

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

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

ВИПУСКНА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

**на тему «Методика кількісного визначення піразинамідів методом
спектрофотометрії»**

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

освітня програма «Фармація»

Тарасюк Іванна Василівна

Керівник: кандидатка педагогічних наук, доцентка

Чхало Оксана Миколаївна

Рецензент: кандидатка хімічних наук,

доцентка кафедри хімії ліків та лікарської
токсикології, доцентка

Глушаченко Ольга Олександрівна

Київ – 2026

ЗМІСТ

| | | |
|---|--|----|
| Перелік умовних скорочень | | 4 |
| Вступ. | | 5 |
| РОЗДІЛ 1. Піразинамід, його властивості, методи визначення, фармакологічні властивості. | | 8 |
| 1.1 | Застосування піразинаміду. Фармакологія та фармакокінетика. | 8 |
| 1.2 | Будова, фізико-хімічні властивості та отримання піразинаміду. | 11 |
| 1.3 | Методи ідентифікації піразинаміду. | 13 |
| 1.4 | Огляд методів кількісного визначення піразинаміду. | 13 |
| 1.5. | Метод абсорбційної спектроскопії та його використання в аналізі лікарських засобів. | 14 |
| РОЗДІЛ 2. Експериментальна частина. | | 17 |
| 2.1. | Матеріали і методи | 17 |
| 2.1.1. | Мета дослідження. | 17 |
| 2.1.2. | Об'єкти дослідження | 17 |
| 2.1.3. | Обладнання та посуд. | 18 |
| 2.1.4. | Реактиви. | 18 |
| 2.1.5. | Приготування стандартного розчину | 18 |
| 2.1.6. | Приготування розчинів Зразків 1 та 2. | 19 |
| 2.1.7. | Спектрофотометричне визначення піразинаміду. | 19 |
| РОЗДІЛ 3. Результати та їх обговорення. | | 20 |
| 3.1. | Визначення оптимальної довжини хвилі спектрофотометричних вимірювань за спектром поглинання. | 20 |
| 3.2. | Вибір оптимального значення рН спектрофотометричного дослідження. | 21 |

| | | |
|--------|--|----|
| 3.3. | Вивчення залежності оптичної густини розчину піразинаміду від концентрації його стандартного розчину. Градувальний графік та перевірка лінійності. | 22 |
| 3.4. | Визначення піразинаміду в зразках та часткова валідація методики. | 24 |
| 3.4.1. | Робастність та прецизійність. Специфічність методики. | 26 |
| 3.5. | Порівняння методик кількісного визначення піразинаміду. | 29 |
| | Висновки. | 31 |
| | Список використаних джерел. | 32 |
| | Додатки. | 35 |
| | Summary. | 40 |

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ДФУ – державна фармакопея України

Ph.Eur. – European Pharmacopoeia

НМУ – Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

УФ спектр – ультрафіолетовий спектр поглинання

ISO – міжнародна організація зі стандартизації

ЛЗ – лікарський засіб

ІЧ спектр – інфрачервоний спектр

мкг – мікрограм

мл – мілілітр

г – грам

нм – нанометр

Т. кип. – температура кипіння

Т. пл. – температура плавлення

С⁰ – градуси за Цельсієм

ШКТ – шлунково-кишковий тракт

ДНК - дезоксирибонуклеїнова кислота

ТШХ - тонкошарова хроматографія

ВСТУП

Туберкульоз залишається однією із самих поширених інфекцій у світі. Але, якщо у всьому світі показники захворюваності на цю хворобу знижуються, хоч і поступово, але є країни, де вони продовжують зростати. На жаль Україна знаходиться саме в цьому списку та займає місце однієї з лідируючих по захворюваності на туберкульоз країн. Крім того превалюють саме випадки з множинною лікарською стійкістю, тобто найефективнішими протитуберкульозними препаратами не вдається вилікувати хворих [1].

Через війну в нашій країні захворюваність на туберкульоз зростає, особливо в прифронтових регіонах, де люди не мають доступу до достатньої кількості продуктів та медичної допомоги, перебувають в постійному стресі, часто вимушені знаходитись в укриттях, які мають погану вентиляцію та часто переповнені. При евакуації також люди знаходились в переповнених вокзалах, поїздах та притулках. Велика кількість хворих на туберкульоз перервали своє лікування через недоступність ліків та медичної допомоги, що викликало прогресування хвороби та призвело до відновлення їх заразності (контагіозності). Відповідно показники захворюваності зросли та продовжують зростати.

За даними Центру громадського здоров'я показник хворих на туберкульоз уже перевищує 0,5% населення нашої країни і, виходячи з досвіду світових війн, буде продовжувати збільшуватись впродовж років [1].

Великою проблемою є епідемія хіміорезистентного туберкульозу, коли розвивається стійкість мікобактерій до протитуберкульозних препаратів. За даними Центру громадського здоров'я приблизно 25% хворих в нашій країні заражені саме такими мікобактеріями [2]. Відомо, що розвиток стійкості мікобактерій значно сповільнюється при одночасному застосуванні різних препаратів, тому терапія лікування туберкульозу комбінована.

Піразинамід застосовується в комплексній терапії туберкульозу легень, при туберкульозному менінгіті у дітей, позалегеновому туберкульозі. Отже, є

потреба в постійному контролі якості лікарських засобів, що містять піразинамід, та в оптимізації методів їх аналізу.

Відомі методи кількісного визначення піразинаміду потребують використання дороговартісних реактивів та досить токсичних розчинників, деякі з них мають достатньо велику похибку визначення. Тому оптимізація відомих методів та розробка нових методів кількісного визначення піразинаміду є актуальними і, оскільки оптичні методи аналізу, а саме спектрофотометричні методи, дуже поширені при контролі якості лікарських препаратів, то їх використання може дати змогу точно, швидко, дешево та без використання токсичних речовин проводити кількісне визначення цієї діючої речовини в лікарському засобі.

Актуальність: Оптимізація наявних методик кількісного визначення піразинаміду та розробка нових методів.

Мета: розробити методику кількісного визначення піразинаміду у твердій лікарській формі методом спектрофотометричного аналізу.

Завдання:

1. Вивчити фармакологічні та фізико-хімічні властивості піразинаміду, особливості його застосування та механізм його дії.
2. Проаналізувати відомі методи кількісного визначення піразинаміду.
3. На основі результатів здійсненого аналізу, розробити методику кількісного визначення піразинаміду у твердій лікарській формі методом спектрофотометрії та здійснити часткову валідацію розробленої методики.

Методи дослідження: бібліосемантичний, спектрофотометрія.

Новизна та значення одержаних результатів:

В результаті проведеного дослідження представлена методика кількісного спектрофотометричного визначення піразинаміду у твердій лікарській формі.

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

Структура роботи. Робота включає Таблиць - 4, Рисунків – 5, Додатків – 4, загальний обсяг 41 сторінка.

Розділ 1. Піразинамід, його властивості, методи визначення, фармакологічні властивості.

1.1. Застосування піразинаміду. Фармакологія та фармакокінетика.

Піразинамід – синтетичний протитуберкульозний препарат [5], що являє собою амід кислоти піразинкарбонової і відноситься до фармакотерапевтичної групи протитуберкульозних препаратів I ряду [4]. Його високі дози мають бактерицидний ефект, але досі остаточно механізм його дії не з'ясований. Є припущення, що його протитуберкульозна дія подібна до дії ізоніазиду та ґнавана на порушенні обміну нуклеїнових кислот та міколевої кислоти в мікобактеріях [3]. Він досить активний в кислому середовищі казеозних мас, гарно просочується в інкапсульовані вузли інфекції, тому його часто призначають при казеозних лімфаденитах, казеозно-пневмонічних процесах, туберкуломах [4]. Піразинаміду властива здатність зменшувати активність мікобактерій туберкульозу, що знаходяться всередині макрофагів. Але, лікуючись лише піразинамідом, дуже швидко може розвинути стійкість мікобактерій туберкульозу до нього, тому його призначають комбінуючи з іншими протитуберкульозними препаратами [4].

