

На правах рукописи

Попова Марина Игоревна

**ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ БЕТА-АДРЕНОБЛОКАТОРОВ В
КОМБИНИРОВАННЫХ МЯГКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМАХ С
ГЕЛЕМ «ТИЗОЛЬ»**

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ

на соискание ученой степени кандидата
фармацевтических наук

Самара – 2024

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:

Дворская Оксана Николаевна – доктор фармацевтических наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фармации и химии фармацевтического факультета, заведующий кафедрой;

Карпенко Юлия Николаевна – кандидат фармацевтических наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра токсикологической химии, доцент.

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

Защита диссертации состоится «_____» _____ 2024 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 «_____» _____ 2024 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат фармацевтических наук, доцент

Жданова Алина Валитовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Развитие системы здравоохранения и повышение качества жизни граждан Российской Федерации являются одними из стратегических целей в области обеспечения национальной безопасности [Указ Президента РФ № 400 от 02.07.2021 г.]. В связи с этим, расширение ассортимента отечественных эффективных, безопасных и качественных лекарственных препаратов (ЛП) для реализации концепции персонифицированной медицины [Указ Президента РФ № 145 от 28.02.2024 г.] является важнейшей задачей, стоящей перед современной фармацевтической наукой. Для её решения необходимы научные исследования по разработке новых лекарственных средств (ЛС) и совершенствованию процессов контроля качества фармацевтической продукции.

Перспективными направлениями в фармацевтической разработке лекарственных препаратов являются включение активных фармацевтических субстанций (АФС) в состав альтернативных лекарственных форм и исследование новых клинико-фармакологических эффектов известных лекарственных средств, что позволяет расширить спектр действия существующих ЛС и применять их в новых схемах лечения нозологий [Домнина Ю.М. и др, 2021; Голованенко А.Л. и др., 2022; Veldman, A. et al., 2022; Романтеева Ю.В. и др., 2023]. Так, у бета-адреноблокаторов (БАБ), лекарственных средств с гипотензивным, антиаритмическим и антиангинальным действием, был обнаружен антиангиогенный эффект, заключающийся в уменьшении пролиферации эндотелиальных клеток [Пат. RU 2471500 С2, 2013]. Исследование данного механизма легло в основу разработки методов фармакотерапии бета-адреноблокаторами самых распространенных сосудистых опухолей у детей – инфантильных гемангиом, характеризующихся кожными проявлениями [Léaute-Labrèze, C. et al., 2016; Пат. RU 2617516 С1, 2017; Поляев Ю.А. и др., 2020; Сафронов А.Д. и др., 2020; Гавеля Е.Ю. и др., 2021; Nagata, E. et al., 2022].

Инструментом расширения ассортимента отечественных лекарственных препаратов для целей прецизионной медицины является изготовление их в аптечных организациях. Экстемпоральная рецептура решает задачи индивидуального дозирования, подбора состава ЛС и оптимальной лекарственной формы в зависимости от возраста, массы, особенностей организма пациента [Смехова И.Е. и др., 2021; Кугач В.В., 2021; Петров А.Ю. и др., 2022].

Значительный научный задел и потенциал в разработке новых ЛП представляет применение трансдермального проводника геля «Тизоль» (аквакомплекс глицеросольвата титана) в качестве химически индифферентной и биологически активной мазевой основы. Аквакомплекс глицеросольвата титана (АГТ) позволяет сохранить ЛС в составе мягкой лекарственной формы (МЛФ) в неизменном виде, усилить их фармакологическое действие и обеспечить пролонгирование терапевтического эффекта [Пат. RU 2483721 С1, 2013; Махотина М.В., 2018; Пат. RU 2720459 С1, 2020; Соколова Л.А. и др., 2021; Емельянов А.А. и др., 2021; Лосенкова С.О. и др., 2022; Федотова Ю.М. и др., 2022]. Благодаря этому, гель «Тизоль» в настоящее время широко используется в качестве основы-носителя при изготовлении мазей в условиях производственных аптек.

В XV издании Государственной Фармакопеи Российской Федерации (ГФ РФ) впервые были утверждены подходы и требования к качеству лекарственных препаратов, которые могут быть изготовлены аптечными организациями. Процесс изготовления ЛП осуществляется при наличии разработанных методик химического контроля, указанных в общих фармакопейных статьях (ОФС), фармакопейных статьях (ФС), документах в области контроля качества. Согласно

положениям ОФС.1.8.0001 «Лекарственные препараты аптечного изготовления» ГФ РФ XV издания, исходя из номенклатуры ЛС и технического обеспечения аптечной организации, для проведения химического контроля ЛП допускается применение физико-химических методов анализа, в частности спектрофотометрии.

Вследствие этого разработка универсальных, простых в исполнении и аппаратурном оснащении, экспрессных, специфичных, достаточно чувствительных методик оценки качества новых мягких лекарственных форм бета-адреноблокаторов с гелем «Тизоль» представляет собой перспективное направление научных исследований.

Степень разработанности темы исследования

Научные изыскания по разработке, установлению качественного и количественного составов мягких лекарственных форм на основе транскутанного проводника гидрогеля «Тизоль» с местными анестетиками, экстрактами лекарственного растительного сырья, противомикробными, антифунгицидными и нестероидными противовоспалительными средствами нашли своё отражение в ряде патентов, монографий, диссертационных работ и научных статей [Пат. RU 2483721 С1, 2013; Илиев К.И., 2018; Пат. RU 2711643 С1, 2020; Накарякова Н.И. и др., 2021; Кобелева Т.А. и др., 2023; Анисимова Т.Г., 2023; Копылова А.И., 2023].

Технология изготовления мазей с бета-адреноблокаторами на основе гидрогеля «Тизоль» разработана научными сотрудниками ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России и ООО «ОЛИМП», г. Екатеринбург. На основании официального запроса от ООО «ОЛИМП» о проведении фармацевтического анализа и исследования биодоступности перспективных составов бета-адреноблокаторов (атенолол, бетаксолола гидрохлорид, бисопролола фумарат, карведилол, метопролола тартрат, небиволола гидрохлорид, пропранолола гидрохлорид, соталола гидрохлорид) с гидрогелем «Тизоль» выбрана тема, определена цель и сформулированы задачи настоящего диссертационного исследования.

Цель и задачи исследования

Цель работы – разработка методик установления подлинности и количественного определения бета-адреноблокаторов в комбинированных мягких лекарственных формах с гидрогелем «Тизоль».

Для реализации поставленной цели необходимо решение следующих **задач**:

1. Установить идентификационные показатели (величины молярных показателей поглощения (МПП) в минимумах и максимумах электронных спектров поглощения (ЭСП), положения экстремумов на спектрах производных второго порядка, значения молярных показателей поглощения второй производной) бета-адреноблокаторов при различных значениях рН среды и разработать методики качественного анализа изучаемых соединений в мазях на основе геля «Тизоль».
2. Произвести выбор аналитических длин волн (АДВ) и разработать универсальные методики количественного спектрофотометрического анализа бета-адреноблокаторов и БАБ в комбинациях с диклофенаком натрия (ДН) в мазях на титансодержащей основе.
3. Разработать методику количественного определения аквакомплекса глицеросольвата титана методом спектрофотометрии.
4. Осуществить оценку физико-химических характеристик (рН, фармакокинетическая активность, стабильность) мазей, содержащих бета-адреноблокаторы.

Научная новизна

По результатам проведенных исследований впервые:

1. Установлены идентификационные показатели (величины молярных показателей поглощения при минимумах и максимумах поглощения, положения экстремумов на спектрах производных второго порядка, значения МПП второй производной) и предложены методики качественного анализа атенолола, бетаксолола гидрохлорида, бисопролола фумарата, карведилола, метопролола тартрата, небиволола гидрохлорида, пропранолола гидрохлорида и соталола гидрохлорида в мазях на основе АГТ методами прямой и производной спектрофотометрии в ультрафиолетовой области.
2. Предложены и валидированы методики количественного анализа бета-адреноблокаторов в МЛФ на геле «Тизоль» способом абсолютной градуировки, а также комбинаций БАБ с диклофенаком натрия в мазях на титансодержащей основе методом Фирордта.
3. Разработана и валидирована методика количественного определения аквакомплекса глицеросольвата титана в ацетатном буферном растворе ($\text{pH} = 4$) с использованием метода спектрофотометрии.
4. Установлены физико-химические характеристики (pH , фармакокинетическая активность, стабильность) мазей, содержащих бета-адреноблокаторы, с применением методов прямой спектрофотометрии, равновесного диализа по Кривчинскому, флуоресцентного и потенциометрического анализа.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Разработаны оптимальные методики идентификации и количественного анализа бета-адреноблокаторов в мягких лекарственных формах, изготовленных на гидрогеле «Тизоль», которые найдут применение на этапе химического контроля в условиях производственных аптек. Полученные результаты могут быть включены в фармакопейные статьи, устанавливающие требования к качеству ЛП аптечного изготовления, в разделы «Подлинность» и «Количественное определение».

