

На правах рукописи

Копылова Анна Игоревна

**КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА МЯГКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ С
ПРОИЗВОДНЫМИ ИМИДАЗОЛА, ТРИАЗОЛА И ФТОРХИНОЛОНА**

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ

на соискание ученой степени кандидата
фармацевтических наук

Самара – 2023

Диссертационная работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор фармацевтических наук, профессор **Кобелева Татьяна Алексеевна**

Официальные оппоненты:

Мещерякова Светлана Алексеевна – доктор фармацевтических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра общей химии, заведующий кафедрой;

Шорманов Владимир Камбулатович – доктор фармацевтических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фармацевтической, токсикологической и аналитической химии, профессор.

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Новосибирск.

Защита диссертации состоится «_____» _____ 2023 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета 21.2.061.06 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (443079, г. Самара, пр. Карла Маркса, 165Б).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке (443001, г. Самара, ул. Арцыбушевская, 171) и на сайте (<http://www.samsmu.ru/scientists/science/referats/>) федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Автореферат разослан «_____» _____ 2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат фармацевтических наук, доцент

Жданова Алина Валитовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

К приоритетам государственной политики Российской Федерации в области развития лекарственного обеспечения относится увеличение доступности для населения современных, качественных, эффективных и безопасных лекарственных препаратов (ЛП) [Приказ Министерства здравоохранения РФ от 13 февраля 2013 г. № 66]. Несмотря на лидирующее направление современных аптек в обеспечении населения готовыми ЛП промышленного производства, не снижается запрос на удовлетворение потребности в индивидуальной фармакотерапии, направленной на получение предсказуемой и оптимизированной реакции на лечение у конкретных пациентов [Наркевич И.А. и др., 2021; Смехова И.Е. и др., 2021; Govender R. et al., 2020; Бахарева А.В., 2020; Тарасова Е.Н. и др., 2019; Kovalskaya G. et al., 2017; Sharovalova V.V. et al., 2017].

Одним из перспективных направлений при создании ЛП является разработка новых лекарственных форм (ЛФ) известных активных фармацевтических субстанций (АФС) с целью повышения биодоступности, терапевтической активности и снижения побочных эффектов [Анурова М.Н. и др., 2022; Злотников И.Д. и др., 2022; Попова М.И., 2021; Кашликова И.М., 2020; Грих В.В., 2018; Илиев К.И., 2018; Сысуев Б.Б. и др., 2014].

В настоящее время наблюдается увеличение численности инфекционных осложнений заболеваний дерматологического, гинекологического, стоматологического и офтальмологического профилей, переходящих в септические процессы, что связано с проблемой резистентности микроорганизмов ко многим современным антибактериальным средствам [Борисенко А.Ю., 2021; Adeoye-Isijola M. et al., 2020; Пикуза О.И. и др., 2020; Сергеев А.Ю. и др., 2019; Гаврилова И.А. и Титов Л.П., 2013; Палий Г.К. и др., 2013]. Следовательно, создание новых комплексных противомикробных ЛП с высокой фармакотерапевтической активностью является актуальной задачей фармации. Лекарственные средства (ЛС) группы 5-нитроимидазола (5-НИМЗ) и фторхинолона характеризуются широким спектром противомикробного действия и низким уровнем резистентности возбудителей, что доказывает перспективность их применения для разработки новых противомикробных ЛП [Wallner J. et al., 2022; Антропова Г.А. и др., 2021; Ушаков Р.В. и др., 2021; Mohammed N.N. et al., 2019].

На сегодняшний день активно проводятся исследования, посвященные изучению свойств элементсодержащих гидрогелей как перспективных носителей АФС. К известным титансодержащим препаратам относится гель Тизоль[®], используемый в виде самостоятельного ЛП или в качестве основы лекарственных композиций [Майорова А.В. и др., 2021; Салистый П.В. и др., 2021; Замятин А.В. и др., 2019; Гулова Н.В., 2018; Бражник Е.А., 2016; Емельянов А.С. и др., 2010]. Титансодержащий гель является активатором всасывания биологически активных веществ (БАВ), усиливает их собственное фармакологическое действие, проявляет сопутствующие терапевтические эффекты (антифлогистический, обезболивающий, противоотечный, протекторный, противозудный и антимикробный) [Ключарева С.В. и др., 2022; Лосенкова С.О. и др., 2022; Емельянов А.А. и др., 2021; Фирсова И.В. и др. 2019; Порозовнюк В.В. и др., 2017; Петров А.Ю., 2016]. Вышеуказанные свойства глицерогидрогеля Тизоль[®] доказывают перспективность новых мягких ЛФ с производными имидазола, триазола и фторхинолона, изготовленных на титансодержащей основе, для медицинского применения.

Обеспечение качества, эффективности и безопасности новых мягких ЛФ с производными имидазола, триазола и фторхинолона, изготовленных на глицерогидрогеле Тизоль[®] по индивидуальным рецептам или требованиям медицинских организаций, достигается

посредством проведения контроля качества ЛП. Следовательно, перспективным направлением исследования является разработка объективных и доступных методик их идентификации и оценки количественного содержания посредством современных методов анализа.

Степень разработанности темы исследования

Ряд исследований посвящены фармацевтическому анализу местноанестезирующих, противовоспалительных, антифунгицидных композиций на основе геля Тизоль[®], в частности разработке методик подтверждения подлинности и оценки количественного содержания [Кобелева Т.А. и др., 2021; Анисимова Т.Г., 2021; Илиев К.И., 2018; Махотина М.В., 2018; Петров А.Ю., 2016; Емельянов А.С. и др., 2010]. Однако отсутствуют научные разработки, посвященные контролю качества мягких лекарственных форм на основе глицерогидрогеля Тизоль[®] с производными 5-нитроимидазола (орнидазол, тинидазол) и фторхинолона (офлоксацин, ципрофлоксацин, моксифлоксацин), а также комбинаций метронидазола и тинидазола с производными имидазола, триазола и N-метилнафталина, проявляющими противогрибковую активность (кетоконазол, клотримазол, итраконазол, флуконазол, тербинафин).

Цель и задачи исследования

Цель работы - определение параметров идентификации и разработка методик количественного анализа мягких лекарственных форм с производными имидазола, триазола и фторхинолона.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие **задачи**:

1. Изучить характер УФ-спектров производных 5-нитроимидазола, фторхинолона и титансодержащей основы, предложить параметры идентификации и разработать методики подтверждения подлинности мазей с производными 5-нитроимидазола и фторхинолона, изготовленных на глицерогидрогеле Тизоль[®].
2. Осуществить выбор условий проведения качественного анализа лекарственных препаратов методом производной спектрофотометрии и разработать методики подтверждения подлинности мазей с производными 5-нитроимидазола и фторхинолона, а также комбинаций 5-нитроимидазолов с производными имидазола, триазола и N-метилнафталина, проявляющими противогрибковую активность, в мягких лекарственных формах.
3. Определить оптимальные условия и разработать методики количественного спектрофотометрического анализа мягких лекарственных форм на основе глицерогидрогеля Тизоль[®] с производными 5-нитроимидазола и фторхинолона, а также комбинаций 5-нитроимидазолов с производными имидазола, триазола и N-метилнафталина, проявляющими противогрибковую активность, в мазях.
4. С применением разработанных методик фармацевтического анализа изучить характеристики, обеспечивающие терапевтическую активность и безопасность (транскутанную активность, рН и стабильность) мягких лекарственных форм с производными имидазола, триазола и фторхинолона, полученных на основе геля Тизоль[®].

Научная новизна

В ходе исследования установлены параметры идентификации (значения молярных коэффициентов светопоглощения, положения максимумов и минимумов поглощения на УФ-спектрах) и разработаны методики подтверждения подлинности мягких лекарственных форм на основе глицерогидрогеля Тизоль[®] с производными имидазола, триазола и фторхинолона методами прямой УФ-спектрофотометрии и производной УФ-спектрофотометрии.

Разработаны и валидированы методики количественного анализа мягких лекарственных форм с метронидазолом, орнидазолом, тинидазолом, офлоксацином, ципрофлоксацином, моксифлоксацином, изготовленных на геле Тизоль[®], и мягких лекарственных форм, содержащих

комбинации 5-нитроимидазолов (метронидазол, тинидазол) с производными имидазола, триазола и N-метилнафталина, проявляющими противогрибковую активность (кетоконазол, клотримазол, итраконазол, флуконазол, тербинафин), на тизольной основе методом УФ-спектрофотометрии.

Впервые установлена возможность идентификации глицерогидрогеля Тизоль® безиндикаторным методом по фиолетовой флуоресценции, возникающей после УФ-облучения при длине волны 254 нм, и разработаны методики изучения транскутанной активности мягких лекарственных форм с производными имидазола, триазола, фторхинолона и N-метилнафталина, изготовленных на геле Тизоль®, с применением методов флуоресцентного анализа и гель-хроматографии в тонких агаровых слоях.

Определены характеристики, обеспечивающие терапевтическую активность и безопасность (транскутанная активность, рН, стабильность) мягких лекарственных форм на основе геля Тизоль® с производными имидазола, триазола и фторхинолона с применением методов спектрофотометрии, флуоресцентного анализа, хроматографии и потенциометрии.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Разработаны научно-обоснованные методики контроля качества, в том числе идентификации и количественного анализа, мягких ЛФ с производными имидазола, триазола и фторхинолона, изготовленных на титансодержащей основе, с возможным включением их в нормативную документацию по контролю качества ЛП индивидуального изготовления. Установлена возможность применения перспективного метода производной спектрофотометрии для подтверждения подлинности мягких ЛФ с производными имидазола, триазола и фторхинолона.