Фармакокінетика. Піразинамід практично повністю та швидко всмоктується у шлунково-кишковому тракті. Його максимальна концентрація в крові спостерігається через 2 години та складає приблизно 35-45 мкг/мл при прийомі 1 г лікарського засобу. зв'язування з білками плазми крові складає 10-20% [6]. Він досить гарно проникає у різні тканини та органи, у головний мозок включно. У печінці утворює піразинову кислоту, що є активним метаболітом. Потім піразинова кислота окиснюється у 5-гідроксипіразинову кислоту, яка не є активним метаболітом та не має мікостатичної дії. При нормальній функції нирок період напіввиведення складає 9-10 годин. В основному (біля 70%) лікарський засіб виводиться

нирками протягом 24 годин (у незміненому вигляді біля 3%, у вигляді піразинової кислоти біля 33% та у вигляді інших метаболітів біля 36%) [6].

Показами для застосування піразинаміду є лікування усіх форм туберкульозу в поєднанні з іншими туберкулоостатичними препаратами.

Протипоказами є підвищена чутливість до діючої речовини або інших компонентів препарату, підвищена чутливість до подібних за структурою препаратів, наприклад, ізоніазиду чи етіонаміду, гостра подагра, важка печінкова недостатність, безсимптомна гіперурикемія [4].

Прийом хворим на туберкульоз піразинаміду разом з ізоніазидом, рифампіцином та стрептоміцином протягом перших 2-3 місяців дає стійкий лікувальний ефект, а прийом піразинаміду та рифампіцину впродовж 2 місяців для профілактики розвитку туберкульозу у ВІЛ-інфікованих ефективний так само, як прийом ізоніазиду протягом 12 місяців [3].

Щодо деяких особливостей застосування піразинаміду, то його потрібно обережно приймати людям, що мають порушення функції печінки, та людям, що страждають на алкоголізм. Кожні 2-4 тижні пацієнтам потрібно перевіряти печінкові проби, визначаючи білірубін, тимолову пробу, глутаміно-щавлеву амінотрансферазу та інші показники. Також потрібно контролювати сечову кислоту у крові. Потрібно терміново припинити вживання препарату при виявленні змін функцій печінки [4].

Щоб зменшити токсичну дію піразинаміду пацієнтам призначають вітамін В12, глюкозу, метіонін та ліпокаїн. Забороняється приймати алкоголь при лікуванні піразинамідом через ризик посилення токсичної дії алкоголю. У хворих порфірією препарат може викликати гострі напади порфірії. Піразинамід може накопичуватись в організмі пацієнтів, що мають ниркову недостатність. Дуже обережно потрібно призначати даний лікарський засіб хворим на цукровий діабет у зв'язку зі складністю підтримувати необхідну концентрацію глюкози у крові. Піразинамід затримує виведення уратів нирками, що може викликати гіперурикемію, яка може бути безсимптомною. Якщо ж при цьому спостерігається гострий подагричний артрит, то

необхідно припинити прийом піразинаміду. Під час вагітності та годування груддю даний лікарський засіб протипоказаний [4].

Таблетки піразинаміду приймають цілими після їжі. Добова доза для дорослих та дітей старших 15 років складає 20-30 мг на кілограм маси тіла на прийом. Приймають 1-3 рази на добу. Максимальна добова доза не повинна бути більшою, ніж 1,5 г. Термін лікування піразинамідом залежить від переносимості лікарського засобу та від перебігу хвороби та становить приблизно 6-8 місяців. Дітям до 15 років даний препарат не призначають [6].

При передозуванні препаратом в окремих випадках спостерігалось порушення функції печінки та зростання рівня трансаміназ, що поверталось до норми при зупинці його прийому. Спостерігались також гіперурикемія, збудження, диспептичні явища, посилення побічних реакцій. Для лікування потрібно промити шлунок, прийняти адсорбент, перевірити функцію печінки та визначити рівень уратів у крові, вживати багато води. Лікування симптоматичне [4].

Побічні реакції.

Травний тракт: біль в шлунку, нудота, діарея, блювання, диспептичні явища, відсутність апетиту, металевий присмак в роті.

Шкіра: висипи на шкірі, свербіж, кропив'янка, гіперемія, токсико-алергічний дерматит.

Гепатобіліарна система: жовтяниця, порушення функції печінки, збільшення рівня білірубіну, печінкових трансаміназ, тимолової проби.

Імунна система: гарячка, анафілактоїдні реакції.

Сечовивідна система: біль при сечовипусканні, інтерстиціальний нефрит, дизурія.

Нервова система: головний біль, запаморочення, галюцинації, порушення сну, депресія, підвищена збудливість, сплутаність свідомості.

Серцево-судинна система: відчуття жару, неприємні відчуття в області серця, гіпотензія.

Органи дихання: задишка, ускладнене дихання, сухий кашель.

Опорно-руховий апарат: міалгія, припухлість суглобів, подагричні напади, артралгія.

Системи крові: гіперкоагуляція, сидеробластна анемія, тромбоцитопенія, порфірія, схильність до утворення тромбів, спленомегалія.

Інші: нездужання, слабкість, пелагра.

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

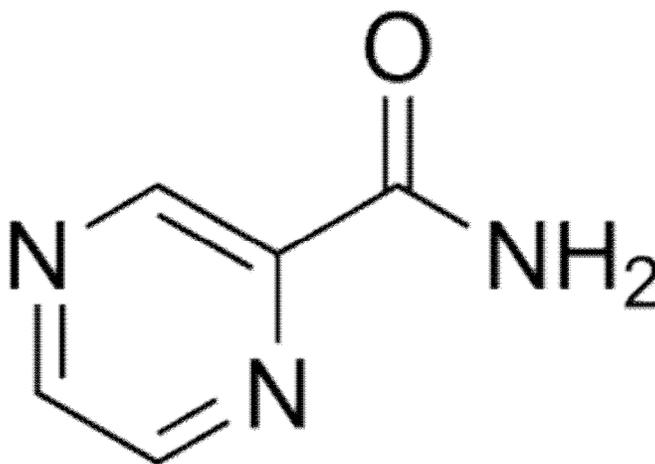


Рис.1. Піразинамід [5].

Піразинамід (Pyrazinamidum) має систематичну назву за IUPAC піразин-2-карбоксамід (C₅H₅N₃O).

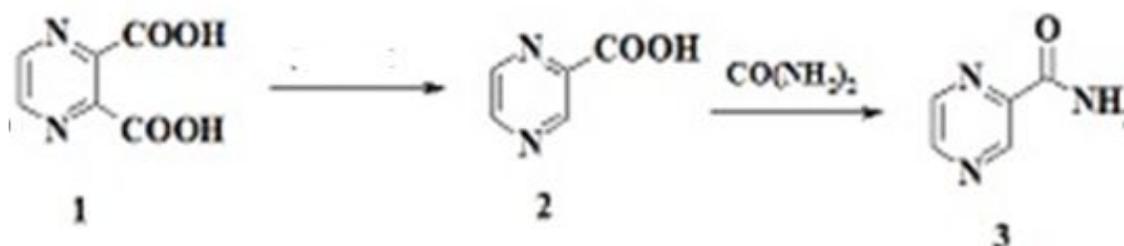
Молекулярна маса 123,1 г/моль.

T_{пл} = 188-191°C.

Це білий кристалічний порошок, який не має запаху. Він помірно розчиняється у воді та хлороформі, мало розчиняється в етанолі і дуже погано розчиняється в етері [7].