На основе проведенных исследований разработаны и опубликованы методические рекомендации «Качественный спектрофотометрический анализ бета-адреноблокаторов в мягких лекарственных формах» (2023 г.) и методические рекомендации «Количественный спектрофотометрический анализ бета-адреноблокаторов в мазях на основе геля «Тизоль» (2024 г.), одобренные методическим советом по специальности 33.05.01 «Фармация» ФГБОУ ВО Тюменский ГМУ Минздрава России. Рекомендации внедрены в рабочий процесс ООО «ОЛИМП», г. Екатеринбург и фармацевтических организаций Уральского федерального округа: г. Тюмень – АО Аптекарский торговый дом «Панацея»; г. Екатеринбург: ООО «Городская центральная аптека» и ООО «Здоровье».

Полученные в ходе диссертационного исследования результаты внедрены и применяются в образовательном процессе ординаторов и аспирантов ряда ВУЗов. Получены акты внедрения от Казанского, Кемеровского, Омского, Оренбургского, Тюменского и Ярославского медицинских университетов Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Патент Российской Федерации на изобретение – подтверждение научной новизны диссертационной работы.

Методология и методы исследования

Базирующаяся на системном анализе и консолидации данных существующих научных трудов в области стандартизации и фармацевтического анализа ЛС методология диссертационного исследования включала оценку состояния степени изученности объектов исследования, постановку цели и задач, осуществление экспериментальной работы по

фармацевтическому анализу мазей с бета-адреноблокаторами. В процессе исследования применялись фармакопейные химические, электрохимические и физико-химические методы анализа. Статистическая обработка полученных данных осуществлялась с использованием методов математической статистики в соответствии с положениями ОФС.1.1.0013 ГФ РФ XV издания. Результаты опытов были обработаны с помощью пакета прикладных программ STATISTICA и MS Office 2016.

Связь задач исследования с проблемным планом научных работ

Диссертационное исследование проведено в соответствии с научным планом кафедры химии и фармакогнозии ФГБОУ ВО Тюменский ГМУ Минздрава России (ОГРН 1027200835859).

Основные положения, выносимые на защиту

1. Основные идентификационные показатели (величины молярных показателей поглощения при минимумах и максимумах поглощения при различных значениях pH среды, положения экстремумов на спектрах производных второго порядка, значения МПП второй производной) бета-адреноблокаторов и методики качественного анализа изучаемых ЛС в мазях, изготовленных на основе гидрогеля «Тизоль».

2. Результаты разработки и метрологической оценки методик количественного спектрофотометрического анализа атенолола, бетаксолола гидрохлорида, бисопролола фумарата, карведилола, метопролола тартрата, небиволола гидрохлорида, пропранолола гидрохлорида, соталола гидрохлорида, а также бета-адреноблокаторов в комбинациях с диклофенаком натрия, в мазях на титансодержащей основе.

3. Разработанная и валидированная методика количественного определения геля «Тизоль» в ацетатном буферном растворе (pH = 4).

4. Результаты оценки физико-химических характеристик (pH, фармакокинетическая активность и стабильность) мягких лекарственных форм с бета-адреноблокаторами.

Личный вклад автора

Автором на разных этапах теоретических и экспериментальных исследований выполнен комплексный анализ и синтез данных нормативных документов и научной литературы по теме диссертационной работы, лично проведены аналитические виды работ, разработаны методики фармацевтического анализа бета-адреноблокаторов в комбинированных мазях, изготовленных на основе АГТ, проанализированы, статистически обработаны, валидированы и интерпретированы полученные результаты.

Соответствие диссертации паспорту специальности

Основные научные положения, изложенные в диссертационной работе, соответствуют паспорту научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия, конкретно пункту 3 паспорта научной специальности.

Степень достоверности и апробация работы

Достоверность научных выводов и положений, выдвинутых в рамках диссертационного исследования, подтверждается достаточным объемом экспериментального материала, использованием сертифицированных приборов и оборудования и применения современных фармакопейных методов исследования. Полученные результаты подвергнуты анализу с применением методов математической статистики и валидационной оценки, соответствующих стандартам и требованиям Государственной фармакопеи РФ XV издания.

Ключевые аспекты работы и результаты исследования доложены на региональной научно-практической конференции «Новые векторы развития науки и техники в Тюменской области», Тюмень, 2022; VI международной научно-практической конференции «Мировая наука 2022.

Проблемы и перспективы развития. Международные коммуникации», Саратов, 2022; международном научно-исследовательском конкурсе «Молодой учёный года 2022», Пенза, 2022; международной научной конференции «Теоретические и практические аспекты развития науки в современном мире», Санкт-Петербург, 2023; всероссийском научном форуме с международным участием «Неделя молодежной науки», Тюмень, 2022, 2023.

Публикации

По материалам диссертационного исследования автором опубликовано 26 печатных работ, из них 9 научных статей в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России. Получен 1 патент на изобретение и опубликована 1 монография.

Структура и объем работы

Диссертационная работа представлена на 176 страницах машинописного текста, проиллюстрирована 35 таблицами и 34 рисунками и состоит из введения, обзора литературы (глава 1), описания материалов и методов исследования (глава 2), результатов экспериментальной части (главы 3-5), выводов, списка литературы из 174 источников, из которых 54 – на иностранном языке, и приложений.

В первой главе представлен обзор актуальных исследований, посвященных вопросу фармацевтического анализа бета-адреноблокаторов в субстанциях и лекарственных препаратах. В главе 2 детально описаны объекты, оборудование, приборы, химические реактивы и методы, используемые в рамках диссертационной работы. Третья глава посвящена разработке методик подтверждения подлинности мазей бета-адреноблокаторов методами прямой и производной спектрофотометрии в ультрафиолетовой области. Глава 4 содержит обоснование условий проведения количественного спектрофотометрического анализа объектов исследования и результаты оценки содержания бета-адреноблокаторов в двух- и трехкомпонентных мазях и гелях «Тизоль» с использованием разработанных методик. В главе 5 приведены результаты исследования физико-химических характеристик (рН, фармакокинетическая активность, стабильность) мягких лекарственных форм бета-адреноблокаторов.

Благодарность

Автор выражает огромную благодарность и глубочайшую признательность профессору, доктору фармацевтических наук Кобелевой Татьяне Алексеевне за научное руководство и профессору, доктору фармацевтических наук Сичко Алику Ивановичу за наставничество, ценные советы и конструктивные замечания при выполнении диссертационной работы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объекты, материалы и методы исследования

Объектами исследования являются мягкие лекарственные формы с бета-адреноблокаторами (атенолол, бетаксолола гидрохлорид, бисопролола фумарат, карведилол, метопролола тартрат, небиволола гидрохлорид, пропранолола гидрохлорид, соталола гидрохлорид) и БАБ в смеси с диклофенаком натрия, изготовленные на основе аквакомплекса глицеросольвата титана (Таблица 1). Фармацевтический анализ бета-адреноблокаторов в МЛФ проводили методами прямой и производной спектрофотометрии в УФ-области с помощью разработанных методик качественного и количественного определения.

Электронные спектры поглощения растворов фармацевтических субстанций, модельных смесей АФС с АГТ, этанольных экстрактов исследуемых мазей регистрировали с помощью спектрофотометра марки СФ-2000 (ООО «ОКБ СПЕКТР», г. Санкт-Петербург) в диапазоне длин волн от 190 до 370 нм. В методе производной спектрофотометрии полученные спектры

поглощения нулевого порядка дифференцировали при помощи программного обеспечения «Сканирование для СФ-2000».