Результаты научного исследования могут быть использованы Институтом фармакопеи и стандартизации в сфере обращения лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России при разработке методических рекомендаций, указаний и других материалов по вопросам стандартизации и контроля качества ЛС, а также разработке и актуализации ОФС и ФС.

По результатам проведенных исследований изданы методические рекомендации «Качественный спектрофотометрический анализ некоторых химиотерапевтических средств в мягких лекарственных формах», которые рекомендованы методическим советом по специальности «Фармация» ФГБОУ ВО Тюменского ГМУ Минздрава России (Протокол №3 от 24 ноября 2022 г.).

Методические рекомендации апробированы и внедрены в деятельность ООО «Городская центральная аптека», г. Екатеринбург (акт внедрения от 28.12.2022 г.), ООО «Олимп», г. Екатеринбург (акт внедрения от 27.12.2022 г.), Аптека №231 ЕМУП «Здоровье», г. Екатеринбург (акт внедрения от 28.12.2022 г.), АО АТД «Панацея», г. Тюмень (акт внедрения от 22.12.2022 г.). Результаты, полученные в ходе проведения диссертационного исследования, применяются в образовательной деятельности в Тюменском государственном медицинском университете (акт внедрения от 28.12.2022 г.), Уральском государственном медицинском университете (акт внедрения от 26.12.2022 г.), Курском государственном медицинском университете (акт внедрения от 28.12.2022 г.).

Изданы методические рекомендации «Количественный спектрофотометрический анализ некоторых химиотерапевтических средств в мягких лекарственных формах», рекомендованные методическим советом по специальности «Фармация» ФГБОУ ВО Тюменского ГМУ Минздрава России (Протокол № 6 от 13 марта 2023 г.).

Методические рекомендации апробированы и внедрены в практическую деятельность ООО «Городская центральная аптека», г. Екатеринбург (акт внедрения от 24.05.2023 г.), ООО

«Олимп», г. Екатеринбург (акт внедрения от 23.05.2023 г.), Аптека №231 ЕМУП «Здоровье», г. Екатеринбург (акт внедрения от 25.05.2023 г.), АО АТД «Панацея», г. Тюмень (акт внедрения от 02.05.2023 г.) и в образовательную деятельность Тюменского государственного медицинского университета (акт внедрения от 20.05.2023 г.), Алтайского государственного медицинского университета (акт внедрения от 22.05.2023 г.), Приволжского исследовательского медицинского университета (акт внедрения от 15.05.2023 г.).

Методология и методы исследования

Методология диссертационного исследования основана на изучении и системном обобщении данных научной литературы в области контроля качества и стандартизации ЛП, оценки актуальности работы и степени разработанности темы исследования. В работе использовался комплекс фармакопейных химических, физических и физико-химических методов анализа. Методами математической статистики выполняли статистическую обработку полученных данных согласно ГФ РФ XIV издания (ОФС.1.1.0013.15). Результаты исследований обрабатывались с использованием пакета приложений Microsoft Office 2016.

Связь задач исследования с проблемным планом научных работ

Диссертационное исследование производилось на основании плана научных исследований кафедры химии и фармакогнозии ФГБОУ ВО Тюменский ГМУ Минздрава России, ОГРН 1027200835859.

Основные положения, выносимые на защиту

1. УФ-спектры поглощения производных 5-нитроимидазола, фторхинолона и титансодержащей основы, параметры идентификации (значения молярных коэффициентов светопоглощения, положения максимумов и минимумов поглощения на УФ-спектрах) и методики подтверждения подлинности мазей с производными 5-нитроимидазола и фторхинолона, изготовленных на глицерогидрогеле Тизоль®.

2. Установленные условия идентификации лекарственных препаратов методом производной спектрофотометрии и методики подтверждения подлинности мягких лекарственных форм на основе глицерогидрогеля Тизоль® с метронидазолом, орнидазолом, тинидазолом, офлоксацином, цiproфлоксацином, моксифлоксацином и содержащих комбинации 5-нитроимидазолов (метронидазол, тинидазол) с производными имидазола (кетоконазол, клотримазол), триазола (итраконазол, флуконазол) и N-метилнафталина (тербинафин).

3. Разработанные и валидированные методики количественного анализа мягких лекарственных форм с метронидазолом, орнидазолом, тинидазолом, офлоксацином, цiproфлоксацином, моксифлоксацином, изготовленных на геле Тизоль®, методом УФ-спектрофотометрии.

4. Разработанные методики количественного анализа мягких лекарственных форм на тизольной основе, содержащих комбинации 5-нитроимидазолов (метронидазол, тинидазол) с производными имидазола (кетоконазол, клотримазол), триазола (итраконазол, флуконазол) и N-метилнафталина (тербинафин), методом К. Фирордта.

5. Характеристики, обеспечивающие терапевтическую активность и безопасность мягких лекарственных форм с производными имидазола, триазола и фторхинолона, полученных на основе геля Тизоль®, установленные методами фармацевтического анализа.

Личный вклад автора

Автором проанализированы и обобщены данные научной литературы по теме диссертационной работы, выполнены экспериментальные исследования и разработаны методики контроля качества мягких лекарственных форм с производными имидазола, триазола и

фторхинолона на тизольной основе, осуществлен анализ, статистическая обработка, валидация и интерпретация полученных результатов. На протяжении всех этапов диссертационного исследования, проводимого на научной базе ФГБОУ ВО Тюменский ГМУ Минздрава России, автор принимал активное участие.

Соответствие диссертации паспорту специальности

Научные положения диссертационной работы соответствует пункту 3 паспорта научной специальности 3.4.2 Фармацевтическая химия, фармакогнозия – разработка новых, совершенствование, унификация и валидация существующих методов контроля качества лекарственных средств на этапах их разработки, производства и потребления.

Степень достоверности и апробация работы

Достоверность полученных в ходе диссертационного исследования результатов подтверждена экспериментальными данными с применением современных методов фармацевтического анализа и сертифицированного оборудования. Анализ экспериментальных результатов проводился с помощью методов математической статистики и валидационной оценки с соблюдением требований ГФ РФ XIV издания.

Основные результаты диссертационной работы докладывались и обсуждались на VIII Всероссийской научно-практической конференции «Беликовские чтения» (октябрь 2020 г., г. Пятигорск); LXXXIII Международной научно-практической конференции «Инновационные подходы в современной науке» (декабрь 2020 г., г. Москва); XXIII Международной научно-практической конференции «Наука и инновации в XXI веке: актуальные вопросы, открытия и достижения» (12 февраля 2021 г., г. Пенза); LXVII International Scientific and Practical Conference «International Scientific Review of the Problems and Prospects of Modern Science and Education» (21-22 March 2021, Boston, USA); Всероссийском научном форуме с международным участием «Неделя молодежной науки-2021», посвященном медицинским работникам, оказывающим помощь в борьбе с коронавирусной инфекцией (26-28 марта 2021 г., г. Тюмень); VI Международной научно-практической конференции «Ломоносовские чтения. Актуальные вопросы фундаментальных и прикладных исследований». (15 апреля 2021 г., г. Петрозаводск); XVIII Международной научно-практической конференции «Современные научные исследования: Актуальные вопросы, достижения и инновации» (20 апреля 2021 г., г. Пенза); VI Международной научно-практической конференции «Новые научные исследования» (27 декабря 2021 г., г. Пенза); Международной научно-практической конференции «Фундаментальные и прикладные исследования в науке и образовании» (14 января 2022 г., г. Магнитогорск); XLV Международной научно-практической конференции «Фундаментальные научные исследования» (15 февраля 2022 г., г.к. Анапа); Всероссийском научном форуме с международным участием «Неделя молодежной науки 2022», посвященном Медведевой И.В. (24-26 марта 2022 г., г. Тюмень); Всероссийском научном форуме с международным участием «Неделя молодежной науки 2023», посвященном 60-летию со дня образования Тюменского государственного медицинского университета (23-25 марта 2023 г., г. Тюмень).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 34 печатные работы, в том числе 1 монография, 7 публикаций – в журналах, входящих в Перечень рецензируемых научных журналов и изданий для опубликования основных научных результатов диссертаций, рекомендованный Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации, 1 – в SCOPUS, получена приоритетная справка на выдачу патента на изобретение «Способ количественного определения лекарственного препарата Тизоль® геля» от 07.07.2023 г., номер заявки 2023117934.

Структура и объем работы

Диссертация изложена на 203 страницах печатного текста, состоит из списка сокращений, введения, обзора литературы (глава 1), описания объектов, приборов, оборудования, реактивов и методов исследований (глава 2), результатов экспериментальной части (главы 3-5), выводов, списка литературы и приложений. Работа содержит 52 рисунка, 50 таблиц. Список литературы включает 216 источников, в том числе 74 – на иностранном языке.

В главе 1 представлен обзор литературных данных в области контроля качества ЛП с производными имидазола, триазола и фторхинолона, методов идентификации и количественного определения.

Глава 2 включает в себя описание объектов, приборов, оборудования, реактивов и методов, используемых при проведении диссертационного исследования.

В главе 3 представлены УФ-спектры поглощения объектов исследования, определены параметры идентификации (величины молярных коэффициентов светопоглощения, положения максимумов и минимумов поглощения), подобраны оптимальные условия и разработаны методики подтверждения подлинности мягких ЛФ на основе глицерогидрогеля Тизоль® с производными имидазола, триазола и фторхинолона прямой УФ-спектрофотометрии и производной УФ-спектрофотометрии.

Глава 4 содержит обоснование условий проведения спектрофотометрического количественного определения и разработанные методики оценки количественного содержания производных имидазола, триазола и фторхинолона в мягких ЛФ методами градуировочного графика и К. Фирордта.