В одному з методів лтримання піразинаміду в якості вихідної речовини використовують 2,3-піразиндикарбонова кислота, яку можна отримати окисненням хіноксаліну, який синтезують з досить простих та доступних

реагентів. На першій стадії 2,3-піразиндикарбонова кислота декарбоксилюється, в результаті чого утворюється піразинкарбонова кислота, яка при взаємодії з сечовиною утворює піразинамід:

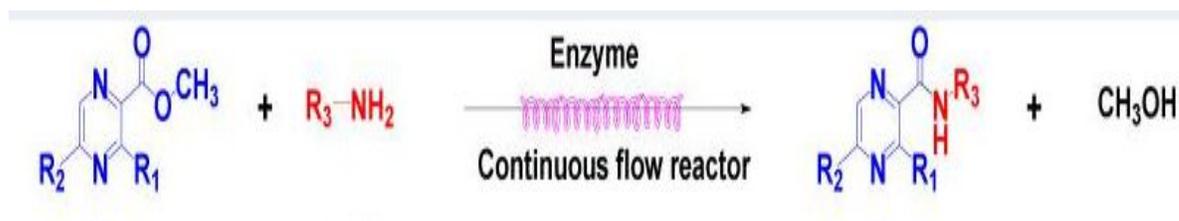


Ще один спосіб отримання піразинаміду включає нагрівання піразин-2-карбоксамід-3-карбонової кислоти до повного завершення декарбоксилювання [8].

Одним з промислових методів отримання піразинаміду є каталітичний синтез з 2,5-диметилпіразину реакцією з амоніаком та киснем. Використовуються при цьому оксидні каталізатори, процес відбувається при високих температурах та тиску.

Піразинамід можна отримати і з піразин-2-карбонової кислоти через утворення спочатку хлорангідриду та далі реакцією з амоніаком.

Відомий також ферментативний синтез піразинаміду та його похідних в проточних мікрореакторах з естерів піразину та амінів з використанням в якості каталізатора Lipozyme TL IM [9].



Де



1.3. Методи ідентифікації піразинаміду.

В Державній фармакопеї України (ДФУ) наведені наступні методи ідентифікації піразинаміду [10]:

1. За температурою плавлення: від 188 °С до 191 °С.
2. Спектрофотометрія в ультрафіолетовій та видимій областях спектру. Розчиняють 50 мг субстанції у воді, доводять розчин до 100 мл водою. 1 мл отриманого розчину розводять до 10 мл та знімають спектр в інтервалі 290 - 350 нм. Максимум поглинання знаходиться при 310 нм.
Розчиняють 50 мг субстанції у воді, доводять розчин до 100 мл водою. 2 мл отриманого розчину розводять до 100 мл та знімають спектр в інтервалі 230 - 290 нм. Максимум поглинання знаходиться при 268 нм.
3. За спектром поглинання в інфрачервоній області (порівнюють зі стандартом піразинаміду).
4. До 0,1 г субстанції додають 5 мл води, розчиняють, додають 1 мл розчину ферум (II) сульфату. При цьому з'являється оранжеве забарвлення, яке змінюється на темно-синє при додаванні 1 мл розведеного розчину натрій гідроксиду.
5. Якщо прокип'ятити субстанцію з розчином лугу, наприклад натрію гідроксиду, то з'являється запах амоніаку.

1.4. Огляд методів кількісного визначення піразинаміду.

Відповідно до Державної фармакопеї України (ДФУ) піразинамід визначають методом ацидиметричного титрування у неводному середовищі. 0,1 г субстанції розчиняють у 50 мл ацетатного ангідриду та титрують розчином хлорної кислоти з концентрацією 0,1 моль/л. Точку еквівалентності визначають потенціометричним методом. 1 мл розчину хлорної кислоти з концентрацією 0,1 моль/л відповідає 12,31 мг піразинаміду [10].

Популярний останнім часом також є вольтамперометричний метод. Піразинамід каталітично відновлюється на склокарбонівому електроді, який

модифікований активною електрохімічно плівкою полі-L-метіоніну та відновленим хімічно оксидом графену [11, 12].

Ще одним методом кількісного визначення піразинаміду є високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ). Даним методом визначають піразинамід в комбінованих лікарських засобах та біологічних рідинах. Метод дуже точний та селективний, але вимагає дороговартісного приладдя та висококваліфікованих спеціалістів [13].

Кожен з відомих методів має свої переваги та недоліки, та ми вважаємо за доцільне вивчити та частково валідувати методику визначення піразинаміду у твердих лікарських формах методом абсорбційної спектроскопії (спектрофотометрії).

1.5. Метод абсорбційної спектроскопії та його використання в аналізі лікарських засобів.

Молекулярний абсорбційний аналіз – дуже поширений метод для ідентифікації, кількісного визначення лікарських засобів та для визначення їх чистоти. В основі методу молекулярного абсорбційного аналізу лежить вимірювання поглинання світла досліджуваною речовиною. У фармацевтичному аналізі використовують спектроскопію (спектрофотометрію) в УФ (ультрафіолетовій) та у видимій областях. УФ області відповідає інтервал довжин хвиль від 200 нм до 400 нм. Інтервал довжин хвиль від 400 нм до 760 нм відповідає видимій області спектра. Електронні спектри виникають через зміну енергії часточок досліджуваної речовини (молекул, атомів, йонів) [14]. Джерело випромінювання зазвичай це лампа розжарювання, випромінювання якої має діапазон довжин хвиль 200 – 1000 нм. Деколи використовують водневу або ртутно-кварцеву лампу. Щоб отримати монохроматичне випромінювання застосовують призми та монохроматори. Спектрофотометр – прилад, який має монохроматор, він має більшу чутливість та селективність в порівнянні з фотометром.

Закон Бугера-Ламберта-Бера, на якому базується спектрофотометричний аналіз, показує залежність здатності речовини поглинати світло від природи

самої речовини, її концентрації та товщини поглинаючого шару, тобто товщини шару розчину, через який проходить світло. Величина цієї здатності називається оптична густина (A), яка, відповідно до основного закону світлопоглинання, рівна

$$A = \varepsilon l C$$

Де ε - це молярний коефіцієнт поглинання, який відповідає оптичній густині розчину з концентрацією 1 моль/л при товщині поглинаючого шару $l = 1$ см.

C – молярна концентрація досліджуваного розчину.

Оптична густина A не має одиниць вимірювання та може мати всі значення вище 0, але в аналізі використовують лише область значень оптичної густини від 0 до 1.

Щоб вибрати оптимальні умови для спектрофотометричного визначення будують спектр поглинання, що є залежністю оптичної густини розчину від довжини хвилі, що проходить через розчин. Вибирають максимальне поглинання досліджуваного розчину. Якщо ж на спектрі спостерігається кілька максимумів поглинання, то вибирають найінтенсивніший з них та найпологіший, що забезпечить найкращу чутливість [14].

Є декілька способів спектрофотометричного аналізу, а саме: метод молярного коефіцієнта поглинання, метод добавок, метод диференціальної фотометрії та метод градуювального графіка. Метод градуювального графіка є найпоширенішим. Сам графік являє собою графічну залежність оптичної густини розчину від його концентрації. Ця залежність, відповідно до закону Бугера-Ламберта-Бера, являє собою пряму лінію. Для побудови градуювального графіка готують серію розчинів з різною концентрацією речовини та вимірюють їх оптичну густина при довжині хвилі максимуму поглинання. За отриманими результатами будують графік в координатах $A - C$.

Диференціальна фотометрія збільшує точність та область концентрацій, де можна робити фотометричні вимірювання. Тут у кювету, куди зазвичай поміщують розчинник, наливають розчин досліджуваної речовини з відомою концентрацією (розчин порівняння). Відношення інтенсивності світла, яке пройшло через досліджуваний розчин, до інтенсивності світла, яке пройшло через розчин порівняння – це відносний коефіцієнт пропускання.