Таблица 1 – Двух- и трехкомпонентные МЛФ с бета-адреноблокаторами

Название мази	Состав, г	Название мази	Состав, г
«Атенолозол»	Атенолола 0,05 АГТ до 10,0	«Атенодиклозол»	Атенолола 0,05 Диклофенака натрия 0,1 АГТ до 10,0
«Бетаксолозол»	Бетаксолола 0,05 АГТ до 10,0	«Бетадиклозол»	Бетаксолола 0,05 Диклофенака натрия 0,1 АГТ до 10,0
«Бисопролозол»	Бисопролола 0,05 АГТ до 10,0	«Бисодиклозол»	Бисопролола 0,05 Диклофенака натрия 0,1 АГТ до 10,0
«Карведилозол»	Карведилола 0,05 АГТ до 10,0	«Карведиклозол»	Карведилола 0,05 Диклофенака натрия 0,1 АГТ до 10,0
«Метопролозол»	Метопролола 0,05 АГТ до 10,0	«Методиклозол»	Метопролола 0,05 Диклофенака натрия 0,1 АГТ до 10,0
«Небиволозол»	Небиволола 0,05 АГТ до 10,0	«Небиводиклозол»	Небиволола 0,05 Диклофенака натрия 0,1 АГТ до 10,0
«Пропранозол»	Пропранолола 0,05 АГТ до 10,0	«Пропрадиклозол»	Пропранолола 0,05 Диклофенака натрия 0,1 АГТ до 10,0
«Соталозол»	Соталолола 0,05 АГТ до 10,0	«Сотадиклозол»	Соталолола 0,05 Диклофенака натрия 0,1 АГТ до 10,0

Содержание изучаемых ЛС устанавливали методом абсолютной градуировки при анализе двухкомпонентных мазей, методом Фирордта – трехкомпонентных МЛФ, методом сравнения со стандартным раствором – геля «Тизоль» (ФСП-42-3157-06). Регистрацию оптических плотностей растворов исследуемых объектов проводили на спектрофотометре СФ-2000 при выбранных АДВ. Для предлагаемых аналитических методик рассчитывали метрологические и валидационные параметры согласно требованиям ОФС.1.1.0012 и ОФС.1.1.0013 ГФ РФ XV издания при помощи пакетов прикладных программ STATISTICA 10.0 и MS Office 2016.

Фармакопейными методами проводили оценку физико-химических характеристик мазей с БАБ. Определение биофармацевтических параметров осуществляли методом равновесного диализа по Кривчинскому через целлофановую полупроницаемую мембрану Suprophan®. Степень высвобождения АФС устанавливали спектрофотометрическим методом. Также изучали диффузию ЛС из МЛФ в тонкий слой агарового носителя безындикаторным методом по фиолетовой флуоресценции геля «Тизоль» с применением облучателя хроматографического УФС – 254/365 и индикаторным методом с использованием раствора водорода пероксида. Для идентификации бета-адреноблокаторов использовали качественные химические реакции. С помощью рН-метра рН-150МИ (ООО «Измерительная техника», г. Москва) определяли значение водородного показателя для модельных смесей АФС, исследуемых мазей, их этанольных экстрактов. Исследования стабильности мазей в условиях долгосрочных испытаний проводили с использованием методов потенциометрии и прямой спектрофотометрии в УФ-области.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Качественный спектрофотометрический анализ объектов исследования

Зарегистрированы электронные спектры поглощения активных фармацевтических субстанций атенолола, бетаксолола гидрохлорида, биспролола фумарата, карведилола, метопролола тартрата, небиволола гидрохлорида, пропранолола гидрохлорида и соталола гидрохлорида, а также модельных смесей АФС с аквакомплексом глицеросольвата титана при $\text{pH} = 1$ и $\text{pH} = 13$ (Рисунки 1 и 2).

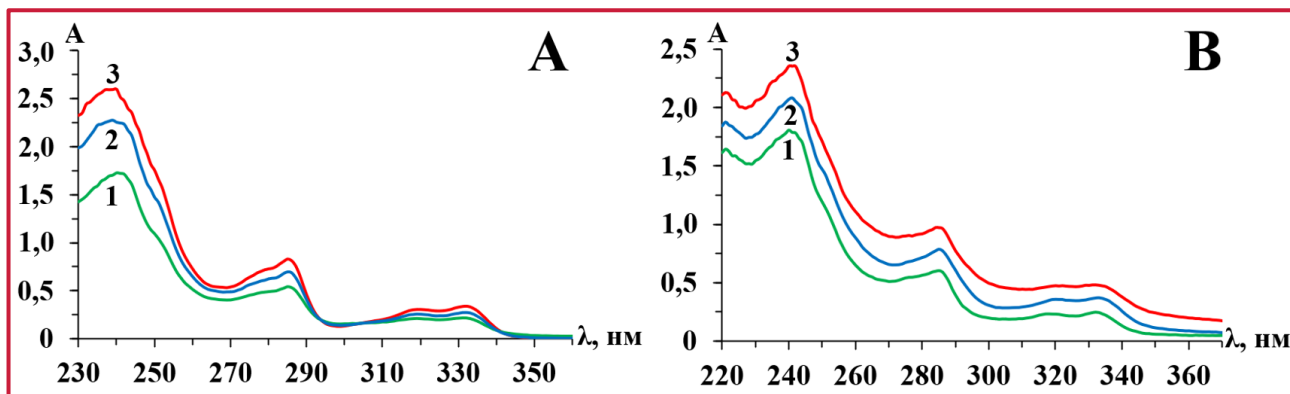


Рисунок 1 – Электронные спектры поглощения карведилола и модельных смесей с АГТ в 0,1 М растворах хлористоводородной кислоты (А) и натрия гидроксида (В)

А: 1. $C(\text{ЛС}) = 4,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C(\text{АГТ}) = 1,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л; 2. $C(\text{ЛС}) = 6,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C(\text{АГТ}) = 2,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л; 3. $C(\text{ЛС}) = 8,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л; **В:** 1. $C(\text{ЛС}) = 4,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C(\text{АГТ}) = 2,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л; 2. $C(\text{ЛС}) = 6,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л; 3. $C(\text{ЛС}) = 6,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C(\text{АГТ}) = 2,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л

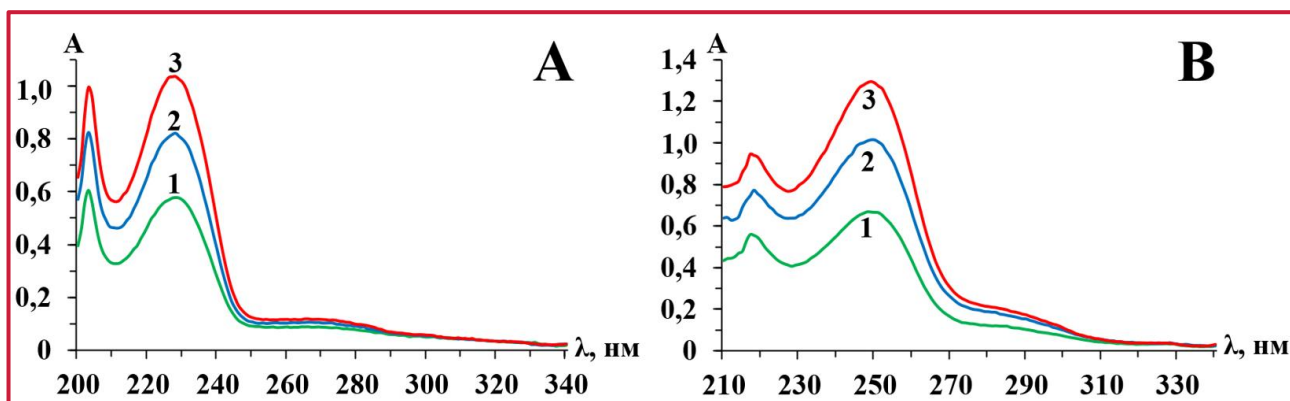


Рисунок 2 – Электронные спектры поглощения соталола и модельных смесей с АГТ в 0,1 М растворах хлористоводородной кислоты (А) и натрия гидроксида (В)

А: 1. $C(\text{ЛС}) = 4,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л; 2. $C(\text{ЛС}) = 6,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C(\text{АГТ}) = 1,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л; 3. $C(\text{ЛС}) = 8,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C(\text{АГТ}) = 1,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л; **В:** 1. $C(\text{ЛС}) = 4,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л; 2. $C(\text{ЛС}) = 6,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C(\text{АГТ}) = 1,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л; 3. $C(\text{ЛС}) = 8,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C(\text{АГТ}) = 1,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л

Установлено соответствие положений экстремумов (максимумов и минимумов поглощения) на УФ-спектрах поглощения активных фармацевтических субстанций и модельных смесей с АГТ, что позволяет идентифицировать бета-адреноблокаторы в двухкомпонентных мазях, изготовленных на основе геля «Тизоль», методом прямой спектрофотометрии.

Вычислены значения молярных показателей поглощения (Таблица 2) бета-адреноблокаторов в максимумах и минимумах поглощения и разработаны методики качественного анализа бета-адреноблокаторов в двухкомпонентных мазях, основанные на сопоставлении положений экстремумов на электронных спектрах поглощения при различных значениях pH и сравнении рассчитанных значений МПП с установленными интервалами.