В главе 5 представлены результаты установления характеристик, обеспечивающих терапевтическую активность и безопасность мягких ЛФ на геле Тизоль® с производными имидазола, триазола и фторхинолона, методами фармацевтического анализа.

Диссертация завершается выводами и списком литературы. В приложениях к диссертационной работе представлены методические рекомендации и акты внедрения, подтверждающие практическую значимость исследования.

Благодарность

Автор выражает искреннюю признательность и особую благодарность д.фарм.н., профессору Татьяне Алексеевне Кобелевой за научное руководство и д.фарм.н., профессору Алику Ивановичу Сичко за важнейшие советы и значимые замечания при проведении диссертационного исследования.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Объекты, материалы и методы исследования

Объектами исследования являются мягкие ЛФ, изготовленные на глицерогидрогеле Тизоль®, с производными 5-нитроимидазола (метронидазол, орнидазол, тинидазол) и фторхинолона (офлоксацин, ципрофлоксацин, моксифлоксацин), а также производные имидазола (кетконазол, клотримазол), триазола (итраконазол, флуконазол) и N-метилнафталина (тербинафин) (таблица 1). Контроль качества мягких ЛФ проводили с помощью разработанных методик подтверждения подлинности методами прямой спектрофотометрии и производной спектрофотометрии.

Параметры идентификации ЛС устанавливали на основании изучения спектров поглощения растворов активных фармацевтических субстанций (АФС), модельных смесей с гелем Тизоль®, этанольных экстрактов исследуемых мягких ЛФ, а также расчета молярных коэффициентов светопоглощения. УФ-спектры поглощения анализируемых растворов регистрировали с помощью спектрофотометра СФ-2000 (ЗАО «ОКБ СПЕКТР», г. Санкт-

Петербург, Россия), используя кюветы из кварцевого стекла с длиной оптического пути 1,0 см, в интервале длин волн от 200 нм до 370 нм относительно растворителя. В методе производной спектрофотометрии для зарегистрированных УФ-спектров проводили расчет производных первого или второго порядка с помощью программного обеспечения «Сканирование для СФ-2000».

Количественное содержание производных имидазола, триазола и фторхинолона в мягких ЛФ устанавливали методом градуировочного графика. Для анализа двухкомпонентных смесей при условии перекрывании полос поглощения АФС применяли метод К. Фирордта и его упрощенный вариант. Оптические плотности исследуемых растворов АФС измеряли при установленных максимумах, используя спектрофотометр СФ-2000. Для предлагаемых аналитических методик рассчитывали метрологические и валидационные параметры в соответствии с ГФ РФ XIV издания.

Таблица 1 – Состав фармацевтических композиций в форме мазей

Условное название	Состав, г	Условное название	Состав, г
«Метронидазол»	Метронидазола 0,1 Тизоля® до 10,0	«Метрокетоконазол»	Метронидазола 0,1 Кетоконазола 0,1 Тизоля® до 10,0
«Тинидазол»	Тинидазола 0,1 Тизоля® до 10,0	«Метроклотримазол»	Метронидазола 0,1 Клотримазола 0,1 Тизоля® до 10,0
«Орнидазол»	Орнидазола 0,1 Тизоля® до 10,0	«Метротербиназол»	Метронидазола 0,1 Тербинафина гидрохлорида 0,1 Тизоля® до 10,0
«Ципрофлоксазол»	Ципрофлоксацина гидрохлорида 0,05 Тизоля® до 10,0	«Метроитраконазол»	Метронидазола 0,1 Итраконазола 0,1 Тизоля® до 10,0
«Офлоксазол»	Офлоксацина 0,05 Тизоля® до 10,0	«Тинифлукозол»	Тинидазола 0,1 Флуконазола 0,1 Тизоля® до 10,0
«Моксифлоксазол»	Моксифлоксацина гидрохлорида 0,05 Тизоля® до 10,0	«Метрофлуконазол»	Метронидазола 0,1 Флуконазола 0,1 Тизоля® до 10,0

Методами фармацевтического анализа устанавливали характеристики, обеспечивающие терапевтическую активность и безопасность мягких ЛФ на геле Тизоль® с производными имидазола, триазола и фторхинолона. Оценку транскутанной активности мазей проводили методом равновесного диализа, используя прибор Л. Крувчинского и целлофановую мембрану марки Suprophan®. Количественное содержание производных имидазола, триазола, фторхинолона и N-метилнафталина в диализате устанавливали методом спектрофотометрии. Транскутанную активность мазей также определяли методом гель-хроматографии в тонких агаровых слоях. Для идентификации производных имидазола, триазола, фторхинолона и N-метилнафталина использовали качественные химические реакции. Подлинность глицерогидрогеля Тизоль® устанавливали безиндикаторным методом по фиолетовой флуоресценции с применением облучателя хроматографического УФС – 254/365 и пластинок «Silufol UV 254». С помощью рН-метра рН-150МИ (ООО «Измерительная техника», г. Москва, Россия) определяли величины водородных показателей мазей с производными имидазола, триазола, фторхинолона и N-метилнафталина. Исследования по изучению стабильности мазей с в процессе хранения проводили методами спектрофотометрии и потенциометрии.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Качественный спектрофотометрический анализ лекарственных средств

Зарегистрированы УФ-спектры метронидазола, орнидазола, тинидазола, офлоксацина, ципрофлоксацина, моксифлоксацина в 0,1 М растворах хлористоводородной кислоты и натрия гидроксида, их модельных смесей с гелем Тизоль[®], этанольных экстрактов лекарственных средств из мазей (рисунки 1-4).

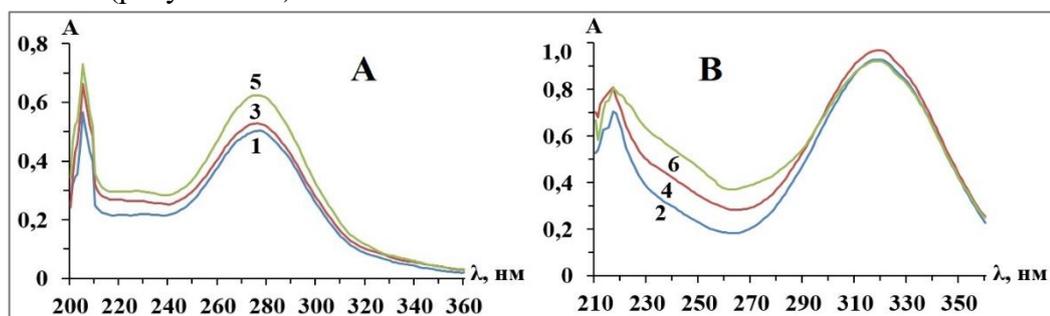


Рисунок 1 – УФ-спектры метронидазола и модельных смесей с гелем Тизоль[®]
 А – катионная форма: 1. $C(\text{АФС}) = 8 \cdot 10^{-5}$ моль/л; 3. $C(\text{АФС}) = 8 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C(\text{Тизоль}^{\text{®}}) = 5 \cdot 10^{-5}$ моль/л; 5. $C(\text{АФС}) = 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л, $C(\text{Тизоль}^{\text{®}}) = 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л; В – молекулярная форма:
 2. $C(\text{АФС}) = 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л; 4. $C(\text{АФС}) = 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л, $C(\text{Тизоль}^{\text{®}}) = 5 \cdot 10^{-5}$ моль/л;
 6. $C(\text{АФС}) = 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л, $C(\text{Тизоль}^{\text{®}}) = 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л

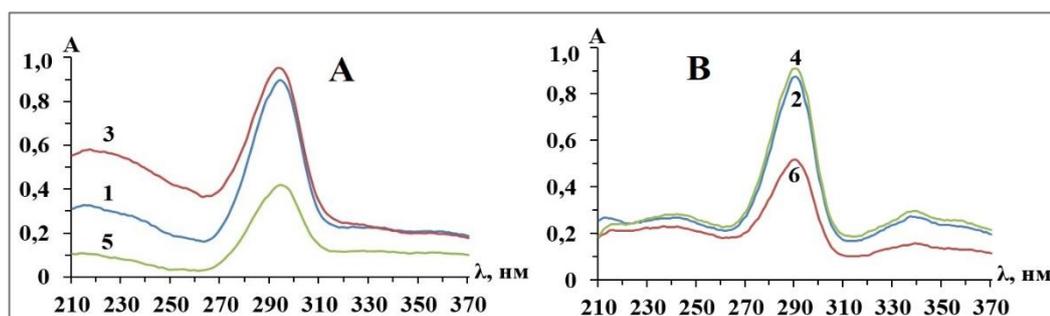


Рисунок 2 – УФ-спектры моксифлоксацина и модельных смесей с гелем Тизоль[®]
 А – катионная форма: 1. $C(\text{АФС}) = 2 \cdot 10^{-5}$ моль/л; 3. $C(\text{АФС}) = 2 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C(\text{Тизоль}^{\text{®}}) = 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л; 5. $C(\text{АФС}) = 1 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C(\text{Тизоль}^{\text{®}}) = 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л; В – анионная форма:
 2. $C(\text{АФС}) = 2 \cdot 10^{-5}$ моль/л; 4. $C(\text{АФС}) = 2 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C(\text{Тизоль}^{\text{®}}) = 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л;
 6. $C(\text{АФС}) = 1 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C(\text{Тизоль}^{\text{®}}) = 8 \cdot 10^{-5}$ моль/л

