

КАЧАЛКИН МАКСИМ НИКОЛАЕВИЧ

**РАЗРАБОТКА СОРБЕНТОВ ДЛЯ ТВЕРДОФАЗНОЙ
ЭКСТРАКЦИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ,
СОДЕРЖАЩИХ АРОМАТИЧЕСКИЕ КАРБОНОВЫЕ
КИСЛОТЫ И ИХ ПРОИЗВОДНЫЕ**

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата фармацевтических наук

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

Доктор фармацевтических наук, доцент **Воронин Александр Васильевич**

Официальные оппоненты:

Кобелева Татьяна Алексеевна – доктор фармацевтических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой химии и фармакогнозии.

Марахова Анна Игоревна – доктор фармацевтических наук, доцент, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», Институт биохимической технологии и нанотехнологии, профессор.

Ведущая организация: федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), Москва.

Защита диссертации состоится «__» _____ 20__ 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/2024/>) федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Автореферат разослан «__» _____ 20__ г.

Ученый секретарь диссертационного совета,

кандидат фармацевтических наук, доцент

Жданова Алина Валитовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Формулирование и развитие принципов стандартизации лекарственных средств обеспечивает их терапевтическую активность и безопасность. Одним из ключевых элементов стандартизации является разработка новых, совершенствование, унификация существующих методов контроля качества лекарственных средств на этапах их разработки, производства и потребления [Чупандина Е.Е., 2014]. В контроле качества лекарственных средств важным является наличие воспроизводимых и экономичных методик пробоподготовки и анализа многокомпонентных лекарственных препаратов [Гриневич С.В., 2022, Bosire G.O. et.al., 2020]. При их исследовании стадия пробоподготовки образца является наиболее трудоемкой и определяющей чувствительность и селективность последующего инструментального анализа [Воронин А.В. и др. 2020].

Одним из перспективных вариантов пробоподготовки в контроле качества лекарственных средств синтетического и природного происхождения, эколого-фармацевтического мониторинге, биоаналитических исследованиях является твердофазная экстракция (ТФЭ), позволяющая за счет использования сорбентов и подбора условий экстракции осуществлять изолирование и/или очистку аналитов различной химической природы [Clark J.A. et.al., 2011, Федотов П.С. и др. 2019].

В качестве сорбентов для ТФЭ используются различные материалы на основе силикагеля, оксида алюминия и синтетические полимерные сорбенты. В последнее время широко применяются полимерные сорбенты, благодаря их химической стабильности, широкому диапазону физико-химических характеристик и возможности их целенаправленного дизайна, определяющего параметры селективности [Huck C.W. et.al., 2000, Khan A.N. et.al., 2012].

Ароматические карбоновые кислоты и их производные нашли применение в качестве активных фармацевтических субстанций при производстве лекарственных средств. На фармацевтическом рынке РФ представлен ряд комбинированных лекарственных препаратов, содержащих бензойную, салициловую, ацетилсалициловую кислоты, бензокаин, прокаин и их комбинации. Для вышеуказанной группы препаратов в анализе применяются в основном аналитические методы, связанные с разделением компонентов, например, хроматографические методы и капиллярный электрофорез. Для реализации инструментальных хроматографических методов анализа необходимо дорогостоящее аналитическое оборудование, что вместе с нехваткой квалифицированных специалистов-операторов, препятствует масштабному внедрению этих методов в рутинную практику [Плетенева Т.В., 2018].

Таким образом, разработка сорбентов на основе производных целлюлозы для ТФЭ ароматических карбоновых кислот и их производных, а также оценка аналитических возможностей методик количественного анализа с использованием для пробоподготовки вышеуказанных сорбентов является важной научной задачей специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Степень разработанности темы. В ряде работ рассматриваются методологические подходы и аналитические приемы к исследованию многокомпонентных лекарственных средств, приводятся методики пробоподготовки, анализа и этапы их разработки [Campíns-Falco P. et.al., 2006, Badawy M. et.al., 2022]. Большинство работ посвящено применению ТФЭ при исследовании объектов окружающей среды в рамках эколого-фармацевтического мониторинга [Kafeenah H. et.al., 2016, Mukhtar N.H. et.al. 2016, Nie. W., 2019, Badawy M et.al., 2022]. Отсутствуют методики анализа с использованием ТФЭ, направленные на решение задач в контроле качества лекарственных средств при их разработке и производстве. Практически не рассматриваются варианты анализа, в основе которых лежит повышение уровня селективности на этапе пробоподготовки анализируемого объекта [Moon H. et.al., 2021]. В связи с этим совершенствование аналитических методик в контроле качества лекарственных средств путем включения этапа пробоподготовки с применением селективных сорбентов и последующим определением целевых веществ методом спектрофотометрии, является экономически и организационно целесообразной альтернативой инструментальным хроматографическим методам.

Цель исследования. Целью настоящей диссертационной работы является разработка и оценка применения сорбентов для твердофазной экстракции на основе производных целлюлозы в анализе лекарственных средств, содержащих ароматические карбоновые кислоты и их производные.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие задачи:

1. Разработка способов получения сорбентов на основе гипромеллозы и этилцеллюлозы для твердофазной экстракции лекарственных средств, содержащих ароматические карбоновые кислоты и их производные – бензойную, салициловую и ацетилсалициловую кислоты, прокаин и бензокаин.

2. Определение структурных и функциональных характеристик сорбентов, полученных на основе гипромеллозы и этилцеллюлозы.

3. Определение параметров твердофазной экстракции лекарственных средств, содержащих ароматические карбоновые кислоты и их производные, на полученных сорбентах.

4. Разработка методик количественного анализа лекарственных средств, содержащих ароматические карбоновые кислоты и их производные, с применением для пробоподготовки гипромеллозных и этилцеллюлозных сорбентов.

5. Разработка математических моделей для прогнозирования величины сорбционной емкости гипромеллозных и этилцеллюлозных сорбентов (на примере ароматических карбоновых кислот и их производных).

Научная новизна. Впервые получены образцы сорбентов на основе гипромеллозы и этилцеллюлозы для ТФЭ бензойной, салициловой, ацетилсалициловой кислот, бензокаина и прокаина.

Исследованы структурные (химическое строение, порозиметрические параметры) и функциональные (сорбционная емкость, селективность) характеристики сорбентов на основе гипромеллозы и этилцеллюлозы.

Установлено, что образцы сорбентов на основе гипромеллозы и этилцеллюлозы с максимальным уровнем «упаковки» пор имеют максимальное значение сорбционной емкости по анализируемым веществам.

Выявлена статистически значимая связь между молекулярными дескрипторами ароматических карбоновых кислот и их производных: коэффициентом липофильности, общей площади поверхности молекулы, коэффициентом молекулярной рефракции и значением сорбционной емкости гипромеллозных сорбентов.

Получены математические модели для прогнозирования значений сорбционной емкости гипромеллозных и этилцеллюлозных сорбентов на основе величин молекулярных дескрипторов ароматических карбоновых кислот и ряда их производных, а также на основе порозиметрических характеристик сорбентов (удельной площади поверхности, общего объема и среднего диаметра пор).

Теоретическая и практическая значимость.