Таблица 2 – Значения молярных показателей поглощения бета-адреноблокаторов при рН = 1 и рН = 13

Лекарственное средство	МПП в максимумах $\lambda_{\max}(\epsilon \pm \Delta\bar{\lambda})$ и минимумах $\lambda_{\min}(\epsilon \pm \Delta\bar{\lambda})$ поглощения	
	0,1 М раствор натрия гидроксида	0,1 М раствор хлористоводородной кислоты
Атенолол	223($\epsilon = 5001,25 \pm 79,94$), 250($\epsilon = 457,75 \pm 10,62$), 275($\epsilon = 1292,50 \pm 26,54$), 281($\epsilon = 1085,75 \pm 24,12$)	220($\epsilon = 5688,50 \pm 78,54$), 250($\epsilon = 554,25 \pm 12,38$), 273($\epsilon = 1336,25 \pm 36,12$), 280($\epsilon = 1132,00 \pm 29,65$)
Бетаксолола гидрохлорид	223($\epsilon = 5974,33 \pm 95,73$), 247($\epsilon = 894,33 \pm 22,83$), 275($\epsilon = 1839,33 \pm 47,19$)	222($\epsilon = 7959,50 \pm 118,63$), 245($\epsilon = 795,00 \pm 16,11$), 274($\epsilon = 1720,50 \pm 42,51$)
Бисопролола фумарат	224($\epsilon = 18161,00 \pm 261,29$), 255($\epsilon = 2653,00 \pm 68,12$), 271($\epsilon = 3234,00 \pm 78,19$)	220($\epsilon = 14566,00 \pm 223,29$), 254($\epsilon = 5799,00 \pm 106,31$), 271($\epsilon = 6400,50 \pm 137,79$)
Карведилол	241($\epsilon = 34676,67 \pm 784,33$), 271($\epsilon = 10893,33 \pm 265,88$), 285($\epsilon = 13118,33 \pm 347,78$), 304($\epsilon = 4776,67 \pm 117,52$), 333($\epsilon = 6216,67 \pm 158,21$)	240($\epsilon = 32497,50 \pm 670,29$), 269($\epsilon = 6687,50 \pm 143,40$), 285($\epsilon = 10413,75 \pm 239,13$), 299($\epsilon = 1656,25 \pm 41,99$), 320($\epsilon = 3852,50 \pm 93,61$)
Метопролола тартрат	223($\epsilon = 14875,00 \pm 232,43$), 248($\epsilon = 1411,00 \pm 33,59$), 275($\epsilon = 3684,00 \pm 92,72$)	222($\epsilon = 16319,00 \pm 224,27$), 243($\epsilon = 1852,00 \pm 31,73$), 274($\epsilon = 4101,00 \pm 107,86$)
Небиволола гидрохлорид	221($\epsilon = 7314,50 \pm 129,17$), 248($\epsilon = 898,50 \pm 23,81$), 282($\epsilon = 5080,50 \pm 111,37$)	206($\epsilon = 9366,50 \pm 150,94$), 247($\epsilon = 1140,50 \pm 27,03$), 280($\epsilon = 5076,50 \pm 126,86$)
Пропранолола гидрохлорид	221($\epsilon = 32916,00 \pm 478,92$), 251($\epsilon = 2646,00 \pm 52,20$), 290($\epsilon = 7522,00 \pm 188,62$)	215($\epsilon = 47245,00 \pm 598,05$), 250($\epsilon = 3775,00 \pm 79,70$), 290($\epsilon = 7430,00 \pm 176,00$)
Соталола гидрохлорид	218($\epsilon = 13947,50 \pm 360,00$), 228($\epsilon = 10147,50 \pm 192,61$), 248($\epsilon = 16690,00 \pm 447,33$)	203($\epsilon = 15095,00 \pm 301,27$), 211($\epsilon = 8180,00 \pm 140,95$), 228($\epsilon = 14417,50 \pm 350,42$)

Для идентификации бета-адреноблокаторов в двух- и трехкомпонентных мягких лекарственных формах предложен метод производной спектрофотометрии в ультрафиолетовой области. Изучены производные электронных спектров поглощения первого и второго порядков, полученные с интервалом разделения полос ($\Delta\lambda$) в 1, 2 и 4 нм. Экспериментально установлено, что спектры второй производной с шагом разделения 4 нм (Рисунок 3) наиболее точно отражают форму недифференцированных спектров поглощения лекарственных средств и позволяют обнаружить скрытые максимумы на спектрах нулевого порядка небиволола гидрохлорида и пропранолола гидрохлорида при длинах волн 288 нм и 224 нм соответственно.

Определены значения МПП вторых производных бета-адреноблокаторов при рН = 1 в точках экстремума ($\lambda_{\min} = 222$ нм для бетаксолола гидрохлорида, бисопролола фумарата и метопролола тартрата; 224 нм – атенолола и пропранолола гидрохлорида; 228 нм – соталола гидрохлорида; 240 нм – карведилола, 288 нм – небиволола гидрохлорида) и разработаны методики качественного анализа БАБ в двухкомпонентных исследуемых мазях, основанные на сопоставлении положений минимумов спектров вторых производных и сравнении рассчитанных значений МПП вторых производных с установленными интервалами (Таблица 3).

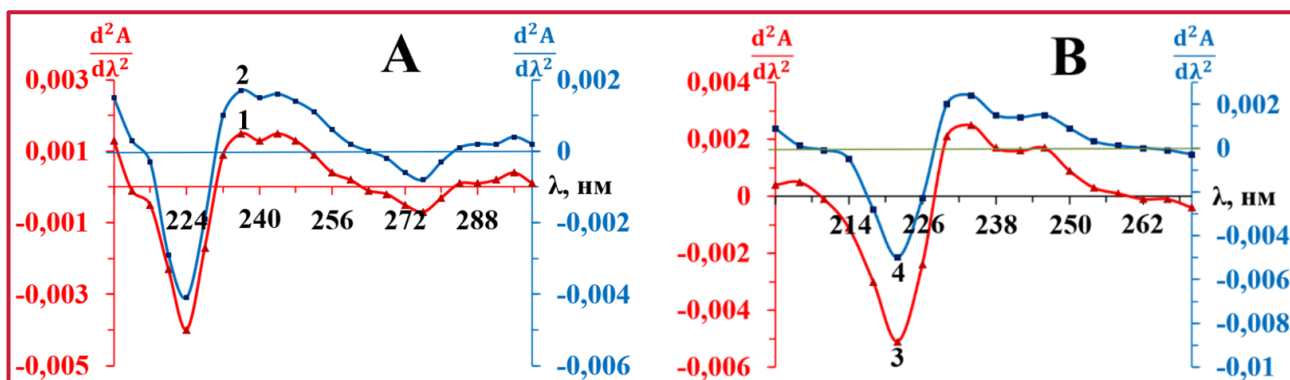


Рисунок 3 – Вторая производная спектров поглощения атенолола (А) и бетаксолола (В) в 0,1 М растворах хлористоводородной кислоты

1. АФС атенолола; 2. Этанольный экстракт мази «Атенолозоль»; 3. АФС бетаксолола гидрохлорида; 4. Этанольный экстракт мази «Бетаксолозоль»

Таблица 3 – Значения молярных показателей поглощения бета-адреноблокаторов в минимумах спектральных кривых второго порядка

АФС	С, моль/л	$\lambda_{\min}$, нм	$\varepsilon''(\lambda)$	
			Раствор АФС	Этанольный экстракт мази
Атенолол	$8,0 \cdot 10^{-5}$	224	776,00 – 824,00	800,00
Бетаксолола гидрохлорид	$9,0 \cdot 10^{-5}$	222	982,93 – 1043,73	1013,33
Бисопролола фумарат	$3,0 \cdot 10^{-5}$	222	2638,40 – 2801,60	2720,00
Карведилол	$2,0 \cdot 10^{-5}$	240	6130,40 – 6509,60	6320,00
Метопролола тартрат	$4,0 \cdot 10^{-5}$	222	2095,20 – 2224,80	2160,00
Небиволола гидрохлорид	$1,0 \cdot 10^{-4}$	288	1148,48 – 1219,52	1184,00
Пропранолола гидрохлорид	$2,0 \cdot 10^{-5}$	224	2716,00 – 2884,00	2800,00
Соталола гидрохлорид	$5,0 \cdot 10^{-5}$	228	1210,56 – 1285,44	1248,00

Экспериментально подтверждено, что применение метода производной спектрофотометрии позволяет идентифицировать бета-адреноблокаторы и диклофенак натрия при совместном их присутствии в составах мягких лекарственных форм. Для определения подлинности ЛС в многокомпонентных мазях разработаны методики, основанные на анализе положений экстремумов спектров вторых производных (Рисунки 4 и 5).