Існує також метод фотометричного титрування, яким проводять аналіз речовин (їх розчинів) які неможливо протитрувати іншим способом [14].

Розділ 2. Експериментальна частина.

Випускна кваліфікаційна робота виконана на кафедрі аналітичної, фізичної та колоїдної хімії Національного медичного університету імені О.О. Богомольця

2.1. Матеріали і методи.

2.1.1. Мета дослідження. Метою нашої роботи є розробка методики визначення піразинаміду в твердій лікарській формі спектрофотометричним методом аналізу.

2.1.2. Об'єкти дослідження. Для досягнення нашої мети, розробки методики, обрано Піразинамід (ПАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ» (Україна, Київ)) та Pyrazinamide tablets (виробник APEX Formulations PVT LTD, Індія). Дані лікарські засоби мають наступний склад:

Зразок 1. Піразинамід (ПАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ» (Україна, Київ)).
Склад: 1 таблетка містить піразинаміду 500 мг.

Допоміжні речовини: повідон, кросповідон, мікрокристалічна целюлоза, магнію стеарат [15].

Зразок 2. Pyrazinamide tablets (виробник APEX Formulations PVT LTD, Індія).
Склад: 1 таблетка містить тинідазолу 500 мг.

Допоміжні речовини: мікрокристалічна целюлоза, магнію стеарат, кросповідон [16].



Рис. 2. Досліджувані Зразки.

2.1.3. Обладнання та посуд.

1. Мірний посуд (колби різної ємності, мірні піпетки).
2. Спектрофотометр SPECORD 200-222 U 214.
3. Кварцеві кювети (шириною 10 мм).
4. Лабораторні ваги MettlerToledo XS204.
5. рН-метр рН -150 МІ зі скляним та хлорсрібним електродами.

2.1.4. Реактиви.

1. Фармакопейний стандартний зразок піразинаміду. Каталожний номер P0351. Реєстраційний номер 98-96-4.
2. Вода дистильована.
3. Розчин натрію гідроксиду 0,1 моль/л.
4. Розчин хлоридної кислоти 0,1 моль/л.

2.1.5. Приготування стандартного розчину

Точну наважку фармацевтичного стандартного зразку (ФСЗ) піразинаміду 0,05 г розчиняли в дистильованій воді в мірній колбі ємністю

100 мл, доводили до мітки дистильованою водою та добре перемішували. Фільтрували. Концентрація отриманого розчину 0,5 мг/мл.

2.1.6. Приготування розчинів Зразків 1 та 2.

1 таблетку досліджуваного зразку подрібнювали та розтирали в ступці до стану порошку. Отриманий порошок кількісно переносили в колбу ємністю 100 мл, додавали дистильовану воду та гарно перемішували до розчинення, доводили тим же розчинником до мітки колби, перемішували та фільтрували.

2.1.7. Спектрофотометричне визначення піразинаміду.

2 мл досліджуваного розчину за допомогою мірної піпетки переносили в мірну колбу на 100 мл та доводили до мітки дистильованою водою, перемішували.

Оптичну густину отриманого розчину вимірювали на спектрофотометрі відносно розчину порівняння – дистильованої води. Використовували кювети із кварцу з шириною 10 мм (товщина шару розчину, що поглинає світло) при довжині хвилі λ 268 нм. Концентрацію піразинаміду в розчинах, що досліджуються, визначали за допомогою побудованого нами градуювального графіку.

Розділ 3. Результати та їх обговорення.

3.1. Визначення оптимальної довжини хвилі спектрофотометричних вимірювань за спектром поглинання.

Оскільки піразинамід має здатність поглинати світло в ультрафіолетовій області спектру ми вивчали спектральні характеристики його стандартного зразку (ФСЗ) в області від 220 нм до 340 нм. За результатами вимірювань оптичної густини розчину піразинаміду будували графічну залежність її від довжини хвилі (рис. 3).

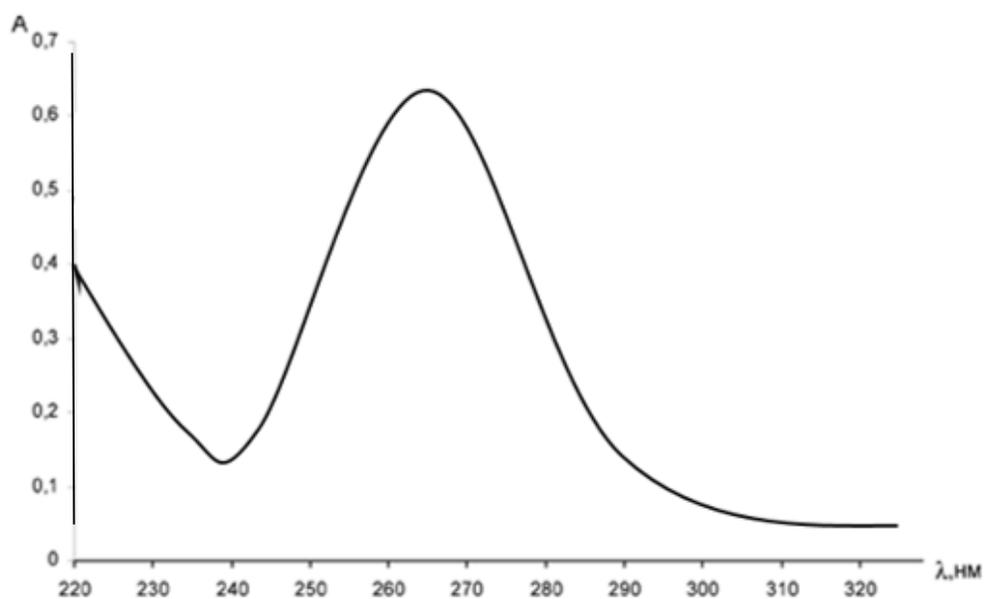


Рис. 3. Спектр поглинання піразинаміду.

Робимо висновок після побудови спектру поглинання, що максимальне поглинання світла розчином піразинаміду відбувається при довжині хвилі 268 нм.

3.2. Вибір оптимального значення рН спектрофотометричного дослідження.

Спектральні характеристики піразинаміду в області 220 – 340 нм вивчались також при різних значеннях рН. Отримані спектри поглинання наведені на рис. 4.