Теоретическая значимость заключается в направленном получении полимерных сорбентов на основе производных целлюлозы для разделения ароматических карбоновых кислот и их производных в формате ТФЭ. На основе математического моделирования предложены варианты прогнозирования ключевых параметров сорбентов, определяющих эффективность их применение в аналитической практике.

Предложен способ получения сорбентов на основе гипромеллозы и этилцеллюлозы для ТФЭ бензойной, салициловой, ацетилсалициловой кислот,

бензокаина и прокаина. Получен патент на изобретение «Способ получения селективного сорбента для твердофазной экстракции» (Патент RU 2765188 С1: заявл. 03.11.2020: опубликовано 26.01.2022 г.).

Предложен вариант пробоподготовки лекарственных препаратов с ароматическими карбоновыми кислотами и их производными методом ТФЭ на гипромеллозных и этилцеллюлозных сорбентах в режиме ступенчатого элюирования водой очищенной и элюентами, обеспечивающих ионизацию анализируемых веществ.

Разработаны аналитические методики количественного определения ароматических карбоновых кислот и их производных в лекарственных препаратах «Ацербин», «Колломак», «Кофеин-бензоат натрия», «Аскофен УЛЬТРА», «Цитрамон П», «Меновазин», «Беллалгин» и «Белластезин». Данные методики основаны на пробоподготовке методом ТФЭ на полученных сорбентах с последующим спектрофотометрическим количественным определением целевых аналитов.

На примере лекарственных препаратов, содержащих ароматические карбоновые кислоты и их производные, проведена сравнительная метрологическая оценка аналитических методик с использованием этапа ТФЭ и аналитических методик, исключаяющих данный этап.

Личный вклад автора. Результаты экспериментальных исследований, представленные в диссертации, получены автором лично, либо при его непосредственном участии. Автором представлены методики получения сорбентов для твердофазной экстракции ароматических карбоновых кислот и их производных, проведены структурные исследования полученных сорбентом методами ИК-спектрометрии, газоадсорбционной порозиметрии, сканирующей электронной микроскопии с полевой эмиссией, разработаны аналитические методики количественного определения бензойной, салициловой, ацетилсалициловой кислот, бензокаина и прокаина в комбинированных лекарственных препаратах, исследованы закономерности сорбции ароматических карбоновых кислот и их производных на этилцеллюлозных и гипромеллозных сорбентах.

Связь задач исследования с планом научно-исследовательской работы. Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательской работы ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России «Химико-фармацевтические, биотехнологические, фармакологические и организационно-экономические исследования по разработке, анализу и применению фармацевтических субстанций и лекарственных препаратов» (№ государственного учета АААА-А19-119051490148-7).

Публикации. Опубликовано 9 научных работ, в том числе 4 работы в изданиях, включенных ВАК в перечень рецензируемых научных изданий, из них 1 статья в журнале, включенном в МБД. Получен 1 патент на изобретение.

Внедрение результатов исследования. Спектрофотометрические методики количественного определения лекарственных средств, содержащих ароматические карбоновые кислоты и их производные, с применением сорбентов для ТФЭ на этапе пробоподготовки апробированы и внедрены в практическую деятельность ООО «Самарская фармацевтическая фабрика» (акт внедрения от 26.12.2023 г.) и ООО «Лекарь» (акт внедрения от 26.12.2023 г.), государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области» (акт внедрения от 15.12.2023 г.), учебный процесс в Пермской государственной фармацевтической академии (акт внедрения от 15.12.2023 г.), Башкирском государственном медицинском университете (акт внедрения от 22.12.2023 г.).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Диссертационная работа соответствует п. 3 паспорта научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Методология и методы исследования. Методологическая основа исследования заключалась в научном поиске оптимального состава сорбентов для ТФЭ-разделения лекарственных средств, содержащих ароматические карбоновые кислоты и их производные.

При выполнении диссертационного исследования были использованы методы: синтеза полимерных сорбентов на основе производных целлюлозы, определения пористости методом адсорбции-десорбции азота, электронной микроскопии с полевой эмиссией, твердофазной экстракции (сорбции), УФ-спектрофотометрии.

Для статистической обработки полученных результатов использовали обработку выборок методами вариационной статистики, регрессионный и корреляционный анализы.

Положения, выдвигаемые на защиту:

- способ получения сорбентов с заданными параметрами селективности на основе гипромеллозы и этилцеллюлозы для ТФЭ бензойной, салициловой, ацетилсалициловой кислот, бензокаина и прокаина;
- структурные и функциональные характеристики полученных сорбентов на основе гипромеллозы и этилцеллюлозы;
- варианты пробоподготовки методом ТФЭ на гипромеллозных и этилцеллюлозных сорбентах в анализе лекарственных препаратов с ароматическими карбоновыми кислотами и их производными;

- сравнительная метрологическая оценка аналитических методик для лекарственных препаратов «Ацербин», «Колломак», «Кофеин-бензоат натрия», «Аскофен УЛЬТРА», «Цитрамон П», «Меновазин», «Беллалгин» и «Белластезин» с использованием этапа ТФЭ и методик, исключая данный этап;
- математические модели прогнозирования сорбционной емкости гипромеллозных и этилцеллюлозных сорбентов для ТФЭ ароматических карбоновых кислот и их производных.

Степень достоверности научных положений определяется представительностью и достоверностью первичных аналитических данных; корректностью сбора информации; широким использованием современных физико-химических методов анализа и статистических методов исследования; репрезентативностью выборки; апробацией и подтвержденным внедрением результатов в практику. Для обработки результатов исследований использованы методы статистического анализа данных. Сформулированные в диссертации выводы аргументированы и логически вытекают из результатов анализа и четко аргументированы.

Апробация результатов. Основные результаты работы доложены на следующих конференциях: Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Аспирантские чтения: молодые ученые — медицине» (Самара; 2021, 2022), Международной конференции «3rd European Congress on Chemistry and Applied Sciences» (Рим, 2023), Международной научно-практической конференции «Инновационные подходы в современной науке» (Москва; 2023, 2024).

Объем и структура работы. Диссертационная работа изложена на 155 страницах, состоит из введения, обзора литературы, 3 глав собственных исследований, общих выводов, списка литературы и приложений. Содержит 17 таблиц, 31 рисунок. Список литературы состоит из 154 источников, в том числе 120 на иностранных языках.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Получение и исследование характеристик сорбентов на основе производных целлюлозы для твердофазной экстракции ароматических карбоновых кислот и их производных

Основным принципом «конструирования» сорбентов, направленным на обеспечение определенного уровня их селективности, было формирование активных центров связывания для целевых анализируемых веществ: бензойной, салициловой, ацетилсалициловой кислот и производных п-аминобензойной кислоты – прокаина и бензокаина. Механизм формирования центров связывания для гипромеллозных и этилцеллюлозных сорбентов был различным.

Для получения сорбентов для ТФЭ на основе гипромеллозы предложена схема, заключающаяся в растворении гипромеллозы и темплата (молекулы-шаблона) в воде очищенной, нагревании с последующей полимеризацией этилового эфира цианакриловой кислоты, центрифугировании, промывке, сушке и измельчении полученного продукта (гипромеллозного сорбента). Формирование активных центров связывания анализируемых веществ в сорбентах такого типа предположительно обеспечивают сами темплаты: в процессе тепловой коагуляции гипромеллозы происходит структурирование участков связывания. В качестве темплатов использовались потенциальные анализируемые соединения.