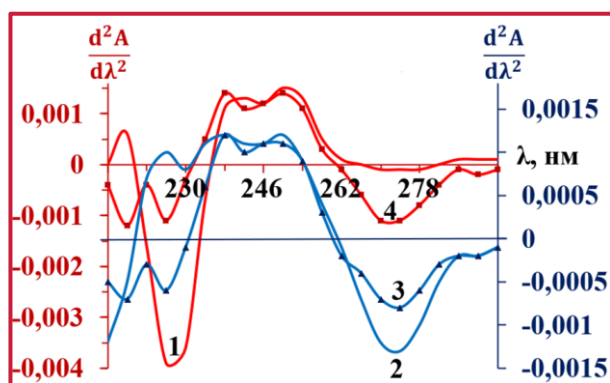


Рисунок 4 – Вторая производная спектров поглощения соталола совместно с диклофенаком натрия

1. АФС соталола; 2. АФС ДН; 3. Модельная смесь; 4. Этанольный экстракт мази «Сотадиклозоль»

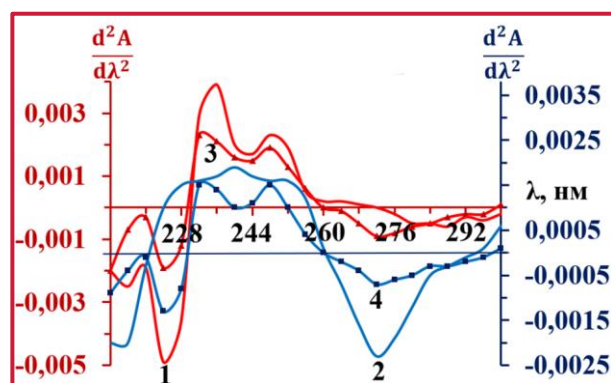


Рисунок 5 – Вторая производная спектров поглощения пропранолола совместно с диклофенаком натрия

1. АФС пропранолола; 2. АФС ДН; 3. Модельная смесь; 4. Этанольный экстракт мази «Пропрадиклозоль»

2. Количественный спектрофотометрический анализ бета-адреноблокаторов и геля «Тизоль»

Зарегистрированы ЭСП этанольных растворов активных фармацевтических субстанций бета-адреноблокаторов, модельных смесей АФС с АГТ и этанольных экстрактов исследуемых мазей (Рисунок 6). Для разработки методик оценки содержания ЛС в двухкомпонентных МЛФ установлены аналитические длины волн, соответствующие максимумам поглощения бета-адреноблокаторов в спирте этиловом 95 %: $\lambda_{\max} = 275$ нм – для атенолола; 224 нм – бетаксолола гидрохлорида; 274 нм – бисопролола фумарата; 243 нм – карведилола; 276 нм – метопролола тартрата; 283 нм – небиволола гидрохлорида; 290 нм – пропранолола гидрохлорида; 231 нм – соталола гидрохлорида. Построены калибровочные графики этанольных растворов АФС бета-адреноблокаторов, рассчитаны уравнения линейной регрессии (Таблица 4) и калибровочных графиков, на основании чего разработаны методики оценки содержания БАБ в двухкомпонентных МЛФ методом абсолютной градуировки.

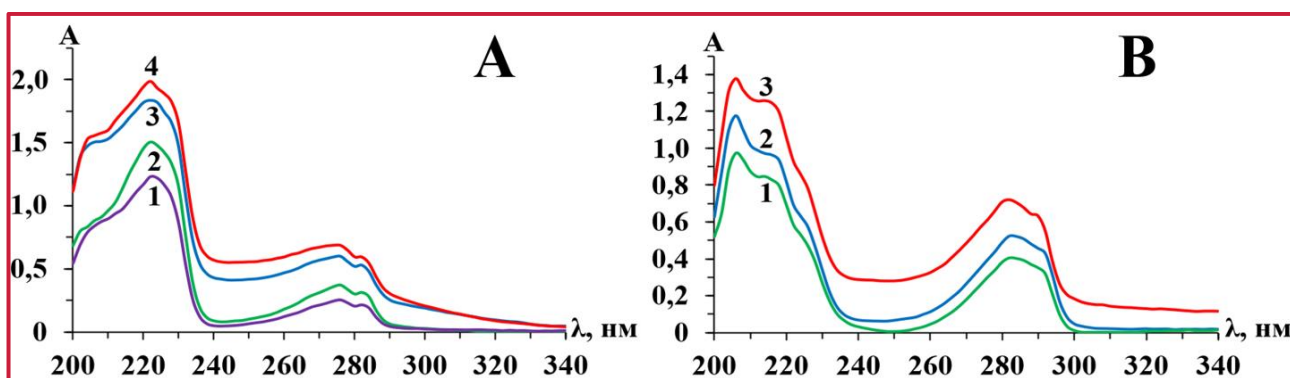


Рисунок 6 – Электронные спектры поглощения этанольных растворов метопролола (А) и небиволола (В), модельных смесей с АГТ и этанольных экстрактов мазей

А: 1. Этанольный экстракт мази с концентрацией метопролола $8,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л;
2. $C(\text{АФС}) = 1,0 \cdot 10^{-4}$ моль/л; 3. $C(\text{АФС}) = 1,0 \cdot 10^{-4}$ моль/л, $C(\text{АГТ}) = 4,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л;
4. $C(\text{АФС}) = 1,0 \cdot 10^{-4}$ моль/л, $C(\text{АГТ}) = 8,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л

В: 1. Этанольный экстракт мази с концентрацией небиволола $8,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л;
2. $C(\text{АФС}) = 9,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л; 3. $C(\text{АФС}) = 1,0 \cdot 10^{-4}$ моль/л, $C(\text{АГТ}) = 1,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л

Таблица 4 – Результаты оценки параметров линейной регрессии

АФС	r	Уравнение линейной регрессии	$ a \leq \Delta a$	Уравнение прямой	Диапазон применения, мкг/мл
Атенолол	0,9996	$y = 0,0044 \cdot x + 0,0027$	$0,0027 < 0,1005$	$y = 0,0044 \cdot x$	20,0 – 160,0
Бетаксолол	0,9996	$y = 0,0275 \cdot x + 0,0106$	$0,0106 < 0,0172$	$y = 0,0275 \cdot x$	4,0 – 32,0
Бисопролол	0,9998	$y = 0,0038 \cdot x + 0,0086$	$0,0086 < 0,0365$	$y = 0,0038 \cdot x$	20,0 – 160,0
Карведилол	0,9994	$y = 0,1224 \cdot x + 0,0033$	$0,0033 < 0,0240$	$y = 0,1224 \cdot x$	0,8 – 6,4
Метопролол	0,9988	$y = 0,0044 \cdot x + 0,0080$	$0,0080 < 0,0378$	$y = 0,0044 \cdot x$	20,0 – 160,0
Небиволол	0,9999	$y = 0,0127 \cdot x + 0,0213$	$0,0213 < 0,0252$	$y = 0,0127 \cdot x$	8,0 – 64,0
Пропранолол	0,9998	$y = 0,0200 \cdot x + 0,0067$	$0,0067 < 0,0422$	$y = 0,0200 \cdot x$	4,0 – 32,0
Соталол	0,9985	$y = 0,0424 \cdot x + 0,0007$	$0,0007 < 0,0142$	$y = 0,0424 \cdot x$	2,0 – 16,0

Количественное определение АФС в исследуемых МЛФ проводили по методике: к помещенной в стеклянный стаканчик точной навеске МЛФ (около 0,1–0,5 г) прибавляют 10,0 – 25,0 мл спирта этилового 95% (Таблица 5), перемешивают до получения дисперсной системы и фильтруют через обеззоленный бумажный фильтр (синяя лента), удаляя первую порцию фильтрата. При анализе мазей «Небиволозол», «Метопролозол» и «Бисопролозол» в

первоначальный объем этанола вводят 2,0 мл 0,01 М раствора хлористоводородной кислоты до общего объема смеси 10,0 или 25,0 мл. К 1,0 – 2,5 мл полученного этанольного экстракта прибавляют спирт этиловый 95 % до общего объема 5,0 мл и измеряют оптические плотности растворов при АДВ по отношению к раствору сравнения (этанольный экстракт АГТ, полученный аналогичным способом) при помощи спектрофотометра марки СФ-2000. По полученным значениям оптических плотностей, используя уравнение калибровочного графика, находят концентрацию активной фармацевтической субстанции (С(ЛС), мкг/мл) и рассчитывают массу бета-адреноблокатора в мягкой лекарственной форме (m(ЛС), г) по формуле 1. Время воспроизведения методики колеблется от 12 до 15 минут.

$$m(\text{ЛС}) = \frac{C(\text{ЛС}) \cdot V_{\text{общ}} \cdot V_2 \cdot P}{10^6 \cdot a(\text{МЛФ}) \cdot V_1} \quad (1)$$

Примечание:

P – масса мази по прописи, г; a(МЛФ) – навеска мази, взятая на анализ, г; V_{общ} – объем спирта этилового 95%, в котором растворена навеска мази, мл; V₁, V₂ – фактор разбавления, мл.