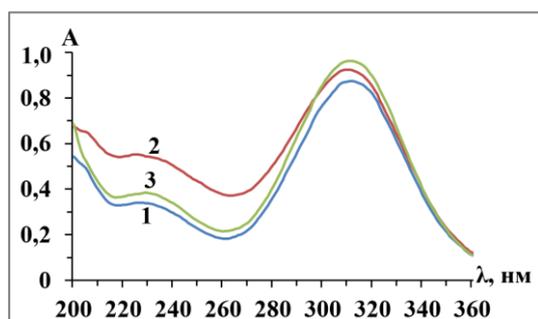


Рисунок 3 – УФ-спектры этанольного раствора метронидазола, модельной смеси с гелем Тизоль[®] и этанольного экстракта из мази: 1. $C(\text{АФС}) = 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л; 2. $C(\text{АФС}) = 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л, $C(\text{Тизоль}^{\text{®}}) = 5 \cdot 10^{-5}$ моль/л; 3. Этанольный экстракт метронидазола из мази ($C = 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л)

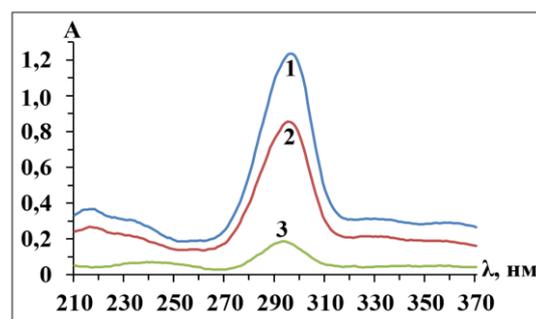


Рисунок 4 – УФ-спектры этанольного раствора моксифлоксацина, модельной смеси с гелем Тизоль[®] и этанольного экстракта из мази: 1. $C(\text{АФС}) = 3 \cdot 10^{-5}$ моль/л; 2. $C(\text{АФС}) = 2 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C(\text{Тизоль}^{\text{®}}) = 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л; 3. Этанольный экстракт моксифлоксацина из мази ($C = 4,3 \cdot 10^{-6}$ моль/л)

Установлено соответствие положений максимумов и минимумов на спектрах поглощения растворов фармацевтических субстанций, модельных смесей и этанольных экстрактов из мазей, что подтверждает возможность идентификации новых мазей производных 5-нитроимидазола и фторхинолона с глицерогидрогелем Тизоль®.

Рассчитаны величины молярных коэффициентов светопоглощения метронидазола, орнидазола, тинидазола, офлоксацина, ципрофлоксацина, моксифлоксацина в максимумах и минимумах поглощения (таблица 2) и разработаны методики идентификации мягких лекарственных форм с производными 5-НИМЗ и фторхинолона, основанные на сравнении вычисленных величин молярных коэффициентов поглощения в 0,1 М растворах хлористоводородной кислоты и натрия гидроксида, положений максимумов и минимумов на УФ-спектрах.

Таблица 2 –Молярные коэффициенты светопоглощения в максимумах и минимумах УФ-спектров производных 5-НИМЗ и фторхинолона в 0,1 М растворах хлористоводородной кислоты и натрия гидроксида

№ п/п	Лекарственное средство	$\epsilon(\lambda_{\max}), \epsilon(\lambda_{\min})$	
		0,1 М NaOH	0,1 М HCl
1	Метронидазол	$\epsilon(217) = 7044,00 \pm 107,70$ $\epsilon(319) = 9256,00 \pm 116,30$ $\epsilon(262) = 1819,00 \pm 40,90$	$\epsilon(205) = 7078,80 \pm 116,10$ $\epsilon(277) = 6306,30 \pm 107,70$ $\epsilon(217) = 2686,30 \pm 49,90$
2	Тинидазол	$\epsilon(204) = 5712,00 \pm 106,10$ $\epsilon(317) = 7242,00 \pm 103,60$ $\epsilon(264) = 1420,00 \pm 37,70$	$\epsilon(205) = 4690,00 \pm 91,90$ $\epsilon(276) = 5025,00 \pm 113,00$ $\epsilon(240) = 2707,00 \pm 71,00$
3	Орнидазол	$\epsilon(213) = 2836,00 \pm 77,20$ $\epsilon(317) = 8310,00 \pm 146,80$ $\epsilon(259) = 1224,00 \pm 18,10$	$\epsilon(205) = 5140,00 \pm 114,80$ $\epsilon(275) = 5335,00 \pm 108,60$ $\epsilon(242) = 2887,00 \pm 65,50$
4	Офлоксацин	$\epsilon(227) = 14266,10 \pm 365,40$ $\epsilon(288) = 24616,80 \pm 559,40$ $\epsilon(332) = 11236,90 \pm 183,00$ $\epsilon(265) = 10000,00 \pm 166,00$ $\epsilon(311) = 9550,00 \pm 184,20$	$\epsilon(225) = 20000,00 \pm 261,20$ $\epsilon(292) = 32484,90 \pm 383,00$ $\epsilon(321) = 12240,00 \pm 196,10$ $\epsilon(264) = 10427,60 \pm 125,20$ $\epsilon(318) = 12101,90 \pm 230,50$
5	Ципрофлоксацина гидрохлорид	$\epsilon(270) = 29285,60 \pm 665,50$ $\epsilon(323) = 12990,00 \pm 288,00$ $\epsilon(334) = 12744,70 \pm 216,10$ $\epsilon(242) = 12100,40 \pm 258,80$ $\epsilon(295) = 6490,90 \pm 148,40$	$\epsilon(276) = 36377,20 \pm 648,40$ $\epsilon(315) = 11236,70 \pm 154,30$ $\epsilon(328) = 10021,30 \pm 187,20$ $\epsilon(239) = 8113,50 \pm 148,30$ $\epsilon(301) = 10521,60 \pm 175,80$
6	Моксифлоксацина гидрохлорид	$\epsilon(235) = 13314,80 \pm 289,30$ $\epsilon(290) = 43793,90 \pm 789,60$ $\epsilon(337) = 13622,80 \pm 215,50$ $\epsilon(262) = 10623,90 \pm 253,10$ $\epsilon(312) = 8361,60 \pm 179,50$	$\epsilon(215) = 16366,90 \pm 326,60$ $\epsilon(294) = 44828,60 \pm 685,90$ $\epsilon(263) = 8009,60 \pm 180,20$

Примечание: жирным шрифтом выделены величины молярных коэффициентов в максимумах поглощения.

Предложен метод производной спектрофотометрии для качественного анализа мягких лекарственных форм с производными 5-нитроимидазола и фторхинолона. Изучены первые и вторые производные от спектров поглощения метронидазола, орнидазола, тинидазола, офлоксацина, ципрофлоксацина, моксифлоксацина, полученные через интервалы 1 нм, 2 нм и

4нм. Экспериментально установлено, что вторые производные с интервалом разделения 4 нм наиболее полно отражают УФ-спектры лекарственных средств и позволяют выявить скрытые максимумы на исходных спектрах метронидазола, тинидазола, орнидазола и моксифлоксацина, которые являются дополнительными характеристиками подлинности (таблица 3).

Таблица 3 – Параметры спектров поглощения и их вторых производных растворов 5-НИМЗ и фторхинолонов, модельных смесей с гелем Тизоль® и этанольных экстрактов из мазей

Растворитель	λ_{\max} и λ_{\min} , найденные по спектрам поглощения АФС, нм	λ_{\max} и λ_{\min} , найденные по кривым второй производной, нм		
		АФС	модельная смесь	этанольный экстракт из мази
«Метронидазоль»				
0,1 М HCl	276±2, 244±2	276, 244, 308	276, 244, 308	276, 244, 308
0,1 М NaOH	318±2, 262±2	318, 270	318, 270	318, 270
«Тинидазоль»				
0,1 М HCl	276±2, 244±2	276, 248, 308	276, 248, 304	276, 248, 304
0,1 М NaOH	320±2, 264±2	320, 268, 348	320, 268, 348	320, 268, 348
«Орнидазоль»				
0,1 М HCl	276±2, 244±2	276, 248, 308	276, 248, 312	276, 248, 312
0,1 М NaOH	316±2, 264±2	316, 276, 348	316, 276, 348	316, 276, 348
«Офлоксазоль»				
0,1 М HCl	224±2, 292±2, 264±2	272, 312, 224, 292	272, 312, 224, 292	272, 312, 224, 292
0,1 М NaOH	288±2, 264±2	276, 308, 288	276, 308, 288	276, 308, 288
«Ципрофлоксазоль»				
0,1 М HCl	276±2, 240±2	260, 300, 276	260, 300, 276	260, 300, 276
0,1 М NaOH	272±2, 328±2, 240±2	256, 284, 272, 332	256, 284, 272, 332	256, 284, 272, 332
«Моксифлоксазоль»				
0,1 М HCl	292±2, 264±2	272, 308, 292	272, 308, 292	272, 308, 292
0,1 М NaOH	288±2, 340±2, 260±2	272, 308, 288, 336	272, 308, 288, 336	272, 308, 288, 336

Примечание: жирным шрифтом выделены длины волн в максимумах поглощения.

Рассчитаны величины молярных коэффициентов вторых производных метронидазола, орнидазола, тинидазола, офлоксацина, ципрофлоксацина, моксифлоксацина в максимумах и минимумах поглощения (таблица 4) и разработаны методики идентификации мягких лекарственных форм с производными 5-нитроимидазола и фторхинолона, основанные на установлении положения максимумов и минимумов на вторых производных УФ-спектров в 0,1М растворах хлористоводородной кислоты и натрия гидроксида и сравнении вычисленных значений молярных коэффициентов вторых производных.