Для этилцеллюлозных сорбентов формирование активных центров связывания с темплатом осуществлялось посредством иммобилизации комплексных соединений меди с бензойной, салициловой и ацетилсалициловой кислотами на этилцеллюлозной матрице (за счет гидроксильных групп этилцеллюлозы).

Соответствующие образцы сравнения сорбентов (без темплатов) аналогичного состава получали параллельно в аналогичных условиях, но без добавления в реакционную среду темплатов.

На основании результатов исследования по синтезу сорбентов для ТФЭ на основе гипромеллозы получен патент на изобретение «Способ получения селективного сорбента для твердофазной экстракции».

Данные сорбенты планируются для ТФЭ-разделения ароматических карбоновых кислот и их производных в микроколоночном формате.

Для образцов сорбентов проведено исследование химического строения, макро- и микроструктуры. Исследование 75 образцов гипромеллозных сорбентов методом ИК-спектроскопии с Фурье-преобразованием показывает идентичность их структуры и структуры полиэтилцианакрилатной матрицы (рис.1, А).

ИК-спектрах гипромеллозных сорбентов всех исследуемых образцов присутствуют ряд характерных полос поглощения: 768 (C-H), 946 (-OH), 1054 (C-O-C), 2816 ($\text{C}\equiv\text{N}$) см^{-1} . Значимых различий в ИК-спектрах между сорбентами, приготовленными с применением разных темплатов, не наблюдается (рис.1, А).

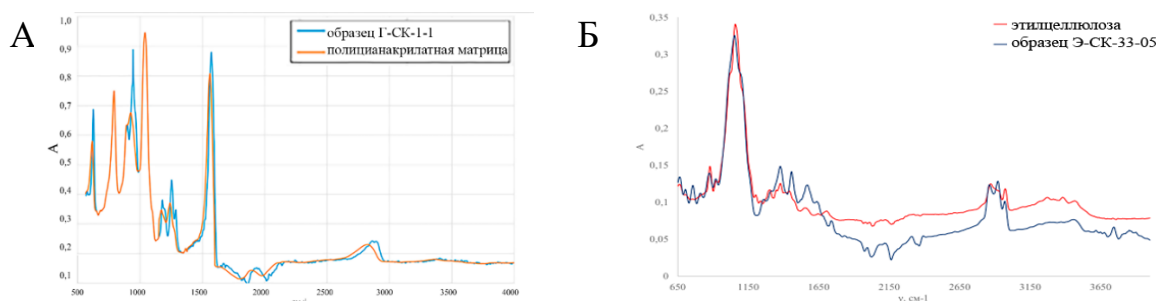


Рисунок 1 – ИК-спектр образцов сорбентов для ТФЭ, селективных к кислоте салициловой, на основе гипромеллозы (А); на основе этилцеллюлозы (Б)

Полученные результаты ИК-спектроскопии для 48 образцов этилцеллюлозных сорбентов свидетельствуют об их полной идентичности структуре этилцеллюлозной матрицы. Для них характерны следующие полосы поглощения: 875 (-OH), 1050 (C-O-C), 1375(C-H), 1450(C=O), 2850, 2915 (-OH), 2965 (-OH) см^{-1} (рис.1, Б).

Для образцов гипромеллозных сорбентов характерно наличие большого количества однородных макропор с рваными краями, при этом образец сравнения имеет однородную структуру с ровными краями. Наличие молекул ароматических карбоновых кислот и их производных в качестве темплатов в реакционной смеси значительно влияет на микроструктуру. Основной структурной единицей для таких сорбентов являются вторичные мезопоры, расположенные внутри макропор. Для образцов этилцеллюлозных сорбентов характерно наличие большого количества мезопор с активными центрами связывания, вероятно формируемых по щелевому типу. Структурными единицами являются мезопоры с размерами около 50 нм с рваными краями (рис. 2).

Удельную площадь поверхности, объем пор, средний диаметр пор определяли методом низкотемпературной сорбции/десорбции азота.

Общий объем пор сорбентов на основе гипромеллозы находится в диапазоне значений от 0,1040 до 0,1625 $\text{см}^3/\text{г}$. При этом средний диаметр пор для гипромеллозных сорбентов составляет 5,58 нм, а для этилцеллюлозных сорбентов – 46,72 нм. Образцы сорбентов имеют относительно невысокие значения удельных площадей поверхностей: 220,06-266,12 $\text{м}^2/\text{г}$ – для образцов на основе гипромеллозы и 7,60-24,50 $\text{м}^2/\text{г}$ – для образцов на основе этилцеллюлозы.

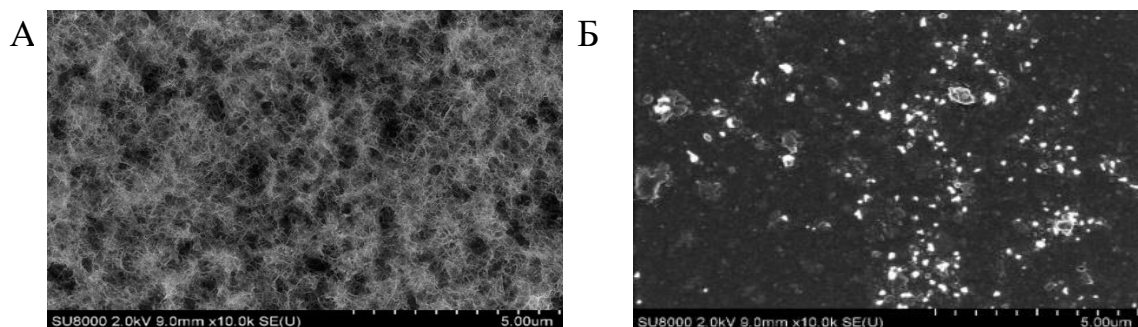


Рисунок 2 – Микрофотографии сорбентов для ТФЭ, селективных к кислоте салициловой, на основе гипромеллозы (А); на основе этилцеллюлозы (Б) (увеличение $\times 10000$)

Установлены образцы гипромеллозных и этилцеллюлозных сорбентов, имеющих максимальный уровень «упаковки» пор.