Таблица 5 – Данные для расчета масс лекарственных средств в мягких лекарственных формах

Лекарственное средство	Уравнение калибровочного графика	a (МЛФ), г	V ₁ , мл	V (0,01 М HCl), мл	V ₂ , мл	V _{общ} , мл
«Атенолозол»						
Атенолол	A = 0,0044·C	0,5	2,0	–	5,0	10,0
«Бетаксолозол»						
Бетаксолол	A = 0,0275·C	0,2	2,0	–	5,0	25,0
«Бисопролозол»						
Бисопролол	A = 0,0038·C	0,5	2,0	2,0	5,0	10,0
«Карведилозол»						
Карведилол	A = 0,1224·C	0,1	1,0	–	5,0	25,0
«Метопролозол»						
Метопролол	A = 0,0044·C	0,5	2,0	2,0	5,0	10,0
«Небиволозол»						
Небиволол	A = 0,0127·C	0,4	2,0	2,0	5,0	25,0
«Пропранолозол»						
Пропранолол	A = 0,0200·C	0,2	2,5	–	5,0	25,0
«Соталолозол»						
Соталол	A = 0,0424·C	0,1	2,5	–	5,0	25,0

Процедуру валидации разработанных методик количественного определения осуществляли по параметрам специфичности, линейности, правильности, прецизионности на уровнях повторяемости и промежуточной прецизионности.

Установлено, что фоновое поглощение растворов «плацебо» (этиловый спирт 95 % и раствор аквакомплекса глицеросольвата титана в этаноле) является незначимым, и методика характеризуется надлежащей специфичностью. При значениях коэффициента корреляционной зависимости $|r| \geq 0,99$ линейность считали оптимальной (Таблица 4). Относительные стандартные отклонения (RSD) не превышают 5 % (Таблица 6), удовлетворяя критерию приемлемости и демонстрируя валидность методики по показателю «Повторяемость». Рассчитанные значения t-критерия Стьюдента ($t_{\text{выч}}$) меньше табличного ($t(95 \%, 5) = 2,5706$), что свидетельствует об отсутствии систематической погрешности в полученных результатах и соответствии методик показателю «Правильность». Величины критерия Фишера ($F_{\text{выч}}$) не превышают табличные

($F(95\%, 5, 5) = 5,050$), различие дисперсий не может быть признано статистически значимым с доверительной вероятностью $P = 95\%$. RSD для параллельных определений в 6 опытах составили не более 5 %. Полученные результаты свидетельствуют об удовлетворительной промежуточной прецизионности валидируемых методик.

Таблица 6 – Результаты оценки методик количественного определения бета-адреноблокаторов в мазях по показателям правильность и повторяемость ($n = 6$, $f = 5$, $P = 95\%$, $t(P, f) = 2,5706$)

Лекарственное средство	$\bar{x}$	S	RSD, %	$S\bar{x}$	$\Delta\bar{x}$	$\bar{\varepsilon}, \%$	$t_{\text{выч}}$
«Атенолозол»							
Атенолол	0,0497	0,000865	1,74	0,000353	0,00091	$\pm 1,82$	0,803
«Бетаксолозол»							
Бетаксолол	0,0496	0,000959	1,93	0,000392	0,00101	$\pm 2,03$	1,054
«Бисопролозол»							
Бисопролол	0,0495	0,000970	1,96	0,000396	0,00102	$\pm 2,06$	1,267
«Карведилозол»							
Карведилол	0,0504	0,000878	1,74	0,000358	0,00092	$\pm 1,83$	1,191
«Метопролозол»							
Метопролол	0,0495	0,000932	1,88	0,000380	0,00098	$\pm 1,97$	1,285
«Небиволозол»							
Небиволол	0,0495	0,000956	1,93	0,000390	0,00100	$\pm 2,03$	1,212
«Пропранолозол»							
Пропранолол	0,0492	0,000886	1,80	0,000362	0,00093	$\pm 1,89$	2,241
«Соталозол»							
Соталол	0,0493	0,000873	1,77	0,000357	0,00092	$\pm 1,86$	2,045

Таким образом, разработанные методики соответствуют требованиям ГФ РФ XV издания в отношении валидационных показателей (специфичность, линейность, правильность, прецизионность на уровнях повторяемости и промежуточной прецизионности), и могут быть применены для определения содержания бета-адреноблокаторов в МЛФ.

Для количественного анализа бета-адреноблокаторов и диклофенака натрия в многокомпонентных мазях на основе геля «Тизоль» (Таблица 1) предложен метод многоволновой спектрофотометрии (метод Фирордта), позволяющий определять содержание нескольких компонентов с перекрывающимися спектрами (Рисунок 7).

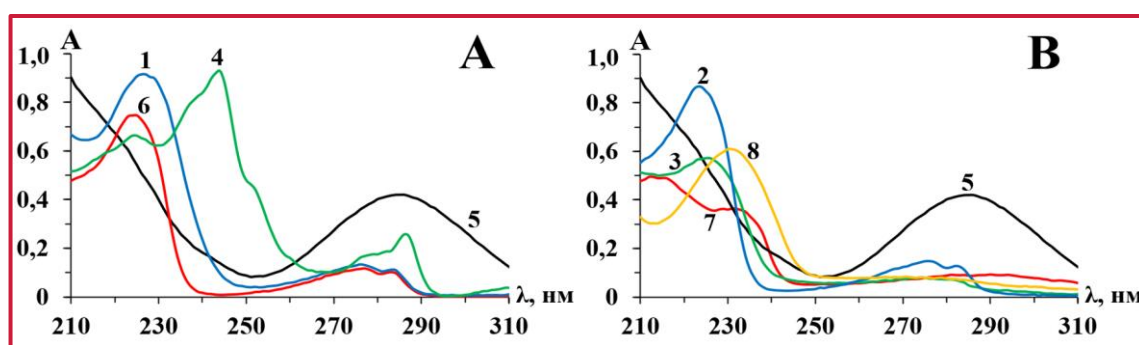


Рисунок 7 – ЭСП этанольных растворов АФС изучаемых лекарственных средств
1. Атенолол ($C = 1,0 \cdot 10^{-4}$ моль/л); 2. Бетаксолол ($C = 1,0 \cdot 10^{-4}$ моль/л); 3. Бисопролол ($C = 2,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л); 4. Карведилол ($C = 2,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л); 5. Диклофенак натрия ($C = 3,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л); 6. Метопролол ($C = 4,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л); 7. Пропранолол ($C = 1,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л); 8. Соталол ($C = 4,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л)

Определены аналитические длины волн (227 нм для атенолола, 223 нм – бетаксолола гидрохлорида, 225 нм – биспролола фумарата, 243 нм – карведилола, 222 нм – метопролола тартрата, 231 нм – пропранолола гидрохлорида, 231 нм – соталола гидрохлорида и 286 нм – диклофенака натрия), вычислены значения МПП при максимумах поглощения исследуемых соединений (Таблица 7) в этаноле и на этом основании составлены системы уравнений Фирордта.