Экспериментально установлено, что методом производной спектрофотометрии могут быть идентифицированы метронидазол в смеси с клотримазолом, кетоконазолом и тербинафина гидрохлоридом в мягких лекарственных формах на основе глицерогидрогеля Тизоль® по положению максимумов и минимумов на вторых производных спектров поглощения (таблица 5), на основании чего разработаны методики идентификации мягких лекарственных форм «Метрокетоконазоль», «Метроклотримазоль» и «Метротербиназоль».

Таблица 4 – Молярные коэффициенты светопоглощения 5-НИМЗ и фторхинолонов в 0,1 М растворах хлористоводородной кислоты и натрия гидроксида в минимумах кривых производной второго порядка ($\epsilon''(\lambda_{\min})$)

Растворитель	$\epsilon''(\lambda_{\min})$		
	АФС	модельная смесь с гелем Тизоль®	этанольный экстракт из мази
«Метронидазол»			
0,1 М HCl	$\epsilon''(276) = 252,20 - 267,80$	$\epsilon''(276) = 260,00$	$\epsilon''(276) = 261,64$
0,1 М NaOH	$\epsilon''(318) = 232,80 - 247,20$	$\epsilon''(318) = 240,00$	$\epsilon''(318) = 241,51$
«Тинидазол»			
0,1 М HCl	$\epsilon''(276) = 145,89 - 154,91$	$\epsilon''(276) = 150,40$	$\epsilon''(276) = 147,20$
0,1 М NaOH	$\epsilon''(320) = 148,99 - 158,21$	$\epsilon''(320) = 153,60$	$\epsilon''(320) = 156,80$
«Орнидазол»			
0,1 М HCl	$\epsilon''(276) = 243,20 - 268,80$	$\epsilon''(276) = 256,00$	$\epsilon''(276) = 256,00$
0,1 М NaOH	$\epsilon''(316) = 231,04 - 255,36$	$\epsilon''(316) = 243,20$	$\epsilon''(316) = 252,80$
«Офлоксазол»			
0,1 М HCl	$\epsilon''(292) = 2160,00 - 2640,00$	$\epsilon''(292) = 2400,00$	$\epsilon''(292) = 2160,00$
0,1 М NaOH	$\epsilon''(288) = 1224,00 - 1496,00$	$\epsilon''(288) = 1360,00$	$\epsilon''(288) = 1280,00$
«Ципрофлоксазол»			
0,1 М HCl	$\epsilon''(276) = 3816,00 - 4664,00$	$\epsilon''(276) = 4240,00$	$\epsilon''(276) = 3840,00$
0,1 М NaOH	$\epsilon''(272) = 3384,00 - 4136,00$	$\epsilon''(272) = 3760,00$	$\epsilon''(272) = 3384,00$
«Моксифлоксазол»			
0,1 М HCl	$\epsilon''(292) = 3532,80 - 4147,20$	$\epsilon''(292) = 3840,00$	$\epsilon''(292) = 4080,00$
0,1 М NaOH	$\epsilon''(288) = 4195,20 - 4651,20$	$\epsilon''(288) = 4560,00$	$\epsilon''(288) = 4240,00$

Таблица 5 – Параметры спектров поглощения и их вторых производных растворов метронидазола, кетоконазола, клотримазола и тербинафина, модельных смесей с гелем Тизоль® и этанольных экстрактов из мазей

АФС, входящие в состав ЛП	λ_{\max} и λ_{\min} , найденные по спектрам поглощения АФС, нм	λ_{\max} и λ_{\min} , найденные по кривым второй производной, нм		
		АФС	модельная смесь	этанольный экстракт из мази
«Метрокетоконазол»				
Кетоконазол	204±2, 268±2, 252±2	232, 244, 240, 272	232, 308, 240, 276	232, 308, 240, 276
Метронидазол	276±2, 244±2	244, 308, 276		
«Метроклотримазол»				
Клотримазол	204±2, 260±2	228, 264	228, 308, 276	228, 308, 276
Метронидазол	276±2, 244±2	244, 308, 276		
«Метротербиназол»				
Тербинафин	220±2, 280±2, 264±2	212, 228, 220, 236, 280	228, 308, 220, 236, 276	228, 308, 220, 236, 276
Метронидазол	276±2, 244±2	244, 308, 276		

2. Количественный спектрофотометрический анализ лекарственных средств

Для проведения количественного спектрофотометрического анализа в качестве аналитических длин волн выбраны максимумы поглощения на УФ-спектрах растворов 5-НИМЗ и фторхинолонов в этиловом спирте 95%: 312 нм для метронидазола, 310 нм - тинидазола, 311 нм - орнидазола, 294 нм - офлоксацина, 280 нм - ципрофлоксацина, 296 нм – моксифлоксацина. Рассчитаны уравнения градуировочных графиков (таблица 7), на основании чего разработаны

методики спектрофотометрического количественного анализа мягких лекарственных форм с метронидазолом, тинидазолом, орнидазолом, офлоксацином, ципрофлоксацином и моксифлоксацином методом градуировочного графика (таблица 6).

Количественный спектрофотометрический анализ мазей с 5-НИМЗ и фторхинолонами проводили по *методике*: при анализе производных 5-НИМЗ к точной навеске мази (около 0,1 г) прибавляют 25 мл этилового спирта, перемешивают до получения дисперсной системы и фильтруют смесь через складчатый фильтр «синяя лента». При исследовании фторхинолонов в первоначальный объем этилового спирта вводят 1-5 мл 0,01 М раствора хлористоводородной кислоты до общего объема смеси 50 мл (или 30 мл). Данные объемы кислоты приведены в таблице 6. Далее к определенному объему полученного раствора прибавляют этиловый спирт до общего объема 10 мл. Затем измеряют оптическую плотность смеси с помощью прибора СФ-2000 при аналитических длинах волн. В качестве раствора сравнения применяют этанольный экстракт из глицерогидрогеля Тизоль[®], полученный аналогично исследованию мази. Содержание ЛС в пробе находят по уравнению градуировочного графика (таблица 6).

Таблица 6 – Условия количественного спектрофотометрического анализа производных 5-НИМЗ и фторхинолона в мягких ЛФ

Мягкая ЛФ	λ , нм	Уравнение градуировочного графика	V(общ), мл	V(HCl), 0,01 М, мл	V ₁ , мл	V ₂ , мл
«Тинидазоль»	310	$A = 0,0301 \cdot C$	25	-	4	10
«Метронидазоль»	312	$A = 0,0687 \cdot C$	25	-	1,6	10
«Орнидазоль»	311	$A = 0,0362 \cdot C$	25	-	3	10
«Офлоксазоль»	294	$A = 0,0817 \cdot C$	50	1	6	10
«Моксифлоксазоль»	296	$A = 0,0938 \cdot C$	30	4	3	10
«Ципрофлоксазоль»	280	$A = 0,1077 \cdot C$	50	5	5	10

Применимость разработанных методик для оценки количественного содержания производных 5-НИМЗ и фторхинолона в новых мягких ЛФ на титансодержащей основе подтверждали валидационными параметрами: специфичность, правильность, прецизионность и линейность в аналитических областях.

Спектры растворов «плацебо» (этанольный экстракт геля Тизоль[®] и этиловый спирт 95%) не содержат пики характерные для растворов 5-НИМЗ и фторхинолонов в этиловом спирте 95%, что подтверждает специфичность методик.

В соответствии с данными таблицы 7 величины коэффициентов корреляции удовлетворяют критерию приемлемости $|r| \geq 0,99$, это доказывает, что разработанные методики являются линейными в аналитических областях.

Таблица 7 – Уравнения регрессии 5-НИМЗ и фторхинолонов в методе УФ-спектрофотометрии

Лекарственное средство	Уравнения регрессии	r	Аналитическая область, мкг/мл	Уравнения прямой
Метронидазол	$y = 0,0687 \cdot x + 0,0025$	0,9995	1,6-9,6	$y = 0,0687 \cdot x$
Тинидазол	$y = 0,0301 \cdot x + 0,0031$	0,9998	4,0-24,0	$y = 0,0301 \cdot x$
Орнидазол	$y = 0,0362 \cdot x + 0,0060$	0,9998	4,0-24,0	$y = 0,0362 \cdot x$
Офлоксацин	$y = 0,0817 \cdot x + 0,0140$	0,9997	1,6-9,6	$y = 0,0817 \cdot x$
Ципрофлоксацин	$y = 0,1077 \cdot x + 0,0097$	0,9999	1,6-9,6	$y = 0,1077 \cdot x$
Моксифлоксацин	$y = 0,0938 \cdot x - 0,0003$	0,9981	1,6-9,6	$y = 0,0938 \cdot x$

Величины относительных стандартных отклонений не превышают 5%, что подтверждает прецизионность валидируемых методик количественного спектрофотометрического анализа мазей с 5-НИМЗ и фторхинолонами в условиях повторяемости, так как полученные результаты не отягощены случайными ошибками (таблица 8).

На основании результатов повторяемости вычисляли величину критерия Стьюдента ($t_{\text{выч}}$) и сравнивали с табличным значением $t(95\%,7) = 2,37$. Поскольку для всех образцов мазей справедливо неравенство $t_{\text{выч}} < t(95\%,7)$, разработанные методики свободны от систематических ошибок и могут быть признаны правильными.