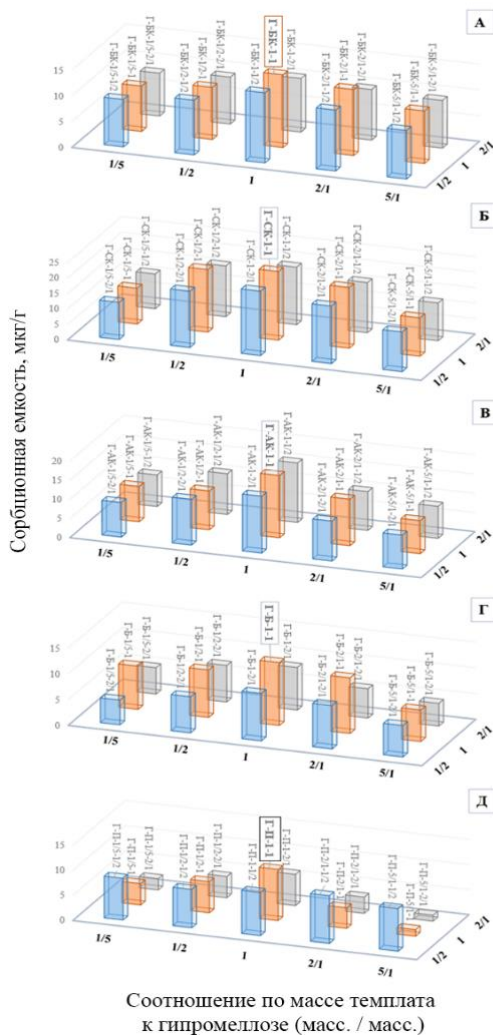
Распределение в них пор по диаметру свидетельствует о преобладании мезопор, как для гипромеллозных, так и этилцеллюлозных сорбентов, вне зависимости от химической структуры темплата (потенциального анализируемого вещества).

Разработка методик анализа лекарственных средств с применением сорбентов для твердофазной экстракции на основе производных целлюлозы

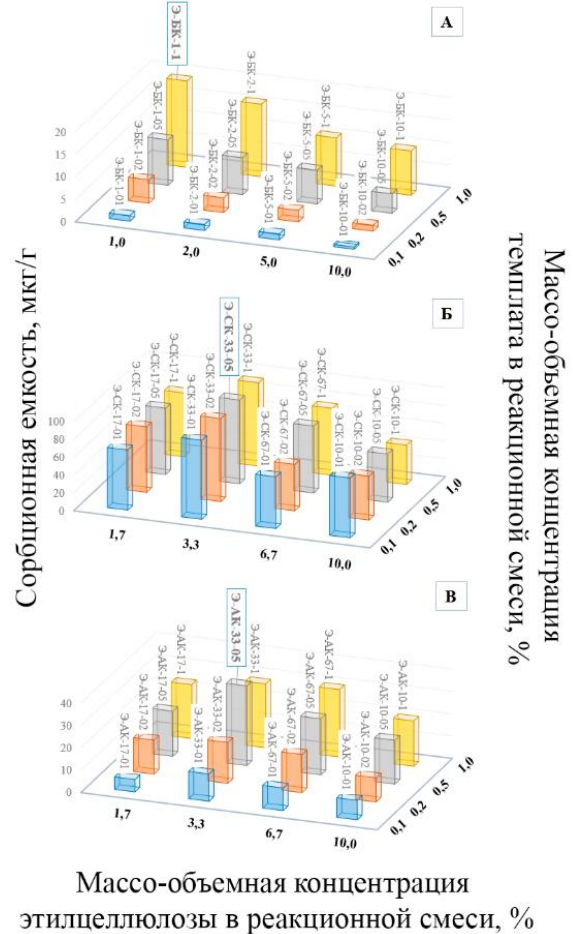
Определение сорбционной емкости проводили в условиях, планируемых для аналитических методик: микроколоночный вариант, динамический режим разделения.

На рисунке 3 (1) представлено распределение сорбционных емкостей сорбентов на основе гипромеллозы в зависимости от состава (параметров реакционной среды на этапе получения). Сорбционная емкость образцов сорбентов находилась в диапазоне значений от 8,3 мкг/г до 14,1 мкг/г для кислоты бензойной; 11,2-22,2 мкг/г – для кислоты салициловой; 8,21-16,2 мкг/г – для кислоты ацетилсалициловой; 4,4-12,2 мкг/г – для бензокаина и 1,2-10,2 – мкг/г для прокаина соответственно.

Наибольшее значение сорбционной емкости было отмечено для образца, селективного к кислоте салициловой – 22,2 мкг/г. Следует отметить, что образцы гипромеллозных сорбентов с максимальной сорбционной емкостью соответствуют образцам с максимальным уровнем «упаковки» пор.



1



2

Рисунок 3 – Распределение сорбционных емкостей образцов сорбентов на основе гипромеллозы (1) в зависимости от параметров реакционной смеси: А – кислота бензойная; Б – кислота салициловая; В – кислота ацетилсалициловая; Г – бензокаин; Д – прокаин; образцов сорбентов на основе этилцеллюлозы (2) в зависимости от параметров реакционной смеси: А – кислота бензойная; Б – кислота салициловая; В – кислота ацетилсалициловая

Сорбционная емкость этилцеллюлозных образцов находилась в диапазоне от 0,5 мкг/г до 19,2 мкг/г для кислоты бензойной, 44,2-93,5 мкг/г – для кислоты салициловой, 24,1-43,6 мкг/г – для кислоты ацетилсалициловой соответственно.

Образцы сорбентов на основе этилцеллюлозы с максимальным уровнем сорбционной емкости также соответствуют образцам с высоким уровнем «упаковки» пор.

Для исследования селективности сорбентов осуществляли ТФЭ-разделение модельных смесей, содержащих структурные аналоги ароматических карбоновых кислот, в двух режимах:

- элюирования раствором натрия гидроксида концентрации 0,1 моль/л для ароматических карбоновых кислот или раствором кислоты хлористоводородной концентрации 0,1 моль/л для прокаина и бензокаина (элюирование растворами, обеспечивающими ионизацию аналита);

- ступенчатого элюирования водой очищенной и раствором натрия гидроксида концентрации 0,1 моль/л или раствором кислоты хлористоводородной концентрации 0,1 моль/л.

На хроматограммах разделения модельных смесей на гипромеллозных сорбентах в условиях элюирования, обеспечивающего ионизацию ароматических карбоновых кислот и их структурных аналогов, наблюдали выход суммы компонентов без разделения в объеме элюента до 14 мл (на 1 г сорбента). При использовании режима ступенчатого элюирования целевые анализируемые вещества, селективно связывающиеся с сорбентами, удерживаются при элюировании водой и выходят отдельными хроматографическими зонами при элюировании растворами, обеспечивающими их ионизацию (рис. 4).

