діапазоні мала лінійний характер з високим коефіцієнтом кореляції, що підтверджує можливість кількісного визначення тіосульфат-іонів методом спектрофотометрії. Значення відносного стандартного відхилення не перевищували 2 %, що свідчить про належну прецизійність методики. Отримані результати аналізу рідкої лікарської форми узгоджувалися з номінальним вмістом діючої речовини, що підтверджує правильність методики.

Висновки. Запропоновано просту та чутливу спектрофотометричну методику визначення тіосульфат-іонів у рідких лікарських формах із використанням метиленового синього, придатну для рутинного фармацевтичного контролю якості



SUMMARY

Muravynets Tetiana

SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF THIOSULFATE IONS IN PHARMACEUTICAL DOSAGE FORMS

Department of Analytical, Physical and Colloid Chemistry

Scientific supervisor: Zaitseva Galyna

Keywords: thiosulfate ions, spectrophotometric determination, methylene blue, pharmaceutical analysis, method validation, quality control.

Introduction

Thiosulfate ions are widely used in pharmaceutical practice, particularly in injectable dosage forms, due to their detoxifying and antioxidant properties. Sodium thiosulfate is an important active pharmaceutical ingredient applied as an antidote in cases of poisoning and intoxication. Reliable control of its content in medicinal products is essential to ensure therapeutic efficacy and patient safety. Among various analytical approaches, spectrophotometric methods remain attractive owing to their simplicity, accessibility, and suitability for routine quality control. However, accurate determination of thiosulfate ions in complex pharmaceutical matrices requires careful optimization of reaction conditions and validation of analytical performance.

Materials and Methods

A spectrophotometric method for the determination of thiosulfate ions based on their interaction with methylene blue in acidic medium was developed and applied. The analytical signal was measured as the decrease in absorbance of methylene blue at 665 nm using a UV–Vis spectrophotometer with a 1 cm optical path length.

Sample preparation involved appropriate dilution of the pharmaceutical formulation to obtain analyte concentrations within the linear range of the calibration curve. The reaction conditions, including reagent concentrations, acidity, reaction time, and stability of the analytical signal, were systematically optimized.

Quantitative analysis was performed using an external calibration method. The analytical characteristics of the method were evaluated in accordance with validation requirements, including linearity, precision, accuracy, limit of detection, and limit of quantification.

Results

The calibration curve demonstrated linear behavior in the concentration range of 0–0.32 mmol/L of thiosulfate ions, with a correlation coefficient of $R = 0.9964$. The regression equation $\Delta A = 1.73C + 0.004$ confirmed a proportional relationship between the analytical signal and thiosulfate concentration. The limit of detection and limit of quantification indicated sufficient sensitivity of the method for pharmaceutical analysis. Precision studies showed low relative standard deviation values, confirming good repeatability of measurements. Accuracy was verified by comparing the experimentally determined thiosulfate content with the declared value, with deviations remaining within acceptable limits. Stability studies demonstrated that the analytical signal remained practically unchanged for at least 45 minutes after reaction completion, indicating adequate stability of the colored system under optimized conditions.

Conclusions

A simple, sensitive, and reliable spectrophotometric method for the determination of thiosulfate ions in pharmaceutical dosage forms was developed and validated. Optimization of reaction conditions ensured linearity, precision, and stability of the analytical signal. The obtained results confirm that the proposed method is suitable for routine quality control of sodium thiosulfate preparations and can be applied in pharmaceutical analytical practice.