Таблица 8 – Метрологические характеристики методик количественного анализа мягких ЛФ с производными 5-НИМЗ и фторхинолона

Лекарственное средство	n	f	\bar{X} , г/10 г	S	$S\bar{x}$	S_r , %	$\Delta\bar{X}$	$\varepsilon_{\text{отн}}$, %
Офлоксацин	8	7	0,0507	0,000930	0,000329	1,83	0,00078	$\pm 1,54$
Метронидазол	8	7	0,1008	0,00198	0,000698	1,96	0,0017	$\pm 1,64$
Ципрофлоксацин	8	7	0,0504	0,000954	0,000337	1,89	0,00080	$\pm 1,59$
Орнидазол	8	7	0,1016	0,00201	0,000711	1,98	0,0017	$\pm 1,66$
Моксифлоксацин	8	7	0,0506	0,000910	0,000322	1,80	0,00076	$\pm 1,51$
Тинидазол	8	7	0,0995	0,00179	0,000634	1,80	0,0015	$\pm 1,51$

Расчетные значения критериев Фишера не превышают табличных значений для доверительной вероятности 95% и заданного числа измерений. Относительные стандартные отклонения имеют величины менее 5%. Следовательно, полученные результаты свидетельствуют об удовлетворительной воспроизводимости предлагаемых аналитических методик.

Таким образом, разработанные методики спектрофотометрического количественного анализа ЛС соответствуют всем валидационным параметрам – являются специфичными, правильными, прецизионными и линейными в аналитических областях, что подтверждает их применимость для оценки количественного содержания производных 5-НИМЗ и фторхинолона в новых мягких ЛФ, изготовленных на глицерогидрогеле Тизоль®.

Предложен метод К. Фирордта и его упрощенный вариант для количественного анализа мягких лекарственных форм с производными имидазола, триазола и N-метилнафталина. Выбраны аналитические длины волн (262 нм для итраконазола, 241 нм – кетоконазола, 260 нм – клотримазола, 223 нм – тербинафина гидрохлорида, 261 нм – флуконазола, 312 нм – метронидазола и 310 нм – тинидазола), оптимальный растворитель (этиловый спирт 95%) и составлены системы уравнений К. Фирордта на основании вычисленных величин молярных коэффициентов в максимумах поглощения.

Количественный спектрофотометрический анализ мягких ЛФ «Метрокетоконазол», «Метроклотримазоль» проводили по методике: к точной навеске мази около 0,1 г добавляют 25мл этилового спирта 95% и смесь перемешивают до получения дисперсной системы. После растворения ЛП полученную смесь фильтруют через бумажный складчатый фильтр. Далее к 4мл фильтрата прибавляют этиловый спирт 95% до получения общего объема 10 мл и раствор спектрофотометрируют при аналитических длинах волн.

Разработаны методики спектрофотометрического количественного анализа мягких лекарственных форм с производными имидазола, триазола и N-метилнафталина методом К. Фирордта, позволяющие обнаружить в двухкомпонентных мазях 0,0986-0,1022 г/10 г

метронидазола и 0,0972-0,1022 г/10 г итраконазола, 0,0991-0,1025 г/10 г метронидазола и 0,0988-0,1030 г/10 г кетоконазола, 0,0995-0,1047 г/10 г метронидазола и 0,0981-0,1035 г/10 г клотримазола, 0,0969-0,1019 г/10 г метронидазола и 0,0966-0,1008 г/10 г тербинафина, 0,0979-0,1025 г/10 г метронидазола и 0,0972-0,1030 г/10 г флуконазола, 0,0999-0,1041 г/10 г тинидазола и 0,0973-0,1029 г/10 г флуконазола.

Установлены основные метрологические параметры предлагаемых аналитических методик, подтверждающие их пригодность для оценки количественного содержания ЛС в новых мягких ЛФ с глицерогидрогелем Тизоль® (таблица 9).

Таблица 9 – Метрологические характеристики методик количественного анализа мягких ЛФ с производными имидазола, триазола и N-метилнафталина

Лекарственное средство	<i>n</i>	<i>f</i>	\bar{X} , г/10 мл	<i>S</i>	$S\bar{X}$	<i>S_r</i> , %	$\Delta\bar{X}$	$\varepsilon_{отн}$, %
«Метроитраконазол»								
Метронидазол	8	7	0,1004	0,00221	0,000781	2,20	0,0018	± 1,84
Итраконазол	8	7	0,0997	0,00296	0,00105	2,97	0,0025	± 2,49
«Метрокетоконазол»								
Метронидазол	8	7	0,1008	0,00204	0,000722	2,02	0,0017	± 1,70
Кетоконазол	8	7	0,1009	0,00246	0,000871	2,44	0,0021	± 2,05
«Метроклотримазол»								
Метронидазол	8	7	0,1021	0,00309	0,00109	3,03	0,0026	± 2,54
Клотримазол	8	7	0,1008	0,00319	0,00113	2,65	0,0027	± 2,65
«Метротербиназол»								
Метронидазол	8	7	0,0994	0,00296	0,00105	2,98	0,0025	± 2,49
Тербинафин	8	7	0,0987	0,00249	0,000882	2,53	0,0021	± 2,12
«Метрофлуконазол»								
Метронидазол	8	7	0,1002	0,00269	0,000954	2,69	0,0023	± 2,26
Флуконазол	8	7	0,1001	0,00351	0,00124	3,51	0,0029	± 2,94
«Тинифлукозол»								
Тинидазол	8	7	0,1020	0,00245	0,000865	2,40	0,0021	± 2,01
Флуконазол	8	7	0,1001	0,00332	0,00117	3,31	0,0028	± 2,77

Относительные ошибки определения среднего результата с доверительной вероятностью 95% для мягких лекарственных форм не превышают 3%. Относительные стандартные отклонения имеют величины не более 5%. Установленные метрологические параметры аналитических методик, подтверждают их пригодность для количественного анализа мягких лекарственных форм на основе глицерогидрогеля Тизоль®.

3. Применение методов фармацевтического анализа для установления характеристик, обеспечивающих терапевтическую активность и безопасность лекарственных средств

Методом УФ-спектрофотометрии проведены исследования транскутанной активности мягких лекарственных форм с производными имидазола, триазола, фторхинолона и N-метилнафталина. Установлено, что наиболее полная (в пределах 80-100%) и пролонгированная (до 6-8 часов) диффузия лекарственных средств из мазей достигается при использовании титансодержащей основы (рисунок 5). Следовательно, новые мази с производными имидазола, триазола, фторхинолона и N-метилнафталина на основе глицерогидрогеля Тизоль® способны обеспечивать антимикробный, антипротозойный и антифунгицидный терапевтические эффекты.

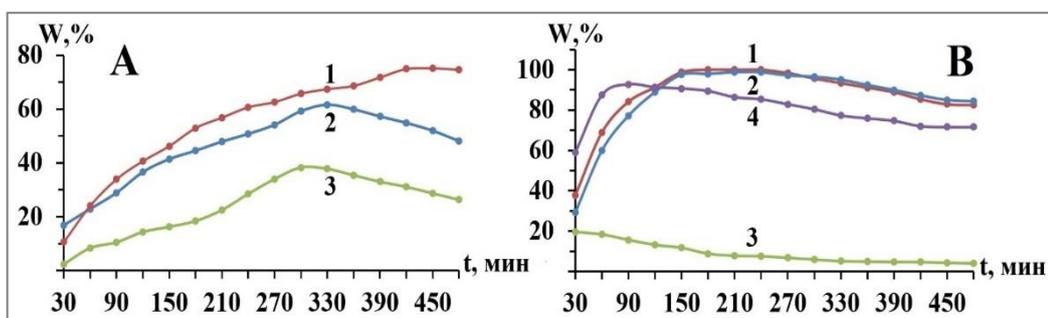


Рисунок 5 – Кинетика диффузии метронидазола (А) и тинидазола (В) из мазей
 А: 1 – мазь на глицерогидрогеле Тизоль®; 2 – гель «Метронидазол», ЗАО «Зелёная дубрава»;
 3 – мазь на вазелин-ланолиновой основе (1:1). В: 1 – мазь на глицерогидрогеле Тизоль®;
 2 – мазь из таблеток ООО «Озон»; 3 – мазь на вазелин-ланолиновой основе (1:1);
 4 – мазь на крахмально-глицериновой основе

Установлена возможность идентификации глицерогидрогеля Тизоль® безиндикаторным методом по фиолетовой флуоресценции, возникающей после УФ-облучения при длине волны 254 нм. Разработаны методики изучения транскутанной активности мягких лекарственных форм с производными имидазола, триазола, фторхинолона и N-метилнафталина, изготовленных на геле Тизоль®, с применением методов флуоресцентного анализа и гель-хроматографии в тонких агаровых слоях. На основании проведенных опытов мягкие ЛФ с производными имидазола, триазола, фторхинолона и N-метилнафталина, изготовленные на геле Тизоль®, характеризуются широкими радиусами проникновения ЛС в тонкие слои агара – от 20 мм до 26 мм, что подтверждает их высокую транскутанную активность и возможность обеспечивать антимикробное, антипротозойное и антифунгицидное действие.

Таблица 10 – Результаты вычисления параметров стабильности мазей

λ_{\max} , нм	Оцениваемые параметры		Опытные данные		
			0 мес.	6 мес.	12 мес.
«Метронидазол»					
312	X, г/10 г	0,1000	0,0994	0,0997	0,0996
	$\varepsilon(312)$	8740	8687,56	8705,04	8710,87
«Орнидазол»					
311	X, г/10 г	0,1000	0,0996	0,0997	0,0995
	$\varepsilon(311)$	8965	8926,16	8938,11	8920,18
«Тинидазол»					
310	X, г/10 г	0,1000	0,0996	0,0996	0,0996
	$\varepsilon(310)$	8393	8357,21	8360	8360
«Офлоксазол»					
294	X, г/10 г	0,0500	0,0498	0,0498	0,0498
	$\varepsilon(294)$	29568	29449,73	29439,87	29430,02
«Ципрофлоксазол»					
280	X, г/10 г	0,0500	0,0498	0,0498	0,0497
	$\varepsilon(280)$	34454,25	34281,98	34281,98	34247,52
«Моксифлоксазол»					
296	X, г/10 г	0,0500	0,0498	0,0499	0,0498
	$\varepsilon(296)$	41177	40998,60	41080,92	40998,57

Методом потенциометрии установлено, что величины водородных показателей мазей с производными имидазола, триазола, фторхинолона и N-метилнафталина находятся в диапазоне 4,28-6,47. Полученные значения pH соответствуют водородным показателям кожных покровов, что обеспечивает отсутствие раздражающего эффекта мазей с сохранением физиологических функций кожи.