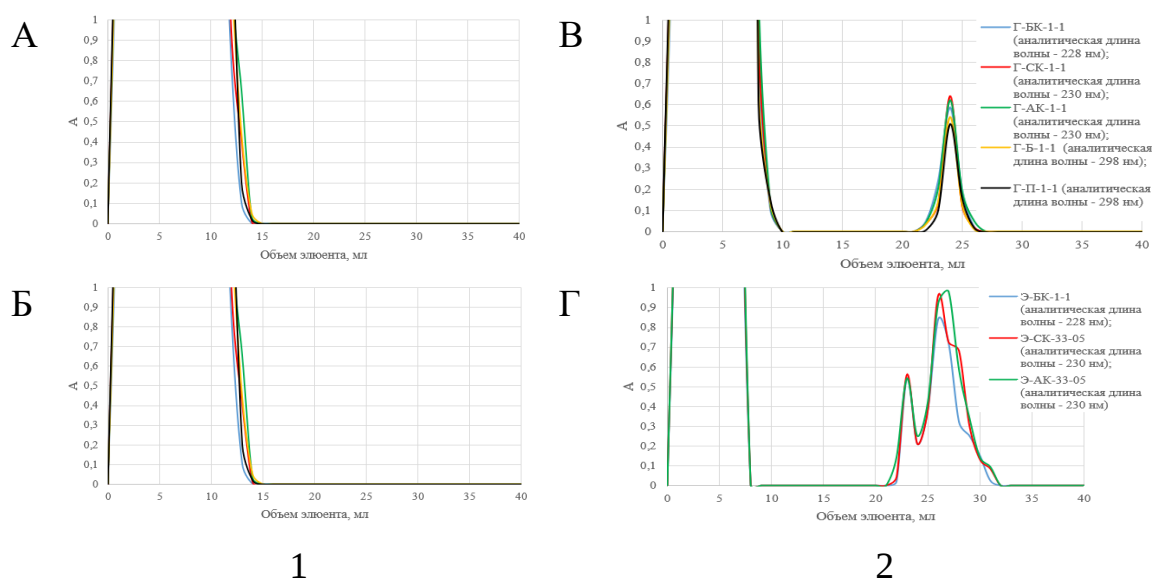


Рисунок 4 – Хроматограммы ТФЭ-разделения модельных смесей с применением сорбентов, селективных к кислоте бензойной, на основе гипромеллозы (1) и этилцеллюлозы (2) в режимах: элюирования раствором, обеспечивающим ионизацию аналита (А, Б); ступенчатого элюирования водой очищенной и раствором, обеспечивающего ионизацию аналита (В-Г)

При разделении модельных смесей на этилцеллюлозных сорбентах на хроматограммах наблюдаются «зашкаливающие» хроматографические пики интерферирующих веществ в объеме элюента до 12 мл (на 1 г сорбента) и ряд неразрешенных пиков.

При разделении на гипромеллозных сорбентах для всех анализируемых ароматических карбоновых кислот и их производных величина разрешающей способности R_s находится в диапазоне значений от 4,1 до 4,3 (по отношению к пику суммы неразделенных компонентов), коэффициент селективности α – 4,0-4,8. Для этилцеллюлозных сорбентов значения величины разрешающей способности R_s для салициловой, ацетилсалициловой, бензойной кислот составляли менее 2, что свидетельствует о неполном разделении компонентов модельных смесей, связанным с неселективным удерживанием некоторых ароматических карбоновых кислот и фенолов.

Показан высокий уровень селективности сорбентов на основе гипромеллозы к ароматическим карбоновым кислотам и их производным при ТФЭ-разделении.

Включение этапа ТФЭ в пробоподготовку комбинированных лекарственных препаратов «Ацербин» раствор для наружного применения, «Колломак» раствор для наружного применения, «Кофеина-бензоат натрия» таблетки, «Аскофен УЛЬТРА» таблетки, «Цитрамон П» таблетки, «Меновазин» раствор для наружного применения, «Беллалгин» таблетки и «Белластезин» таблетки, позволяет устранить ограничения для прямого спектрофотометрического определения целевых анализируемых веществ.

Основными параметрами, определяющими эффективность ТФЭ с использованием сорбентов на основе целлюлозы, являются значение pH элюента и его минимальный объем. В качестве критерия эффективности ТФЭ использовали степень извлечения анализируемого вещества.

При использовании сорбентов на основе гипромеллозы для пробоподготовки лекарственных препаратов, содержащих бензойную, салициловую и ацетилсалициловую кислоты, значения степени извлечения аналитов более 98% достигались при величине pH элюента, превышающей 12 (рис. 5, А).

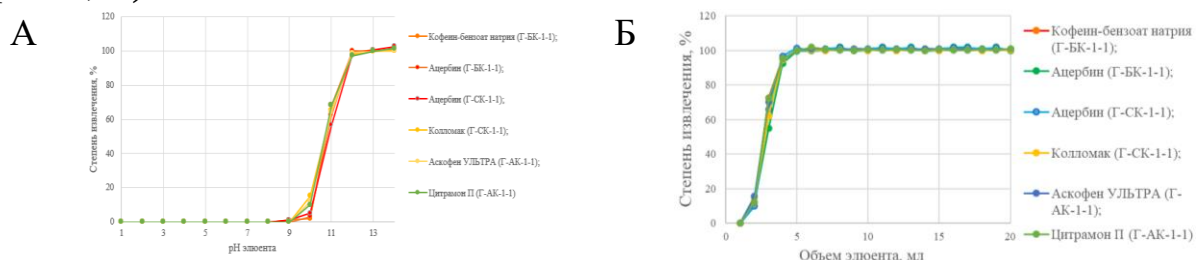


Рисунок 5 – Зависимость степени извлечения ароматических карбоновых кислот и их производных из комбинированных лекарственных препаратов от значения pH элюента (А) и объема элюента (Б)

Объем элюента до 4 мл на 1 г сорбента обеспечивал степень извлечения в диапазоне значений от 10,0% до 95,2% при определении кислоты бензойной в лекарственных препаратах «Кофеин-бензоат натрия» таблетки и «Ацербин».

В аналогичных условиях степень извлечения кислоты салициловой из лекарственных препаратов «Ацербин», «Колломак» находилось в диапазоне от 9,8% до 96,1%. При достижении объема элюента в 5 мл (на 1 г сорбента) степень извлечения достигала значений 98,6-101,2 % (рис. 5, Б).

Предложенные варианты ТФЭ применяли как основной этап пробоподготовки комбинированных лекарственных препаратов.

Этапы пробоподготовки лекарственных препаратов:

- экстракция анализируемых веществ из твердых лекарственных форм (в соответствующем растворителе);
- разведение полученного раствора (или пробы лекарственного препарата) до оптимальных уровней концентраций анализируемых веществ, не превышающих максимальную сорбционную емкость сорбента: для ароматических карбоновых кислот ориентировочно 10 мкг/мл; для бензокаина и прокаина ориентировочно 5 мкг/мл;
- процедура ТФЭ на гипромеллозном или этилцеллюлозном сорбентах (селективных к анализируемому веществу).

Была проведена метрологическая оценка методик количественного спектрофотометрического определения вышеуказанных веществ в ряде комбинированных лекарственных препаратов. Дизайн метрологического эксперимента предполагал сравнительную характеристику аналитических методик с использованием этапа ТФЭ и аналитических методик, исключающих данный этап (табл. 1).

Величина относительной ошибки при определении среднего значения содержания ароматических карбоновых кислот в лекарственных препаратах находилась в диапазонах: 2,40-10,80% – для методик сравнения (без этапа ТФЭ) и 1,03-3,64% – для методик с применением этапа ТФЭ. Таким образом, суммарная погрешность определения снижалась в среднем на 52% при использовании в пробоподготовке этапа ТФЭ.

При этом все варианты методик анализа показывают наличие статистически значимой систематической погрешности: рассчитанные значения t -критерия превышают табличное значение 2,13. Величина систематической погрешности для методик анализа с применением ТФЭ составляла 0,64-1,84%, а для методик сравнения – 1,14-5,80%, т.е. использование селективных сорбентов снижает систематическую погрешность количественного определения в среднем на 68%.