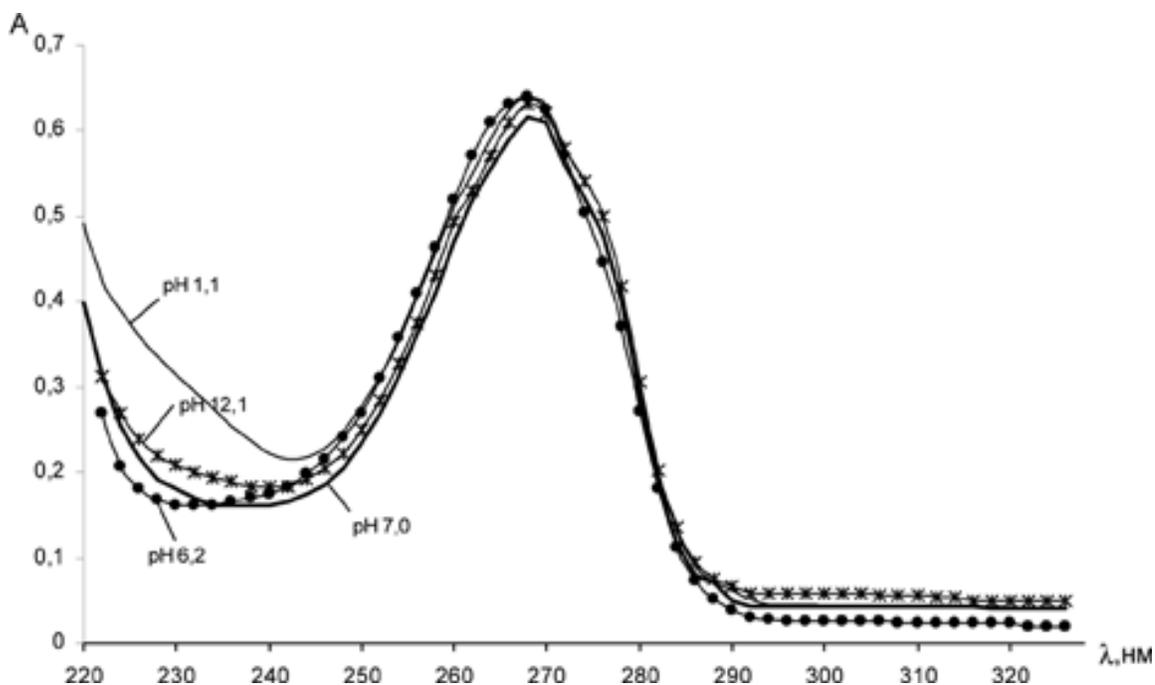


Рис. 4. Спектр поглинання розчину піразинаміду при різних значеннях рН

Дослідження впливу рН розчину на спектр поглинання провели при рН 1,1; 6,2; 7,0; 12,1, створюючи його за допомогою розчинів натрію гідроксиду та хлоридної кислоти та контролюючи рН за допомогою рН-метра. Як видно з рис.4 при всіх досліджених значеннях рН максимум поглинання розчину піразинаміду знаходиться при довжині хвилі 268 нм.

Визначили також, що максимум на спектрі поглинання розчину піразинаміду не змінюється у присутності інших речовин, які найчастіше входять до складу лікарських засобів у якості допоміжних речовин, таких як магнію стеарат, кросповідон та інших.

3.3. Вивчення залежності оптичної густини розчину піразинаміду від концентрації його стандартного розчину. Градувальний графік та перевірка лінійності.

Для вивчення залежності оптичної густини розчину від концентрації піразинаміду та побудови градувального графіку готували серію розчинів піразинаміду розведенням стандартного розчину та вимірювали їх оптичну густину за методикою, що описана в п. 2.1.7., при довжині хвилі 268 нм. Отримані дані наведені в Таблиці 1.

Таблиця 1. Залежність оптичної густини розчинів від концентрації піразинаміду.

| № розчину | Концентрація розчину піразинаміду, мкг/мл | Оптична густина, А |
|-----------|---|--------------------|
| 1 | 2 | 0,1 |
| 2 | 4 | 0,25 |
| 3 | 6 | 0,38 |
| 4 | 8 | 0,52 |
| 5 | 10 | 0,63 |
| 6 | 12 | 0,76 |
| 7 | 14 | 0,87 |
| 8 | 16 | 0,98 |

За наведеними даними будували градувальний графік залежності оптичної густини від концентрації стандартних розчинів, що наведений на рис. 5.

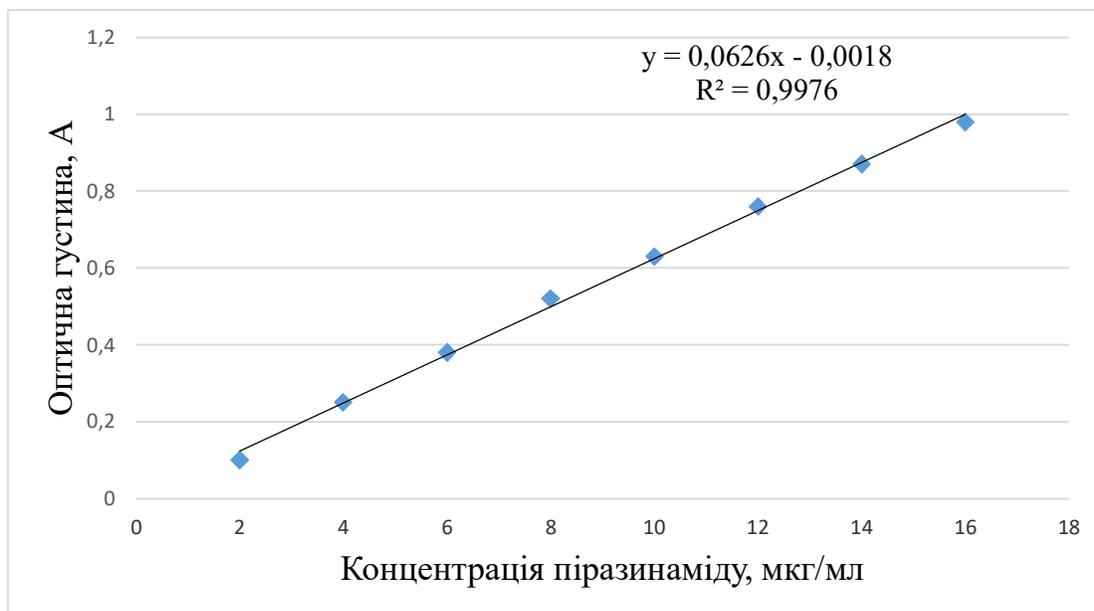


Рис. 5. Градувальний графік

Провели статистичну оцінку параметрів лінійної залежності. Функція лінійної регресії $y = 0,0626 \cdot x - 0,0018$ (коефіцієнт кореляції $R^2 = 0,9976$).

Розраховували значення стандартних відхилень і довірчих інтервалів для a та b (коефіцієнти лінійної регресії), прийнявши загальний вигляд функції лінійної регресії $y = a \cdot x - b$.

$$s_0^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{v} = 0,000265$$

$$s_b^2 = \frac{n \cdot s_0^2}{n \cdot \sum_{i=1}^n x_i^2 - (\sum_{i=1}^n x_i)^2} = 1,57556 \cdot 10^{-6}$$

$$s_a^2 = \frac{s_b^2}{n} \cdot \sum_{i=1}^n x_i^2 = 0,000160707$$

$$s_b = \sqrt{s_b^2} = 0,001255$$

$$s_a = \sqrt{s_a^2} = 0,012677$$

Отже, стандартне відхилення для коефіцієнта a складає 0,012677, для коефіцієнта b – 0,001255.

Щоб розрахувати довірчий інтервал знаходимо з таблиці значення коефіцієнта Стюдента при довірчій ймовірності $P = 0,95$ та ступенях свободи $v = 6 - t(0,95; 6) = 2,4469$.

Обчислюємо довірчий інтервал для коефіцієнта a :

$$a \pm s_a \cdot t(0,95; 6) = 0,0626 \pm 0,0310$$

Обчислюємо довірчий інтервал для коефіцієнта b :

$$b \pm s_b \cdot t(0,95; 6) = 0,0018 \pm 0,0031$$

Таким чином, можемо зробити висновок щодо лінійності отриманої залежності – всі вимоги виконуються і в нашому інтервалі концентрацій піразинаміду залежність оптичної густини від концентрації лінійна.

3.4. Визначення піразинаміду в зразках та часткова валідація методики.

Згідно методики, яка описана в п. 2.1.6., готували розчини Зразків 1 та 2. Проводили вимірювання оптичної густини отриманих розчинів за методикою, описаною в 2.1.6., при довжині хвилі 268 нм відносно компенсаційного розчину – дистильованої води. Для забезпечення більшої точності визначення здійснювали по 7 разів для кожного зразку. Отримані результати та параметри їх статистичної обробки наведені в Таблиці 2.

Зразок № 1 та Зразок № 2 містять по 500 мг піразинаміду (дані отримані з інструкції до медичного застосування).

Отримані результати дозволяють зробити висновок, що дійсне значення вмісту піразинаміду у Зразках (500 мг) знаходиться у межах довірчого інтервалу, отже, результати наших визначень вважаються правильними.