Стабильность мазей оценивали спектрофотометрическим методом в соответствии с разработанными методиками качественного и количественного спектрофотометрического анализа мягких ЛФ, изготовленных на глицерогидрогеле Тизоль[®], с производными 5-НИМЗ и фторхинолона (таблица 10).

Установлено, что при хранении изучаемых мягких ЛФ в течение 1 года, количественное содержание 5-НИМЗ в 10 г мази составляет не менее 0,0995 г, фторхинолонов – 0,0497 г. Величины молярных коэффициентов светопоглощения изменяются незначительно. Анализируя полученные в ходе исследований данные, новые мази с производными 5-НИМЗ и фторхинолона могут быть рекомендованы для индивидуального изготовления в условиях аптечных организаций, так как сохраняют стабильность в течение 12 месяцев.

ВЫВОДЫ

1. Установлены положения максимумов и минимумов на спектрах поглощения метронидазола, орнидазола, тинидазола, офлоксацина, ципрофлоксацина и моксифлоксацина в 0,1 М растворах хлористоводородной кислоты и натрия гидроксида. Рассчитаны величины молярных коэффициентов светопоглощения в экстремальных точках, что позволило разработать методики идентификации мягких ЛФ с производными 5-нитроимидазола и фторхинолона.

2. Исследование по изучению вторых производных от УФ-спектров поглощения метронидазола, тинидазола, орнидазола и моксифлоксацина позволило выявить скрытый максимум при длине волны 308 нм. На основании этого разработаны методики идентификации мягких ЛФ с производными 5-нитроимидазола и фторхинолона по установлению положения максимумов и минимумов на вторых производных УФ-спектров в 0,1 М растворах хлористоводородной кислоты и натрия гидроксида и сравнению вычисленных значений молярных коэффициентов вторых производных. Показано, что методом производной спектрофотометрии могут быть идентифицированы метронидазол в смеси с клотримазолом, кетоконазолом и тербинафина гидрохлоридом в мягких ЛФ на основе глицерогидрогеля Тизоль[®] по положению максимумов и минимумов на вторых производных УФ-спектров, на основании чего разработаны методики идентификации мягких ЛФ «Метрокетоконазол», «Метроклотримазоль» и «Метротербиназол».

3. Для проведения анализа объектов исследования методом спектрофотометрии предложены аналитические длины волн этанольных растворов ЛС (312 нм для метронидазола, 310 нм - тинидазола, 311 нм - орнидазола, 294 нм - офлоксацина, 280 нм - ципрофлоксацина, 296 нм – моксифлоксацина) и уравнения градуировочных графиков. На основании этого разработаны и валидированы методики спектрофотометрического количественного определения производных 5-нитроимидазола и фторхинолона в мягких ЛФ, позволяющие анализировать их с относительной ошибкой при доверительной вероятности 95% для мази «Метронидазол» равной $\pm 1,64\%$, «Тинидазол» - $\pm 1,51\%$, «Орнидазол» - $\pm 1,66\%$, «Офлоксазоль» - $\pm 1,54\%$, «Ципрофлоксазоль» - $\pm 1,59\%$, «Моксифлоксазоль» - $\pm 1,51\%$.

4. Предложен метод К. Фирордта и его упрощенный вариант для количественного анализа мягких ЛФ с производными имидазола, триазола и N-метилнафталина. Выбраны

аналитические длины волн (262 нм для итраконазола, 241 нм – кетоконазола, 260 нм – клотримазола, 223 нм – тербинафина гидрохлорида, 261 нм – флуконазола, 312 нм – метронидазола и 310 нм – тинидазола), растворитель (этиловый спирт 95%) и составлены системы уравнений К. Фирордта. Разработаны методики спектрофотометрического количественного анализа мягких ЛФ с производными имидазола, триазола и N-метилнафталина методом К. Фирордта с относительными ошибками определения среднего результата с доверительной вероятностью 95% не превышающими 3%.

5. С применением методов спектрофотометрии, флуоресцентного анализа, хроматографии и потенциометрии определены характеристики, обеспечивающие терапевтическую активность и безопасность (транскутанная активность, рН, стабильность) мягких ЛФ на основе геля Тизоль® с производными имидазола, триазола и фторхинолона. Установлена возможность идентификации глицерогидрогеля Тизоль® безиндикаторным методом по фиолетовой флуоресценции, возникающей после УФ-облучения при длине волны 254 нм, на основании чего разработаны методики изучения транскутанной активности мягких ЛФ с производными имидазола, триазола, фторхинолона и N-метилнафталина, изготовленных на геле Тизоль®, с применением методов флуоресцентного анализа и гель-хроматографии в тонких агаровых слоях. Методами УФ-спектрофотометрии и потенциометрии подтверждено, что мягкие ЛФ под условными названиями «Метронидазоль», «Орнидазоль», «Тинидазоль», «Офлоксазоль», «Ципрофлоксазоль» и «Моксифлоксазоль» сохраняют стабильность в течение 12 месяцев и могут быть рекомендованы для индивидуального изготовления в условиях аптечных организаций.

Практические рекомендации. Результаты, полученные в ходе диссертационного исследования, будут способствовать совершенствованию подходов к стандартизации лекарственных препаратов с производными имидазола, триазола и фторхинолона и могут быть использованы в контрольно-аналитических лабораториях, центрах контроля качества и сертификации, Институтом фармакопеи и стандартизации в сфере обращения лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, а также в учебном процессе по дисциплине «Фармацевтическая химия».

Перспективы дальнейшей разработки темы заключаются в разработке научно-обоснованных подходов к стандартизации новых мазей, содержащих в составе производные имидазола, триазола и фторхинолона, с применением современных физико-химических методов, углубленном исследовании их фармакологической активности и последующем внедрении перспективных мягких лекарственных форм в практическую фармацию.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Кобелева, Т.А. Разработка способа анализа офлоксацина в комплексном препарате «Офлоксазоль» / Т.А. Кобелева, А.И. Сичко, А.И. Замаева*, Н.С. Бессонова // **Разработка и регистрация лекарственных средств.** – 2021. – Т. 10. – № 3. – С. 70-75.
2. Замаева, А.И. Спектрофотометрический количественный анализ метронидазола и итраконазола в комбинированном препарате, приготовленном на основе геля «Тизоль» / А.И. Замаева*, Н.С. Бессонова, Т.А. Кобелева, А.И. Сичко // **Аспирантский вестник Поволжья.** – 2020. – № 5-6. – С. 157-163.
3. Кобелева, Т.А. Исследования в области спектрофотометрического анализа нового лекарственного препарата «Метроклотримазоль», приготовленного на титансодержащей основе

/ Т.А. Кобелева, А.И. Сичко, А.И. Замаева*, Н.С. Бессонова // **Курский научно-практический вестник Человек и его здоровье**. – 2020. – № 1. – С. 89-95.

4. Замаева, А.И. Перспективы использования спектрофотометрии и химических методов в анализе и изучении свойств новых мягких лекарственных форм, изготовленных на глицерогидрогеле «Тизоль» / А.И. Замаева* // **Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии**. – 2022. – Т. 25. – № 9. – С. 26-33.

5. Замаева, А.И. Разработка и валидация методики количественного анализа моксифлоксацина в лекарственном препарате «Моксифлоксазоль» / А.И. Замаева*, Т.А. Кобелева, А.И. Сичко, Н.С. Бессонова, Е.М. Шаповалова // **Вопросы обеспечения качества лекарственных средств**. – 2021. – № 4 (34). – С. 13-20.

6. Замаева, А.И. Количественный спектрофотометрический анализ лекарственного препарата «Метрокетоназол» / А.И. Замаева*, Н.С. Бессонова, Т.А. Кобелева, А.И. Сичко // **Вопросы обеспечения качества лекарственных средств**. – 2020. – № 4(30). – С. 21-27.

7. Замаева, А.И. Количественный анализ и стабильность новой лекарственной формы «Метронидазол» / А.И. Замаева*, Н.С. Бессонова, Т.А. Кобелева, А.И. Сичко // **Вестник Смоленской государственной медицинской академии**. – 2020. – Т. 19. – № 2. – С. 155-162.

8. Замаева, А.И. Исследование в области анализа мягкой лекарственной формы «Метротербиназол», используемой в медицинской практике / А.И. Замаева*, Н.С. Бессонова, Т.А. Кобелева, А.И. Сичко // **Медицинская наука и образование Урала**. – 2020. – Т. 21, № 3(103). – С. 32-36.

9. Замаева, А.И. Спектрофотометрический анализ метронидазола и тербинафина в трехкомпонентной мази / А. И. Замаева* // **Неделя молодежной науки - 2020: Материалы Всероссийского научного форума с международным участием, посвященного 75-летию победы в Великой Отечественной войне, Тюмень, 20 мая 2020 года**. – Тюмень, 2020. – С. 66-67.