Для большинства вариантов методик наблюдали статистически значимые различия сходимости исследуемых модификаций аналитических методик: значения F -критериев находились в диапазоне от 4,15 до 13,5.

Таблица 1 – Метрологические характеристики методик количественного определения ароматических карбоновых кислот в лекарственных препаратах

Методика	<i>f</i>	<i>X̄, мг</i>	<i>X</i> _{ист, мг}	<i>s</i> ²	<i>s</i>	<i>P, %</i>	<i>t(P,t)</i>	<i>ΔX̄, мг</i>	<i>ε̄, %</i>	<i>F (P,f1,f2)</i>	<i>F</i> _{выч}	<i>t</i> _{выч}	<i>δ, %</i>
«Ацербин» / кислота бензойная													
Г-БК-1-1*	15	153,2	156,2	26,23	5,12	95	2,13	2,73	1,77	3,52	6,64	3,06	0,64
Без ТФЭ	15	156,2		174,21	13,20	95	2,13	7,03	4,50			2,44	1,30
«Кофеин-бензоат натрия» / кислота бензойная													
Г-БК-1-1	15	60,12	60,00	5,063	2,25	95	2,13	1,20	2,02	3,52	3,49	2,25	0,82
Э-БК-1-1	15	60,48		13,32	3,65	95	2,13	1,94	3,21	3,52	1,33	3,32	1,55
Без ТФЭ	15	59,26		17,68	4,22	95	2,13	2,24	3,78			3,40	1,60
«Ацербин» / кислота салициловая													
Г-СК-1-1	15	41,10	41,10	5,02	2,24	95	2,13	1,19	2,90	3,52	13,5	4,25	1,82
Без ТФЭ	15	40,62		67,90	8,24	95	2,13	4,39	10,8			7,25	5,60
«Колломак» / кислота салициловая													
Г-СК-1-1	15	2020,1	2000	2105,89	45,89	95	2,13	24,44	1,21	3,52	7,81	2,48	1,01
Э-СК-33-05	15	2042,2		2787,84	52,80	95	2,13	28,12	1,37	3,52	5,90	2,44	1,12
Без ТФЭ	15	2004,1		16442,90	128,2	95	2,13	68,28	3,41			4,20	2,80
«Аскофен Ультра» / кислота ацетилсалициловая													
Г-АК-1-1	15	250,1	250,0	23,43	4,84	95	2,13	2,56	2,03	3,52	5,35	2,25	1,12
Э-АК-33-05	15	251,8		27,98	5,29	95	2,13	2,82	2,10	3,52	4,48	2,36	1,20
Без ТФЭ	15	248,2		125,44	11,20	95	2,13	5,97	2,40			2,48	1,46
«Цитрамон П» / кислота ацетилсалициловая													
Г-АК-1-1	15	240,2	240,0	34,83	5,90	95	2,13	3,14	1,31	3,52	5,85	2,38	1,10
Э-АК-33-05	15	239,8		49,11	7,01	95	2,13	3,73	1,48	3,52	4,15	2,45	1,25
Без ТФЭ	15	241,0		203,91	14,28	95	2,13	7,60	3,06			2,84	1,14

Условные обозначения: f – число степеней свободы; $\bar{X}$ – среднее содержание аналита в лекарственном препарате, мг; s^2 – дисперсия; s – стандартное отклонение; P – доверительная вероятность, %; $t(P, f)$ – критерий Стьюдента; $\Delta\bar{X}$ – полуширина доверительного интервала среднего результата, мг; $\bar{\varepsilon}$ – относительная ошибка среднего результата, %; $F(P, f_1, f_2)$ – критерий Фишера; $F_{выч}$ – вычисленное значение критерия Фишера; $t_{выч}$ – рассчитанное значение коэффициента Стьюдента; δ – величина систематической ошибки, %;

* – аналитическая методика с применением образцов сорбентов с максимальной сорбционной емкостью.

Величина относительной ошибки при определении среднего значения содержания производных п-аминобензойной кислоты в лекарственных препаратах находилась в диапазонах: 2,34-3,29% – для методик сравнения (без этапа ТФЭ) и 1,38-1,92% – для методик с применением этапа ТФЭ. Таким образом, суммарная погрешность определения снижается в среднем на 81%

при использовании в пробоподготовке этапа ТФЭ на гипромеллозных сорбентах (табл. 2).

Таблица 2 – Метрологические характеристики методик количественного определения бензокаина и прокаина в лекарственных препаратах

Методика	f	$\bar{X}$, мг	$X_{ист}$, мг	s^2	s	P , %	$t(P,t)$	$\Delta\bar{X}$, мг	$\bar{\varepsilon}$, %	F (P, f_1, f_2)	$F_{выч}$	$t_{выч}$	δ , %
«Меновазин» / бензокаин													
Г-Б-1-1	15	501,0	500,0	174,24	13,20	95	2,13	7,029	1,40	3,52	4,68	3,23	1,20
Без ТФЭ	15	508,2		815,10	28,55	95	2,13	15,20	2,99	3,52		3,85	2,16
«Беллалгин» / бензокаин													
Г-Б-1-1	15	251,0	250,0	42,12	6,49	95	2,13	3,46	1,38	3,52	4,61	2,56	1,19
Без ТФЭ	15	258,8		194,04	13,93	95	2,13	7,42	2,87	3,52		4,24	2,43
«Белластезин» / бензокаин													
Г-Б-1-1	15	301,5	300,0	87,24	9,34	95	2,13	4,97	1,65	3,52	4,23	2,96	1,35
Без ТФЭ	15	310,6		368,64	19,20	95	2,13	10,22	3,29	3,52		3,58	2,48
«Меновазин» / прокаин													
Г-П-1-1	15	500,2	500,0	125,44	11,20	95	2,13	5,964	1,92	3,52	4,03	2,83	1,10
Без ТФЭ	15	510,2		505,80	22,49	95	2,13	11,98	2,34	3,52		3,12	2,02

Условные обозначения см. табл.1

При этом все варианты спектрофотометрических методик количественного определения бензокаина и прокаина показывают наличие статистически значимой систематической погрешности: рассчитанные значения t -критерия превышают табличное значение 2,13. Величина систематической погрешности для методик анализа с применением ТФЭ составляла: 1,10-1,30%, а для методик сравнения – 2,02-2,48%, т.е. использование селективных гипромеллозных сорбентов позволяет уменьшить систематическую погрешность количественного определения бензокаина и прокаина в лекарственных препаратах в среднем на 87,6%.

Сравнение параметров воспроизводимости (сходимости) методик спектрофотометрического количественного определения бензокаина и прокаина в лекарственных препаратах показало, что во всех вариантах методик наблюдали статистически значимые различия сходимости исследуемых модификаций аналитических методик: значения F -критериев находились в диапазоне от 4,03 до 4,68.

Разработанные аналитические методики количественного определения бензойной, салициловой, ацетилсалициловой кислот, бензокаина и прокаина в некоторых лекарственных препаратах апробированы и внедрены в работу отделов контроля качества ООО «Самарская фармацевтическая фабрика», ООО «Лекарь», государственного бюджетного учреждения здравоохранения

«Центр контроля качества лекарственных средств Самарской области», а также внедрены в учебный процесс в Самарском государственном медицинском университете, Башкирском государственном медицинском университете и Пермской государственной фармацевтической академии.