Таблиця 2. Кількісне визначення вмісту піразинаміду у Зразках (згідно інструкції вміст у зразках 500 мг)

| | Маса піразинамід у твердій лікарській формі, враховуючи розведення, мг | |
|--|---|-----------------|
| | Зразок 1 | Зразок 2 |
| 1 | 501,6 | 502,3 |
| 2 | 498,2 | 501,5 |
| 3 | 499,4 | 500,3 |
| 4 | 501,6 | 501,5 |
| 5 | 502,1 | 501,9 |
| 6 | 489,9 | 498,7 |
| 7 | 496,7 | 489,8 |
| Середнє значення, \bar{x} | 498,5 | 499,4 |
| Стандартне відхилення, s | 4,29 | 4,41 |
| Дисперсія, s^2 | 18,38 | 19,49 |
| Відносне стандартне відхилення, RSD % | 0,86 | 0,88 |
| Довірчий інтервал, $\bar{x} \pm \Delta_{\bar{x}}$ | 498,5 \pm 4,0 | 499,4 \pm 4,1 |
| Відносна похибка середнього значення, $\bar{\epsilon}$, % | 0,79 | 0,82 |

Крім лінійності та правильності ми оцінювали нашу методику за такими валідаційними характеристиками як прецизійність, робасність та специфічність [17, 18], щоб зробити висновок, чи залежать її результати від особистісних умінь та навичок аналітика, від місця та часу проведення аналізу.

3.4.1. Робасність та прецизійність. Специфічність методики.

Точність методики спектрофотометричного визначення піразинаміду у твердій лікарській формі ми визначали на рівні збіжності та внутрішньолабораторної прецизійності [17]. Для цього ми проводили по 5 вимірювань кожного досліджуваного зразка. Оскільки прецизійність показує міру розкиду або близькості результатів різних вимірювань ми, відповідно до вимог ДФУ, розраховували середнє значення отриманих результатів, стандартне відхилення, дисперсію, відносне стандартне відхилення, довірчий інтервал та відносну похибку середнього значення. Результати проведених вимірювань та розрахунків для Зразків 1 та 2 наведені у таблиці 3 та таблиці 4 відповідно. Відносний довірчий інтервал менший за максимальну припустиму невизначеність, що відповідає критерію прийнятності, отже методика точна на рівні збіжності та внутрішньолабораторної точності.

Для оцінки робасності методики ми перевіряли стабільність розчинів ФСЗ та досліджуваних зразків та встановили, що дані розчини стабільні протягом двох діб, тобто протягом 48 годин. Оцінюючи робасність ми маємо оцінити, чи є вплив інших зовнішніх факторів на результати кількісних визначень, насамперед на величину абсорбції піразинаміду. Для такої оцінки ми проводили наші дослідження також у різні календарні дні, роблячи перерву між ними. Отримані результати вимірювань наведено в таблиці 3 та таблиці 4 для Зразків 1 та 2 відповідно. Відносне стандартне відхилення та відносна похибка середнього значення менше 2%, що вказує на гарну повторюваність одержаних результатів.

Висновок про специфічність нашої методики робимо базуючись на аналізі впливу домішок або допоміжних речовин на результати вимірювань. Ми знімали та аналізували спектр поглинання розчинів, які, окрім піразинаміду, містили інші речовини, які найчастіше входять до складу лікарських засобів у твердій формі. Встановлено, що жодна із домішок не мала впливу на спектр поглинання піразинаміду, не змінювала максимум поглинання. Отже, методику спектрофотометричного визначення піразинаміду можемо вважати специфічною.

Таблиця 3. Перевірка прецизійності методики спектрофотометричного визначення піразинаміду (внутрішньолабораторна точність).

| № проби | Зразок 1, знайдено піразинаміду, враховуючи розведення, мг | |
|--|--|-----------------|
| | День 1 | День 2 |
| 1 | 501,5 | 488,9 |
| 2 | 499,6 | 501,7 |
| 3 | 502,2 | 497,8 |
| 4 | 496,7 | 498,8 |
| 5 | 498,9 | 498,9 |
| Середнє значення, \bar{x} | 499,8 | 497,2 |
| Стандартне відхилення, s | 2,19 | 4,87 |
| Дисперсія, s^2 | 4,78 | 23,74 |
| Відносне стандартне відхилення, RSD % | 0,44 | 0,98 |
| Довірчий інтервал, $\bar{x} \pm \Delta_{\bar{x}}$ | 499,8 \pm 2,7 | 497,2 \pm 6,0 |
| Відносна похибка середнього значення, $\bar{\epsilon}$, % | 0,54 | 1,22 |

Дійсний кількісний вміст піразинаміду у Зразку 1 (500 мг) входить у довірчий інтервал, тому результати дослідження вважаються правильними.

Таблиця 4. Перевірка прецизійності методики спектрофотометричного визначення піразинаміду (внутрішньолабораторна точність).

| № проби | Зразок 2, знайдено піразинаміду, враховуючи розведення, мг | |
|--|--|-----------------|
| | День 1 | День 2 |
| 1 | 497,7 | 501,3 |
| 2 | 501,2 | 489,9 |
| 3 | 497,8 | 499,7 |
| 4 | 498,7 | 501,1 |
| 5 | 497,9 | 502,1 |
| Середнє значення, \bar{x} | 498,7 | 498,8 |
| Стандартне відхилення, s | 1,47 | 5,06 |
| Дисперсія, s^2 | 2,17 | 25,61 |
| Відносне стандартне відхилення, RSD % | 0,29 | 1,01 |
| Довірчий інтервал, $\bar{x} \pm \Delta_{\bar{x}}$ | 498,7 \pm 1,8 | 498,8 \pm 6,3 |
| Відносна похибка середнього значення, $\bar{\epsilon}$, % | 0,37 | 1,26 |

Так само, вміст піразинаміду у Зразку 2 (дійсне значення 500 мг) входить у довірчий інтервал, тому результати визначення вважаються правильними.

Відповідно до вимог ДФУ такі метрологічні характеристики як середнє значення отриманих результатів, стандартне відхилення, дисперсію, відносне стандартне відхилення, довірчий інтервал та відносна похибка середнього значення розраховували за формулами, наведеними нижче.

RSD - відносне стандартне відхилення:

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

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

де s – стандартне відхилення

Дисперсія:

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

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

Довірчий інтервал:

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

Відносна похибка середнього значення:

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

3.5. Порівняння методик кількісного визначення піразинаміду.

Провівши бібліосемантичний аналіз, ми можемо констатувати, що піразинамід в фармацевтичних препаратах, здійснюючи контроль якості ліків, визначають методом ацидиметрії в неводному середовищі, а саме в середовищі оцтового ангідриду [10]. Точку кінця титрування встановлюють за допомогою потенціометра. Ацидиметрія, як власне і сам титриметричний

метод аналізу, має деякі недоліки, до яких можна віднести досить виражену трудомісткість процесу проведення аналізу, де для початку потрібно приготувати стандартний розчин титранту хлорної кислоти та здійснити його стандартизацію. До того ж, оцтовий ангідрид, який використовується в даному методі, дуже токсичний та їдкий, та може викликати опіки слизових оболонок та шкіри, тому робота з ним вимагає дотримання особливих правил безпеки, як то виконання аналізу в рукавичках, захисних окулярах, з гарною вентиляцією повітря у витяжній шафі, використовуючи респіратор.

Крім того метод не вирізняється високою селективністю та, так само, як і всі об'ємні методи, має достатню кількість джерел помилок титрування, як систематичних, так і випадкових та особистісних [20].

Інші відомі методи кількісного визначення піразинаміду також мають свої недоліки. До них відносяться надто великий час виконання аналізу, занадто велика трудомісткість процесів, в методах має місце використання надто токсичних розчинників або дороговартісні реактиви, використання дорогих і не завжди доступних приладів, робота на яких вимагає високої кваліфікації аналітика.