10. Замаева, А.И. Спектрофотометрическое определение содержания орнидазола в мягкой лекарственной форме «Орнидазол» / А.И. Замаева*, П.В. Вострцова // **Неделя молодежной науки - 2021: Материалы Всероссийского научного форума с международным участием, посвященного медицинским работникам, оказывающим помощь в борьбе с коронавирусной инфекцией, Тюмень, 26–28 марта 2021 года**. – Тюмень, 2021. – С. 67-68.

11. Лебедева, Ю.С. Количественный анализ ципрофлоксацина в мази с гелем «Тизоль» / Ю.С. Лебедева, А.И. Замаева* // **Неделя молодежной науки – 2021: Материалы Всероссийского научного форума с международным участием, посвященного медицинским работникам, оказывающим помощь в борьбе с коронавирусной инфекцией, Тюмень, 26–28 марта 2021 года**. – Тюмень, 2021. – С. 68.

12. Соцких, А.А. Изучение оптических параметров и стабильности офлоксацина в мази на титансодержащей основе / А.А. Соцких, А.И. Замаева* // **Неделя молодежной науки - 2021: Материалы Всероссийского научного форума с международным участием, посвященного медицинским работникам, оказывающим помощь в борьбе с коронавирусной инфекцией, Тюмень, 26–28 марта 2021 года**. – Тюмень, 2021. – С. 72-73.

13. Замаева, А.И. Обнаружение моксифлоксацина в мази на тизольной основе спектрофотометрическим методом / А.И. Замаева* // **Неделя молодежной науки - 2021: Материалы Всероссийского научного форума с международным участием, посвященного медицинским работникам, оказывающим помощь в борьбе с коронавирусной инфекцией, Тюмень, 26–28 марта 2021 года**. – Тюмень, 2021. – С. 325.

14. Замараева, А.И. Изучение диффузии новых титансодержащих комплексных препаратов некоторых производных 5-нитроимидазола и бета-адреноблокаторов на твёрдых и гелевых носителях / А.И. Замараева*, М.И. Попова, Т.А. Кобелева, А.И. Сичко // Наукосфера. – 2022. – № 2-1. – С. 1-6.
15. Соцких, А.А. Исследование интенсивности высвобождения офлоксацина из мазей методом равновесного диализа / А.А. Соцких, А.И. Замараева* // Неделя молодежной науки - 2022: Материалы Всероссийского научного форума с международным участием, Тюмень, 24–26 марта 2022 года. – Тюмень, 2022. – С. 71-72.
16. Замараева, А.И. Определение степени диализа лекарственной композиции метронидазола и клотримазола из некоторых мазевых основ / А.И. Замараева* // Неделя молодежной науки - 2022: Материалы Всероссийского научного форума с международным участием, Тюмень, 24–26 марта 2022 года. – Тюмень, 2022. – С. 285-286.
17. Замараева, А.И. Использование производной спектрофотометрии для качественного анализа 5-нитроимидазолов в мягких лекарственных формах / А.И. Замараева*, Т.Н. Цокова, Т.А. Кобелева, А.И. Сичко // Наукосфера. – 2022. – № 6-1. – С. 60-66.
18. Копылова, А.И. Сравнительная оценка кинетики диффузии метронидазола и пропранолола из мягких лекарственных форм, изготовленных на некоторых современных трансдермальных проводниках / А.И. Копылова, М.И. Попова, Т.А. Кобелева [и др.] // Наукосфера. – 2022. – № 11-1. – С. 293-299.
19. Кобелева, Т.А. Актуальность применения геля «Тизоль» в изготовлении мазей и спектрофотометрии в исследовании лекарственных форм, приготовленных на титансодержащей основе / Т.А. Кобелева, А.И. Замараева*, А.И. Сичко, Н.С. Бессонова // Монография: Инновационное развитие: потенциал науки, бизнеса, образования / Под общей редакцией Г.Ю. Гуляева. – Пенза, 2021. – С. 186-240.
20. Замараева, А.И. Качественный анализ метронидазола в мягкой лекарственной форме с гелем «Тизоль» / А.И. Замараева*, Н.С. Бессонова, Т.А. Кобелева, А.И. Сичко // Материалы VIII Всероссийской научно-практической конференции «Беликовские чтения». – Пятигорск, 2020. – С. 57-65.
21. Замараева, А.И. Изучение стабильности и количественный анализ лекарственного препарата «Тинидазол», приготовленного на фармакологически активной основе / А.И. Замараева*, Н.С. Бессонова, Т.А. Кобелева, А.И. Сичко // Медицина и фармацевтика. – 2020. – № 9(20). – С. 4-19.
22. Замараева, А.И. Количественное определение тинидазола и флуконазола в мягкой трёхкомпонентной лекарственной форме / А.И. Замараева*, Н.С. Бессонова, Т.А. Кобелева, А.И. Сичко // Научный форум: медицина, биология и химия: сборник статей по материалам XXXVI международной научно-практической конференции, Москва, 23 ноября 2020 года. Том 8(36). – Москва, 2020. – С. 4-14.
23. Замараева, А.И. Спектрофотометрический количественный анализ флуконазола и метронидазола в комбинированном химиотерапевтическом препарате / А.И. Замараева*, Н.С. Бессонова, Т.А. Кобелева, А.И. Сичко // Инновационные подходы в современной науке: сборник статей по материалам LXXXIII международной научно-практической конференции, Москва, 04 декабря 2020 года. Том 23 (83). – Москва, 2020. – С. 77-87.
24. Замараева, А.И. Идентификация орнидазола в новой мягкой лекарственной форме на титансодержащей основе с использованием спектрофотометрии / А.И. Замараева*, Н.С. Бессонова, Т.А. Кобелева, А.И. Сичко // Наука и инновации в XXI веке: актуальные вопросы,

открытия и достижения: сборник статей XXIII Международной научно-практической конференции, Пенза, 12 февраля 2021 года. – Пенза, 2021. – С. 208-211.

25. Замаева, А.И. Идентификация ципрофлоксацина и изучение стабильности нового лекарственного средства «Ципрофлоксазоль» / А.И. Замаева*, Н.С. Бессонова, Т.А. Кобелева [и др.] // International scientific review of the problems and prospects of modern science and education, Boston, 21–22 марта 2021 года / LXXIX International correspondence scientific and practical conference. – Boston, 2021. – С. 39-43.

26. Замаева, А.И. Количественный анализ орнидазола и изучение стабильности титансодержащей мази «Орнидазоль» / А.И. Замаева*, Т.А. Кобелева, А.И. Сичко, Е.М. Шаповалова // Ломоносовские чтения. актуальные вопросы фундаментальных и прикладных исследований: сборник статей VI Международной научно-практической конференции, Петрозаводск, 15 апреля 2021 года. – Петрозаводск, 2021. – С. 204-214.

27. Замаева, А.И. Качественный спектрофотометрический анализ моксифлоксацина и стабильность лекарственной мази «Моксифлоксазоль» / А.И. Замаева*, Т.А. Кобелева, Е.М. Шаповалова, М.И. Попова // Современные научные исследования: актуальные вопросы, достижения и инновации: сборник статей XVIII Международной научно-практической конференции, Пенза, 20 апреля 2021 года. – Пенза, 2021. – С. 271-275.

28. Замаева, А.И. Рассмотрение диализа некоторых антибиотиков производных фторхинолона из новых мягких лекарственных форм / А.И. Замаева*, Т.А. Кобелева, Н.С. Бессонова, А.И. Сичко // Новые научные исследования: сборник статей VI Международной научно-практической конференции, Пенза, 27 декабря 2021 года. – Пенза, 2021. – С. 232-235.

29. Замаева, А.И. Исследования кинетики диффузии орнидазола и соталола из новых мягких лекарственных форм, приготовленных на аквагеле титана / А.И. Замаева*, М.И. Попова, Т.А. Кобелева, А.И. Сичко // Актуальные исследования. – 2021. – № 51(78). – С. 56-61.

30. Замаева, А.И. Сравнительная характеристика высвобождения композиции метронидазола и кетоконазола из мазевых основ / А.И. Замаева*, Т.А. Кобелева, А.И. Сичко // Фундаментальные и прикладные исследования в науке и образовании: сборник статей по итогам Международной научно-практической конференции, Магнитогорск, 14 января 2022 года. Часть 1. – Стерлитамак, 2022. – С. 199-203.

31. Замаева, А.И. Исследования высвобождения метронидазола и тинидазола из новых мягких лекарственных форм, полученных на гидрофильных и гидрофобных основах / А.И. Замаева*, Н.С. Бессонова, Т.А. Кобелева, А.И. Сичко // Фундаментальные научные исследования: сборник научных трудов по материалам XLIII Международной научно-практической конференции, Анапа, 15 декабря 2021 года. – Анапа, 2021. – С. 60-67.

32. Замаева, А.И. Изучение степени высвобождения метронидазола и тербинафина из мазевой композиции антимикробного и антифунгицидного действия «Метротербиназоль» / А.И. Замаева*, Н.С. Бессонова, Т.А. Кобелева, А.И. Сичко // Universum: медицина и фармакология. – 2022. – № 2(85). – С. 22-25.

33. Замаева, А.И. Изучение физико-химических параметров новых мазей с некоторыми химиотерапевтическими препаратами / А.И. Замаева*, Т.А. Кобелева, А.И. Сичко, Н.С. Бессонова // Интернаука. – 2022. – № 9-1(232). – С. 28-32.

34. Замаева, А.И. Применение второй производной спектрофотометрии для идентификации лекарственных средств производных фторхинолона в мазях / А.И. Замаева*, Т.А. Кобелева, А.И. Сичко // Научный Лидер. – 2022. – № 23(68). – С. 174-178.

* - А.И. Замаева – далее А.И. Копылова