Математическое моделирование величины сорбционной емкости сорбентов на основе производных целлюлозы

Выборку химических соединений для математического моделирования (25 соединений) формировали анализируемые вещества – бензойная, салициловая, ацетилсалициловая кислоты, прокаин, бензокаин, а также дополнительный ряд соединений, состоящий из структурных аналогов вышеуказанных веществ. Все анализируемые вещества, для ТФЭ которых конструировали гипромеллозные сорбенты, на этапе получения выступали в роли темплатов (молекул-шаблонов), формирующих активные центры связывания в структуре полимерного сорбента.

Для формирования необходимого набора предикторов математической модели, описывающей зависимость между характеристиками анализируемого вещества и уровнем сорбционной емкости, был проведен расчет молекулярных дескрипторов анализируемых веществ и получен массив данных с помощью библиотеки RDkit 20230903.

Критерием отбора молекулярного дескриптора в качестве предиктора математической модели был статистически значимый коэффициент корреляции с сильным уровнем связи ($r > 0,5$).

Для гипромеллозных сорбентов по результатам корреляционного анализа нами выбрано 3 статистически значимых молекулярных дескриптора (характеристик анализируемого вещества): рассчитанные значения коэффициента липофильности *SlogP*, коэффициент молекулярной рефракции *SMR* и общая площадь поверхности молекулы *LabuteASA*.

При корреляционном анализе зависимости «молекулярный дескриптор – сорбционная емкость» этилцеллюлозных сорбентов установлена статистическая значимость только одного молекулярного дескриптора – количества атомов-доноров водородной связи. При этом величина коэффициента корреляции r была 0,58, а значение рассчитанного t -критерия 2,97 превышало его критическое значение $t_{крит}$ 2,30.

Математическая модель зависимости сорбционной емкости гипромеллозных сорбентов от значений молекулярных дескрипторов потенциальных анализируемых веществ имеет следующий вид:

$$CE = 10,956 \times SlogP - 1,056 \times SlogP^2 - 4,234 \times SMR + 0,037 \times SMR^2 + 2,91 \times LabuteASA - 0,017 \times LabuteASA^2 - 12,073, \text{ где:}$$

CE – сорбционная емкость, мкг/г;

$SlogP$ – коэффициент липофильности анализируемого вещества;

SMR – коэффициент молекулярной рефракции;

$LabuteASA$ – общая площадь поверхности молекулы, Å².

Величина коэффициента детерминации r^2 при исследовании взаимосвязи наблюдаемых и прогнозируемых значений сорбционной емкости гипромеллозных сорбентов составила 0,77, дисперсия прогнозируемого значения сорбционной емкости $s^2 = 12,17$, стандартное отклонение $s = 3,49$.

Математическая модель для прогнозирования уровня сорбционной емкости этилцеллюлозных сорбентов в зависимости от количества атомов-доноров водородной связи, имеет следующий вид:

$$CE = 26,567 \times NumHBD + 4,217, \text{ где:}$$

CE – сорбционная емкость, мкг/г;

$NumHBD$ – количество атомов-доноров водородной связи.

Величина коэффициента детерминации r^2 математической модели при исследовании взаимосвязи наблюдаемых и прогнозируемых значений сорбционной емкости этилцеллюлозных сорбентов составила 0,34, дисперсия прогнозируемой сорбционной емкости $s^2 = 267,39$, стандартное отклонение $s = 16,35$.

Корреляционный анализ показал статистическую значимую связь между сорбционной емкостью сорбентов на основе гипромеллозы и всеми порозиметрическими характеристиками: значения коэффициентов корреляции r для удельной площади поверхности, общего объема пор и среднего диаметра пор составляли 0,53, 0,62 и 0,57 соответственно.

Математическая модель прогнозирования сорбционной емкости для гипромеллозных сорбентов на основе порозиметрических характеристик имеет вид:

$$CE = 2893,02 \times УПС - 1198,91 \times ООП - 5202,01 \times ООП^2 - 61,01 \times СДП + 5,42 \times СДП^2 - 250,95, \text{ где:}$$

CE – сорбционная емкость, мкг/г;

$УПС$ – удельная поверхность сорбента, м²/г;

$ООП$ – общий объем пор, см³/г;

$СДП$ – средний диаметр пор, нм.

Коэффициент детерминации r^2 при исследовании взаимосвязи наблюдаемых и прогнозируемых значений сорбционной емкости составил 0,39, дисперсия $s^2 = 13,27$, стандартное отклонение $s = 3,64$.

Коэффициенты корреляции r взаимосвязи «порозиметрическая характеристика - сорбционная емкость» находятся в диапазоне от 0,03 до 0,23, а рассчитанные значения t -критерия свидетельствуют об отсутствии статистически значимой связи между заявленными характеристиками. Следовательно, математическое моделирование сорбционной емкости этилцеллюлозных сорбентов на основе значений их порозиметрических характеристик не является целесообразным.

ВЫВОДЫ

1. Предложен способ получения сорбентов на основе гипромеллозы для твердофазной экстракции (ТФЭ) ароматических карбоновых кислот и их производных: бензойной, салициловой, ацетилсалициловой кислот, бензокаина и прокаина; а также на основе этилцеллюлозы для ТФЭ кислот бензойной, салициловой, ацетилсалициловой.

2. Показана идентичность химической структуры сорбентов на основе гипромеллозы структуре полиэтилцианакрилатной матрицы с включением в поры молекул гипромеллозы. Для этилцеллюлозных сорбентов отмечена идентичность структуре матрицы этилцеллюлозы. Удельная площадь поверхности сорбентов на основе гипромеллозы находится в интервале 220,06-266,12 м²/г в зависимости от структуры молекулы-шаблона (темплата), а для этилцеллюлозных сорбентов – 7,60-24,50 м²/г. Средний диаметр пор находится в диапазонах 4,97-6,69 нм – для сорбентов на основе гипромеллозы и 34,76-57,52 нм – для этилцеллюлозных сорбентов соответственно. Вид молекул-шаблонов не оказывает влияния на структуру поверхности сорбентов.

3. Установлены образцы сорбентов с максимальным уровнем сорбционной емкости по бензойной (12,2 мкг/г для гипромеллозных и 48,5 мкг/г для этилцеллюлозных сорбентов), салициловой (10,8 мкг/г для гипромеллозных и 90,2 мкг/г для этилцеллюлозных сорбентов), и ацетилсалициловой кислотам (16,7 мкг/г для гипромеллозных и 38,4 мкг/л для этилцеллюлозных сорбентов), бензокаину (12,4 мкг/г для гипромеллозных сорбентов) и прокаину (10,5 мкг/г для гипромеллозных сорбентов). Показан высокий уровень селективности сорбентов на основе гипромеллозы к ароматическим карбоновым кислотам, а также к прокаину и бензокаину. Этилцеллюлозные сорбенты имели более низкий уровень селективности к ароматическим карбоновым кислотам.