У той же час відомо, що метод спектрофотометрії є недорогим, він досить простий у виконанні і не потребує особливих вимог до кваліфікації аналітика. Крім того метод дуже точний, високочутливий та високоселективний, вирізняється універсальністю та має досить високу відтворюваність результатів кількісних визначень.

ВИСНОВКИ

- Проведено аналіз та вивчено фармакологічні та фізико-хімічні властивості піразинаміду, його застосування в медичній практиці, властивості та механізм дії, побічні реакції та протипоказання.
- Здійснено аналіз відомих методик кількісного визначення піразинаміду: ацидиметрія в неводному середовищі, вольтамперометрія та високоефективна рідинна хроматографія.
- Запропонована методика кількісного визначення піразинаміду у твердій лікарській формі методом спектрофотометрії, здійснена її часткова валідація.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Електронний ресурс. Режим доступу:
<https://www.prostir.ua/?news=problema-tuberkulozu-pid-chas-vijny-scho-potribno-znaty-ta-kudy-zvertatysya-za-dopomohoyu>
2. Рубан Е.В., Мельник В.Й. Сучасна проблема захворювання на туберкульозу рівненській області. *Public Health Journal*. Вип. 1 (7), 2025, ст. 175-180.
3. Електронний ресурс. Режим доступу:
<https://rpht.com.ua/ua/archive/2008/3-2/article-134/pobichna-diya-pirazinamidu-shlyahi-farmakoterapevtichnoyi-korekciyi>
4. Електронний ресурс. Режим доступу:
<https://compendium.com.ua/dec/268279/>
5. Електронний ресурс. Режим доступу:
<https://uk.wikipedia.org/wiki/%D0%9F%D1%96%D1%80%D0%B0%D0%B7%D0%B8%D0%BD%D0%B0%D0%BC%D1%96%D0%B4>
6. Електронний ресурс. Режим доступу:
[https://likicontrol.com.ua/%D1%96%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80%D1%83%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F/?\[12377\]](https://likicontrol.com.ua/%D1%96%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80%D1%83%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F/?[12377])
7. Електронний ресурс. Режим доступу:
<https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/829/pirazinamid>
8. Електронний ресурс. Режим доступу:
<https://patents.google.com/patent/US2780624A/en>
9. Електронний ресурс. Режим доступу:
<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11648184/#:~:text=Fig.,-1.&text=The%20importance%20of%20amides%20has,efficient%20methodologies%20for%20amide%20synthesis.&text=The%20most%20widely%20used%20methods,acids%20and%20carboxylic%20acid%20derivatives.&text=Amide%20synthesis%20is%20prevalent%20in,produce%20pyrazinamide%20from%20pyrazine%20acid.&text=Another%20viable%20route%20is%20to,2>

10. Державна Фармакопея України. Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків, 2015.
11. Cheemalapati S., Devadas B., Chen Shen-Ming. Highly sensitive and selective determination of pyrazinamide at poly-L-methionine/reduced graphene oxide modified electrode by differential pulse voltammetry in human blood plasma and urine samples. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2014. Vol. 418. P. 132–139.
12. Електронний ресурс. Режим доступу: https://www.researchgate.net/publication/320558733_Voltammetric_Methods_for_the_Determination_of_Parmaceuticals_Metod_voltamperometrii_dla_viznacenna_likarskih_recovin
13. Електронний ресурс. Режим доступу: [https://www.chembk.com/en/chem/Pyrazinamide#:~:text=Table_title:%20Pyrazinamide%20%2D%20Physico%2Dchemical%20Properties%20Table_content:%20header:,Point%20%7C%20C5H5N3O:%20229.19%C2%B0C%20\(rough%20estimate\)%20%7C](https://www.chembk.com/en/chem/Pyrazinamide#:~:text=Table_title:%20Pyrazinamide%20%2D%20Physico%2Dchemical%20Properties%20Table_content:%20header:,Point%20%7C%20C5H5N3O:%20229.19%C2%B0C%20(rough%20estimate)%20%7C)
14. Фармацевтичний аналіз (Блок 2. Кількісне визначення АФІ) : навчальний посібник для практичних занять студентів III-VI курсів II фармацевтичного факультету спеціальності 226 «Фармація, промислова фармація». Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, О. О. Портна [та ін.]. – Запоріжжя : [ЗДМФУ], 2024. – 141 с.
15. Електронний ресурс. Режим доступу: <https://tabletki.ua/uk/%D0%9F%D0%B8%D1%80%D0%B0%D0%B7%D0%B8%D0%BD%D0%B0%D0%BC%D0%B8%D0%B4/7666/>
16. Електронний ресурс. Режим доступу: https://www.indiamart.com/proddetail/pyrazinamide-500-mg-tablet-2851906942662.html?srsltid=AfmBOoqAlFcr2QASKQaJrhUNXMLaB2uwLIWjHMY_ycPWB0YbG1SPfDa1

17. 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.
18. 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.
19. Фармацевтична хімія: Підручник. Ред. П.О. Безуглий. Вінниця: Нова Книга, 2011 – 560с.
20. Дей, Р., Андервуд, А. (1989). *Кількісна аналітична хімія*. (п'яте видання). PEARSON Prentice Hall.

ДОДАТКИ

Додаток 1.

Лабораторні терези Mettler Toledo XS204



Додаток 2.

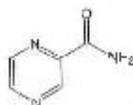
Витяг з ДФУ

Піразинамід

ПІРАЗИНАМІД

Pirazinamidum

PIRAZINAMIDUM



$C_5H_5N_2O$
[98-96-4]

М.м. 123.1

Піразин-2-карбоксамід.

Вміст: не менше 99,0 % і не більше 101,0 %, у перерахунок на безводну речовину.

ВЛАСТИВОСТІ

Опис. Кристалічний порошок білого або майже білого кольору.

Розчинність. Помірно розчинний у воді *P*, мало розчинний в етанолі (96 %) *P* і метиленхлориді *P*.

Виявляє поліморфізм (5.9).

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

Перша ідентифікація: С.
Друга ідентифікація: А, В, D.

A. Температура плавлення (2.2.14). Від 188 °С до 191 °С.

B. Абсорбційна спектрофотометрія в ультрафіолетній і видимій області (2.2.25).

Випробуваний розчин (a). 50,0 мг субстанції розчиняють у воді *P* і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 100,0 мл.

Випробуваний розчин (b). 1,0 мл випробуваного розчину (a) доводять водою *P* до об'єму 10,0 мл.

Випробуваний розчин (c). 2,0 мл випробуваного розчину (a) доводять водою *P* до об'єму 100,0 мл.

Область довжин хвиль: від 290 нм до 350 нм для випробуваного розчину (b); від 230 нм до 290 нм для випробуваного розчину (c).

Абсорбційні максимуми: за довжини хвилі 310 нм для випробуваного розчину (b); за довжини хвилі 268 нм для випробуваного розчину (c).

Питаний навізток пов'язання: за довжини хвилі 268 нм і від 640 нм до 680 нм для випробуваного розчину (c).

C. Абсорбційна спектрофотометрія в інфрачервоній області (2.2.24).

Відповідність: спектру ФСЗ піразинамід.

У разі різниці спектри окремо розчиняють субстанцію та ФСЗ піразинамід у етанолі (96 %) *P*, утворюють насухо та повторно записують спектри одержаних залишків.

D. 0,1 г субстанції розчиняють у 5 мл води *P*, додають 1 мл заліза(II) сульфату розчину *P2*; з'являється оранжеве забарвлення, що переходить у темно-синє при додаванні 1 мл натрію гідроксиду розчину розведеного *P*.

ВИПРОБУВАННЯ

Розчин S. 0,5 г субстанції розчиняють у воді, відокремлюють від надлишку діоксиду. *P* і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 50 мл.