Таблица 7 – Значения МПП БАБ и диклофенака натрия при аналитических длинах волн

«Атенодиклозоль»					
ЛС	С, моль/л	A(227 нм)	ε(227 нм)	A(286 нм)	ε(286 нм)
Атенолол	$2,0 \cdot 10^{-5}$	0,195	9750,0	0,020	1000,0
ДН	$3,0 \cdot 10^{-5}$	0,486	16200,0	0,420	14000,0
«Бетадиклозоль»					
ЛС	С, моль/л	A(223 нм)	ε(223 нм)	A(286 нм)	ε(286 нм)
Бетаксолол	$2,0 \cdot 10^{-5}$	0,206	10300,0	0,030	1500,0
ДН	$3,0 \cdot 10^{-5}$	0,610	20333,0	0,420	14000,0
«Бисодиклозоль»					
ЛС	С, моль/л	A(225 нм)	ε(225 нм)	A(286 нм)	ε(286 нм)
Биспролол	$6,0 \cdot 10^{-6}$	0,181	30167,0	0,012	2000,0
ДН	$3,0 \cdot 10^{-5}$	0,542	18067,0	0,420	14000,0
«Карведиклозоль»					
ЛС	С, моль/л	A(243 нм)	ε(243 нм)	A(286 нм)	ε(286 нм)
Карведилол	$1,0 \cdot 10^{-5}$	0,479	47900,0	0,127	12700,0
ДН	$3,0 \cdot 10^{-5}$	0,150	5000,0	0,420	14000,0
«Методиклозоль»					
ЛС	С, моль/л	A(222 нм)	ε(222 нм)	A(286 нм)	ε(286 нм)
Метопролол	$1,0 \cdot 10^{-5}$	0,190	19000,0	0,004	400,0
ДН	$3,0 \cdot 10^{-5}$	0,625	20833,0	0,420	14000,0
«Пропрадиклозоль»					
ЛС	С, моль/л	A(231 нм)	ε(231 нм)	A(286 нм)	ε(286 нм)
Пропранолол	$1,0 \cdot 10^{-5}$	0,364	36400,0	0,086	8600,0
ДН	$3,0 \cdot 10^{-5}$	0,366	12200,0	0,420	14000,0
«Сотадиклозоль»					
ЛС	С, моль/л	A(231 нм)	ε(231 нм)	A(286 нм)	ε(286 нм)
Соталол	$2,0 \cdot 10^{-5}$	0,285	14250,0	0,012	600,0
ДН	$3,0 \cdot 10^{-5}$	0,366	12200,0	0,420	14000,0

Разработаны методики количественного спектрофотометрического анализа ЛС в трехкомпонентных мазях на геле «Тизоль» методом многоволновой спектрофотометрии. Предложенные методики обладают удовлетворительными правильностью ($t_{\text{выч}} < t(95 \%, 5)$) и прецизионностью на уровнях повторяемости и промежуточной прецизионности ($F_{\text{выч}} < F(95 \%, 5, 5)$, $RSD < 5 \%$). Рассчитанные значения относительных неопределенностей среднего результата (Таблица 8) с использованием предложенных методик ($n = 6$, $P = 95 \%$) находятся в пределах 2,06 – 3,52 %, что подтверждает их пригодность для оценки содержания бета-адреноблокаторов и диклофенака натрия в трехкомпонентных исследуемых мягких лекарственных формах, изготовленных на основе аквакомплекса глицеросольвата титана.

С целью разработки нового способа количественного определения геля «Тизоль», позволяющего уменьшить затрату испытуемого образца и времени на проведение анализа, изучены ЭСП при различных значениях рН среды, создаваемых 0,01 М растворами HCl и NaOH, ацетатными и аминокетатными буферными растворами (Рисунок 8).

Таблица 8 – Метрологические характеристики методик количественного анализа комбинаций бета-адреноблокаторов и диклофенака натрия в мягких лекарственных формах (n = 6; P = 95%)

Мягкая лекарственная форма	ЛС	$\bar{x}$	S	RSD, %	$S\bar{x}$	$\Delta\bar{x}$	$\bar{\varepsilon}$, %
«Атенодиклозоль»	Атенолол	0,0502	0,001446	2,88	0,000590	0,0015	± 3,02
	ДН	0,1019	0,002000	1,96	0,000817	0,0021	± 2,06
«Бетадиклозоль»	Бетаксолол	0,0504	0,001261	2,50	0,000515	0,0013	± 2,63
	ДН	0,1016	0,002095	2,06	0,000855	0,0022	± 2,16
«Бисодиклозоль»	Бисопролол	0,0494	0,001306	2,64	0,000533	0,0014	± 2,77
	ДН	0,0983	0,003298	3,35	0,001346	0,0035	± 3,52
«Карведиклозоль»	Карведилол	0,0493	0,001069	2,17	0,000436	0,0011	± 2,27
	ДН	0,0992	0,002065	2,08	0,000843	0,0022	± 2,18
«Методиклозоль»	Метопролол	0,0505	0,001433	2,84	0,000585	0,0015	± 2,98
	ДН	0,1009	0,002640	2,62	0,001078	0,0028	± 2,75
«Пропрадиклозоль»	Пропранолол	0,0494	0,001053	2,13	0,000430	0,0011	± 2,24
	ДН	0,0991	0,002999	3,03	0,001224	0,0031	± 3,17
«Сотадиклозоль»	Соталол	0,0496	0,001548	3,12	0,000632	0,0016	± 3,28
	ДН	0,0996	0,002236	2,25	0,000913	0,0023	± 2,36

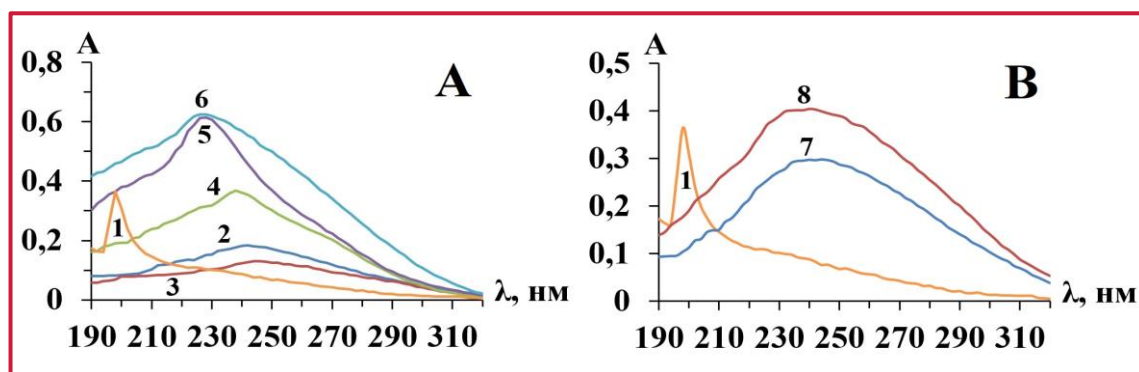


Рисунок 8 – ЭСП геля «Тизоль» в кислой среде ($C(\text{АГТ}) = 8,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л)

1. pH = 2; А. Ацетатные буферные растворы: 2. pH = 2; 3. pH = 3; 4. pH = 4; 5. pH = 5; 6. pH = 6;
В. Аминоацетатные буферные растворы: 7. pH = 2; 8. pH = 3

В соответствии с оптимальными условиями разработана *методика* количественного спектрофотометрического анализа геля «Тизоль»: около 0,1 г (точная масса) геля «Тизоль» (а(АГТ)) помещают в лабораторный химический стаканчик и при тщательном перемешивании растворяют в 50,0 мл 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты ($V_{\text{общ}}$). Далее 2,0 мл (V_1) полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 25,0 мл (V_2), объем раствора доводят до метки ацетатным буферным раствором с pH = 4 и перемешивают. Измеряют оптическую плотность аналитической пробы с помощью спектрофотометра при длине волны 238 нм. Согласно данным оптической плотности рассчитывают концентрацию титана (IV) в АГТ (C_x , мкг/мл) по отношению к стандартному раствору титанила сульфата ($A_{\text{ст}}/A_x = C_{\text{ст}}/C_x$).

Приготовление стандартного раствора титанила сульфата: в мерной колбе емкостью 100,0 мл растворяют точную навеску соли ($\text{TiOSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), равную 0,0386 г, в 0,1 М растворе хлористоводородной кислоты и тем же растворителем доводят объем в колбе до метки. Далее 1,0 мл разведения переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем в колбе до метки ацетатным буферным раствором с pH = 4 и фотометрируют смесь при длине волны 238 нм. Концентрация титана в растворе – 3,776 мкг/мл.

Массовую долю титана в АГТ ($W(\text{Ti})$, %) вычисляют по формуле 2:

$$W(\text{Ti}) = \frac{C_x \cdot V_{\text{общ}} \cdot V_2 \cdot 100}{10^6 \cdot V_1 \cdot a(\text{АГТ})} \quad (2)$$

Разработанная методика характеризуется надлежащей линейностью ($y = 0,1139 \cdot x + 0,0139$, $r = 0,9992$), специфичностью, прецизионностью на уровнях промежуточной прецизионности и повторяемости в аналитической области ($C = 3,021 - 4,531$ мкг/мл). Установлено, что предлагаемая методика позволяет увеличить чувствительность анализа в 1,2 раза по сравнению с известным спектрофотометрическим способом (способ II), сократить время на проведение одного определения в 10,5–12,0 раз (Таблица 9) в сравнении с гравиметрическим способом I и в 3,0–3,3 раза – способом II, уменьшить расход лекарственного препарата в 10 раз и исключить применение концентрированных кислот.