4. Предложен вариант пробоподготовки методом ТФЭ на гипромеллозных и этилцеллюлозных сорбентах в режиме ступенчатого элюирования водой очищенной и элюентами, обеспечивающими ионизацию анализируемых веществ. Определены ключевые параметры ТФЭ-разделения лекарственных препаратов с ароматическими карбоновыми кислотами и их производными на гипромеллозных и этилцеллюлозных сорбентах: в качестве элюентов, обеспечивающих ионизацию аналитов, для бензойной, салициловой и ацетилсалициловой кислот необходимо использовать раствор гидроксида натрия концентрации 0,1 моль/л, а для бензокаина и прокаина – раствор кислоты хлористоводородной концентрации 0,1 моль/л. Минимальный объем,

обеспечивающий полноту десорбции (максимальную степень извлечения) анализируемых веществ составляет 5 мл на 1 г сорбента.

5. Проведена сравнительная метрологическая оценка аналитических методик для некоторых лекарственных препаратов, содержащих ароматические карбоновые кислоты и их производные, с использованием этапа ТФЭ и аналитических методик, исключая данный этап. Для аналитических методик с этапом ТФЭ суммарная погрешность определения снижается в среднем на 52,0% – для ароматических карбоновых кислот и на 81,0% – для прокаина и бензокаина соответственно; систематическая погрешность снижается в среднем на 68,0% – для ароматических карбоновых кислот и на 86,7% – для прокаина и бензокаина соответственно. Для большинства сравниваемых методик наблюдали статистически значимые различия параметров сходимости.

6. На примере ароматических карбоновых кислот и их производных установлена статистически значимая связь между молекулярными дескрипторами (характеристиками анализируемого вещества): коэффициентом липофильности, общей площадью поверхности молекулы, коэффициентом молекулярной рефракции и целевым параметром – значением сорбционной емкости гипромеллозных сорбентов. Для этилцеллюлозных сорбентов установлен слабый уровень взаимосвязи между количеством атомов-доноров водородной связи в структуре анализируемого вещества и значением сорбционной емкости. Выявлена статистически значимая взаимосвязь между порозиметрическими характеристиками: удельной площадью, общим объемом, средним диаметром пор и сорбционной емкостью в гипромеллозных сорбентах, а также отсутствие такой зависимости для сорбентов на основе этилцеллюлозы.

7. Получена математическая модель, выраженная уравнением полиномиальной регрессии, для прогнозирования значений сорбционной емкости гипромеллозных сорбентов на основе величин вышеуказанных молекулярных дескрипторов ароматических карбоновых кислот и ряда их производных/структурных аналогов. Величина коэффициента детерминации r^2 взаимосвязи наблюдаемых и прогнозируемых значений сорбционной емкости гипромеллозных сорбентов составила 0,77. Для этилцеллюлозных сорбентов математическая модель не позволяет адекватно прогнозировать значения их сорбционной емкости.

Практические рекомендации

Данные, полученные в ходе диссертационного исследования, имеют практическую значимость в контроле качества лекарственных средств.

Рекомендуется:

- использовать полученные сорбенты для твердофазной экстракции на основе производных целлюлозы в аналитических методиках анализа на этапе пробоподготовки комбинированных лекарственных средств, содержащих ароматические карбоновые кислоты и их производные;

- использовать полученную математическую модель зависимости величины сорбционной емкости от величины молекулярных дескрипторов (характеристик анализируемых веществ) ароматических карбоновых кислот и их производных для разработки новых типов гипромеллозных сорбентов для целей анализа других производных ароматических карбоновых кислот.

Перспективы дальнейшей разработки темы заключаются в направленном получении новых полимерных сорбентов на основе производных целлюлозы, а также разработке новых и усовершенствовании существующих методик количественного анализа комбинированных лекарственных препаратов с применением для пробоподготовки этапа твердофазной экстракции.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Качалкин, М. Н. Получение сорбентов для твердофазной экстракции бензойной кислоты из водных растворов / М. Н. Качалкин, А. В. Воронин // **Аспирантский вестник Поволжья**. – 2023. – Т. 23, № 1. – С. 36-40.
2. Качалкин, М. Н. Получение сорбентов для твердофазной экстракции салициловой кислоты из водных растворов / М. Н. Качалкин, А. В. Воронин // **Аспирантский вестник Поволжья**. – 2021. – № 5-6. – С. 16-22.
3. Качалкин, М. Н. Применение сорбента для твердофазной экстракции на основе гипромеллозы для количественного определения бензокаина в комбинированных лекарственных препаратах / М. Н. Качалкин, А. В. Воронин // **Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии**. – 2024. – Т. 27, № 1. – С. 40-46.
4. Качалкин, М. Н. Применение сорбента для твердофазной экстракции на основе гипромеллозы для количественного определения кислоты салициловой в комбинированных лекарственных препаратах / М. Н. Качалкин // **Медико-фармацевтический журнал «Пульс»**. – 2024. – Т. 26, № 1. – С. 18-25.
5. Качалкин, М. Н. Спектрофотометрическое определение прокаина в комбинированных лекарственных препаратах / М. Н. Качалкин, А. В. Воронин, Т. К. Рязанова // **Инновационные подходы в современной науке: сборник статей по материалам CLV международной научно-практической конференции, Москва, 05 декабря 2023 года**. – М.: Общество с

- ограниченной ответственностью "Интернаука", 2023. – № 23(155). – С. 127-132.
6. Качалкин М.Н. Математическое моделирование сорбционной емкости сорбентов на основе гипромеллозы к ароматическим карбоновым кислотам / М.Н. Качалкин // Инновационные подходы в современной науке: сб. ст. по материалам CLX Международной научно-практической конференции «Инновационные подходы в современной науке», Москва, 20 февраля 2024 года – М.: Общество с ограниченной ответственностью "Интернаука", 2024. – № 4(160). – С. 65-70.
 7. Качалкин, М. Н. Получение и исследование спектральных характеристик комплекса меди (II) и салициловой кислоты / М. Н. Качалкин // Аспирантские чтения - 2021: молодые ученые - медицине : Сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, Самара, 13–14 октября 2021 года / Под редакцией А.В. Колсанова и Г.П. Котельникова. – г. Самара: Общество с ограниченной ответственностью "СамЛюксПринт", 2021. – С. 275-277.
 8. Качалкин, М. Н. Получение сорбента на основе гипромеллозы для твердофазной экстракции кислоты салициловой из водных растворов / М. Н. Качалкин // Аспирантские чтения - 2022: Молодые ученые - медицине. Технологическое предпринимательство как будущее медицины : Сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, Самара, 23 ноября 2022 года. – Самара: ООО "Полиграфическое объединение "Стандарт", 2023. – С. 284-286.
 9. Ryazanova, T. Application of ethylcellulose-based sorbent for solid-phase extraction for quantitative determination of benzoic acid in medicinal products/ T. Ryazanova, M. Kachalkin, A.Voronin // 3rd European Congress on Chemistry and Applied Sciences. – 2023. – P. 64.

Авторские свидетельства, патенты, дипломы

1. **Патент** №2765188 С1. Способ получения селективного сорбента для твердофазной экстракции: №2020136335: заявл. 03.11.2020: опубл. 26.01.2022 / М. Н. Качалкин; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.