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

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

Кислотність або лужність. До 25 мл розчину S додають 0,05 мл фенолфталеїну розчину *P1* і 0,2 мл 0,01 *M* розчину натрію гідроксиду; з'являється червоне забарвлення. Розчин знебарвлюється при додаванні 1,0 мл 0,01 *M* розчину хлористоводневої кислоти. На одержаного розчину додають 0,15 мл метилового червоного розчину *P*; з'являється червоний забарвлення.

Супровідні домішки. Рідінна хроматографія (2.2.29). Розчини готують безпосередньо перед використанням.

Випробуваний розчин. 50 мг субстанції розчиняють у воді *P* і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 25,0 мл. 5,0 мл одержаного розчину доводять водою *P* до об'єму 25,0 мл.

Розчин порівняння (a). 1,0 мл випробуваного розчину доводять водою *P* до об'єму 100,0 мл. 1,0 мл одержаного розчину доводять водою *P* до об'єму 10,0 мл.

Розчин порівняння (b). 10 мг ФСЗ піразин-2-карбонітрилу *P* (домішка В) розчиняють у воді *P* і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 50,0 мл. 5,0 мл одержаного розчину доводять водою *P* до об'єму 50,0 мл. До 5,0 мл одержаного розчину додають 5,0 мл випробуваного розчину та доводять водою *P* до об'єму 25,0 мл.

Квадрат:

— розмір: 0,25 м × 4,6 мм;

— порухами фази: силкагель для хроматографії, октадецилсиланний, ендокотанний *P* (5 мкм);

— температура: 30 °С.

Рухомі фази: 6,80 г калію дигідрофосфату *P* розчиняють у 100 мл води *P*, додають 1,84 г натрію гідроксиду.

Пірацетам

решиди Р, рН ошержаного розчину доводять до 3,0 фосфорною кислотою розведеною Р, і доводять об'єм розчину водою Р до 1000 мл. До ошержаного розчину додають 10,0 мл ацетонітрилу Р і 1,0 мл тетрагідрофурану Р.

Швидкість руху мої фази: 2,0 мл/хв.

Детектування: спектрофотометрично за довжини хвилі 270 нм.

Кожений: 40 мкл.

Час хроматографування: у 4 рази більший часу утримування пірацетамілу.

Ідентифікація домішок: використовують хромотограму розчину порівняння (b) для ідентифікації піка домішок В.

Відносна утримування до пірацетаміду (час утримування пірацетаміду близько 5 хв): домішки В - близько 1,6.

Продільність хроматографічної системи: розчин порівняння (b):

- *ступінь розділення:* не менше 4,0 між піками пірацетаміду та домішки В.

Порушення:

- *домішка В:* площа піка не має перевищувати площу основного піка на хроматограмі розчину порівняння (a) (0,10 %);

- *неспецифіковані домішки:* площа піка кожної домішки не має перевищувати 0,5 площі основного піка на хроматограмі розчину порівняння (a) (0,05 %);

- *сума:* сума площ усіх піків не має перевищувати 2 площі основного піка на хроматограмі розчину порівняння (a) (0,2 %);

- *не втрачають:* піки, площа яких менше 0,3 площі основного піка на хроматограмі розчину порівняння (a) (0,03 %).

Важкі метали (2.4.8, метод Н). Не більше 0,001 % (10 ррм).

Сумію розчинників: вода Р - етанол (96 %) Р (50:50).

0,25 г субстанції має витримувати випробування на важкі метали. Еталон готують із використанням 0,25 мл свинцю еталонного розчину (10 ррм Рb) Р.

Вола (2.5.12). Не більше 0,5 %. Визначення проводять із 2,00 г субстанції.

Сульфатна зола (2.4.14). Не більше 0,1 %. Визначення проводять із 1,0 г субстанції.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

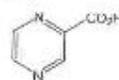
0,100 г субстанції розчиняють у 50 мл оцтового ангідриду Р і титрують 0,1 М розчином хлорної кислоти потенціометрично (2.2.20).

1 мл 0,1 М розчину хлорної кислоти відповідає 12,31 мг $C_8H_{14}N_2O$.

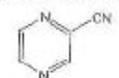
ДОМІШКИ

Специфіковані домішки: В.

Інші домішки, що виявляються (дані домішки, якщо вони наявні у достатній кількості, можуть визнаватися тим або іншим вигробуванням монографії. Їх вміст нормується загальноприйнятими критеріями для інших/неспецифікованих домішок і/або статтею «Субстанції для фармацевтичного застосування». Тому немає необхідності їх ідентифікувати, щоб показати вищевдлітег вимістам. Див. також 5.10. «Контроль домішок у субстанціях для фармацевтичного застосування»): А.



А. піразин-2-карбонова кислота.

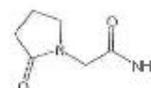


В. піразин-2-карбонітрил.

ПІРАЦЕТАМ

Piracetamum

PIRACETAM



$C_8H_{14}N_2O_2$
[7491 74-9]

М.м. 142,2

2-(2-Оксопиперидин-1-іл)ацетамід.

Вміст: не менше 98,0 % і не більше 102,0 %, у перерахунок на суху речовину.

ВІАСТИВОСТІ

Опис. Порошок білого або майже білого кольору.

Розчинність. Легко розчинний у воді Р, розчинний в етанолі (96 %) Р.

Додаток 3.

Спектрофотометр UV-Vis SPECORD 200/210 PLUS.



Додаток 4.

Сертифікат учасника конференції.

СЕРТИФІКАТ №261/2026

Цим засвідчується, що

Тарасюк І. 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

Комісія цієї заклади є університетів, Інститутів, кафедр та інших наукових і освітніх закладів.
 Висхідання: УкрІНТЕЛ №1 від 28 жовтня 2023 р.

PLANTA+
 НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА

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

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



Юрій КУЧИН

Уляна КАРПЮК

SUMMARY

Ivanna Tarasiuk

Topic: «Method for quantitative determination of pyrazinamide by spectrophotometry».

Department of analytical, physical and colloid chemistry

Scientific supervisor: Oksana Chkhalo

Keywords: pyrazinamide, spectrophotometry, tuberculosis.

Introduction. Tuberculosis is still one of the most common diseases in the world, and due to the war in Ukraine, the number of patients is increasing, especially in the front-line regions. A huge problem is the increase in cases of chemoresistant tuberculosis. Pyrazinamide, a synthetic drug with an anti-tuberculosis effect, is used in complex therapy with other anti-tuberculosis agents, has a bactericidal effect and reduces the activity of mycobacteria, and is also used in the treatment of extrapulmonary tuberculosis, caseous lymphadenitis, and tuberculosis meningitis in children.

Known methods of quantification of pyrazinamide are mostly expensive, require the use of toxic solvents, or are quite long-term and time-consuming and not always sensitive enough. Therefore, the optimization of existing methods and the development of new, simple and sensitive methods for the determination of pyrazinamide in medicinal products remains an urgent task.

Materials and methods. Spectrophotometric method of analysis.

Results. Pyrazinamide is characterized by the absorption of electromagnetic radiation in the ultraviolet region of the spectrum, therefore, having previously studied the absorption spectrum, we determined the optimal measurement conditions and developed a method of spectrophotometric determination of this active pharmaceutical ingredient at a wavelength of 268 nm. The technique was developed on model solutions (a standard pharmaceutical sample was used), after which it was tested on selected medicines, the active substance of which was pyrazinamide, and which are sold by pharmacy chains in Ukraine and abroad. The pyrazinamide content of the test samples was determined by the grading graph

method, the linearity of which was confirmed by the least squares method. After partial validation of the technique, we can state that it meets the requirements of the DFU (the relative error of the average value is less than 1%) and can be used to control the quality of medicines containing pyrazinamide.

Conclusions. As a result of the study, a method of quantitative spectrophotometric determination of pyrazinamide in solid dosage form was developed and its partial validation was carried out.