Таблица 9 – Сравнительная оценка способов количественного анализа геля «Тизоль»

Способ анализа	$a(\text{АГТ})$, г	t , мин	λ , нм	Найдено $W(\text{Ti})$, %	Метрологические характеристики ($n = 8$; $P = 95\%$)				
					$\bar{x}$	S	$S\bar{x}$	$\Delta\bar{x}$	$\bar{\varepsilon}$, %
Предлагаемый	0,1	15–20	238	2,31–2,41	2,35	0,0339	0,0120	0,0284	$\pm 1,21$
Способ I	1,0	180–210	–	2,27–2,41	2,34	0,0013	0,0127	0,0302	$\pm 1,29$
Способ II	1,0	50–60	360	2,28–2,34	2,31	0,0015	0,0136	0,0323	$\pm 1,40$

3. Использование фармакопейных методов анализа для оценки физико-химических характеристик мазей

Установлено, что величины водородного показателя для исследуемых мягких лекарственных форм с БАБ варьируются в пределах от 4,44 до 6,83, что находится в диапазоне кислотности поверхности кожи ($\text{pH} = 4,0 - 7,0$).

Транскутанную активность мазей с бета-адреноблокаторами оценивали *in vitro* с применением метода равновесного диализа по Кривчинскому. Изучение кинетики диффузии лекарственных средств из мазей с использованием метода ультрафиолетовой спектрофотометрии позволило установить, что наиболее полная (в пределах 70–100 %) и продолжительная (до 6,0 часов) диффузия исследуемых веществ в диализную жидкость достигается при применении аквакомплекса глицеросольвата титана в качестве мазевой основы (Рисунки 9 и 10). Полученные результаты подтверждают перспективность применения геля «Тизоль» в качестве эффективного проводника АФС, обеспечивающего длительное поддержание высоких концентраций ЛС.

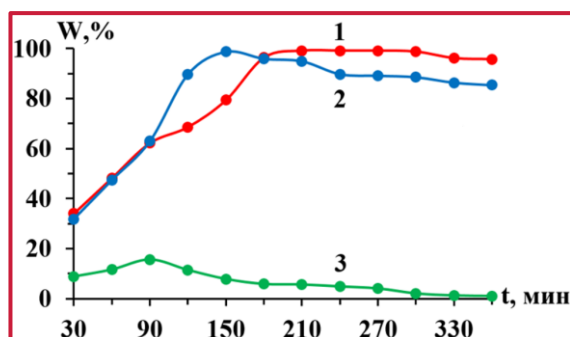


Рисунок 9 – Кривые диализа соталолола из МЛФ, приготовленных на различных мазевых основах: 1 – на основе АГТ; 2 – с использованием таблеток ООО «Озон»; 3 – на вазелин-ланолиновой основе

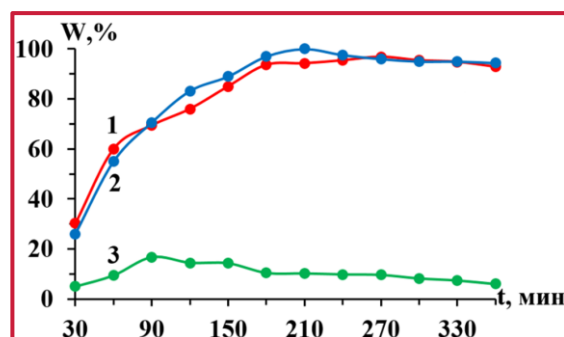


Рисунок 10 – Кривые диализа карведилола из МЛФ, приготовленных на различных мазевых основах: 1 – на основе АГТ; 2 – с использованием таблеток ООО «Озон»; 3 – на вазелиновой основе с ДМСО 5 %

Предложен способ исследования диффузии бета-адреноблокаторов из мазей с использованием тонкого слоя агарового геля. Безындикаторным методом с применением флуоресцентного анализа изучена транскутанная активность мягких лекарственных форм «Пропранозоль» и «Карведилозоль». Установлено, что аквакомплекс глицеросольвата титана, обнаруживаемый после УФ-облучения при длине волны 254 нм по фиолетовой флуоресценции, способен проникать в гель агара, транспортируя ЛС на расстояния от 19 мм до 23 мм.

Изучение трансдермальных свойств мазей «Атенолозоль», «Бетаксолозоль», «Бисопролозоль», «Метопролозоль», «Небиволозоль» и «Соталозоль» осуществляли индикаторным методом (раствор водорода пероксида в агаровой среде в концентрации 3 %). Доказана высокая фармакокинетическая активность объектов исследования, проявляющаяся в способности ЛС проникать из мазовой основы в тонкие слои агара на расстояния, варьирующие от 15 мм до 25 мм. Обнаружение бета-адреноблокаторов в агаровом геле проводили, используя качественные химические реакции: с реактивом Марки – сине-зеленое окрашивание при анализе пропранолола гидрохлорида и светло-розовое – в случае карведилола и бисопролола фумарата; с реактивом Манделина – красно-фиолетовая окраска при исследовании бетаксолола гидрохлорида, метопролола тартрата и небиволола гидрохлорида.

При исследовании стабильности мазей с БАБ в условиях долгосрочных испытаний с использованием методов потенциометрии и прямой спектрофотометрии установлено, что на протяжении 12 месяцев все образцы мазей не претерпевали органолептических изменений (цвет, консистенция и др.), значения pH находились в пределах допустимого диапазона. Исходя из анализа данных, полученных в ходе однолетнего исследования, можно сделать вывод о стабильности изучаемых МЛФ с бета-адреноблокаторами, так как количественное содержание ЛС составляет не менее 0,0497, а наблюдаемые отклонения величин МПП от среднего минимальны. Это позволяет рекомендовать новые мази бета-адреноблокаторов для индивидуального изготовления в аптечных организациях.

ВЫВОДЫ

1. Установлены значения молярных показателей поглощения атенолола, бетаксолола гидрохлорида, бисопролола фумарата, карведилола, метопролола тартрата, небиволола гидрохлорида, пропранолола гидрохлорида и соталола гидрохлорида в минимумах и максимумах поглощения при $\text{pH} = 1$ и $\text{pH} = 13$. Определены истинные положения экстремумов ЭСП бета-адреноблокаторов ($\lambda = 222$ нм для бетаксолола гидрохлорида, бисопролола фумарата и метопролола тартрата, 224 нм – атенолола, 228 нм – соталола гидрохлорида, 240 нм – карведилола), обнаружены скрытые максимумы пропранолола гидрохлорида и небиволола гидрохлорида при длинах волн 224 нм и 288 нм соответственно с применением метода производной спектрофотометрии. Вычислены величины молярных показателей поглощения второй производной при $\text{pH} = 1$.

2. Разработаны методики качественного анализа бета-адреноблокаторов в двухкомпонентных мазях методами прямой и производной спектрофотометрии, основанные на сопоставлении длин волн минимумов и максимумов электронных спектров поглощения при различных значениях pH среды и сравнении положений минимумов спектров вторых производных. Для идентификации бета-адреноблокаторов и диклофенака натрия в трехкомпонентных мягких лекарственных формах разработаны методики, основанные на анализе положений экстремумов спектров производных второго порядка.

3. Выбраны аналитические длины волн, соответствующие максимумам поглощения БАБ в этанольной среде, и рассчитаны уравнения калибровочных графиков: $\lambda_{\text{max}} = 275$ нм

($A = 0,0044 \cdot C$) – для атенолола; 224 нм ($A = 0,0275 \cdot C$) – бетаксолола гидрохлорида; 274 нм ($A = 0,0038 \cdot C$) – бисопролола фумарата; 243 нм ($A = 0,1224 \cdot C$) – карведилола; 276 нм ($A = 0,0044 \cdot C$) – метопролола тартрата; 283 нм ($A = 0,0127 \cdot C$) – небиволола гидрохлорида; 290 нм ($A = 0,0200 \cdot C$) – пропранолола гидрохлорида; 231 нм ($A = 0,0424 \cdot C$) – соталола гидрохлорида.

4. Установлены аналитические длины волн для разработки методик оценки содержания ЛС в трехкомпонентных мазях с диклофенаком натрия с использованием метода многоволновой спектрофотометрии: $\lambda = 227$ нм для атенолола, 223 нм – бетаксолола гидрохлорида, 225 нм – бисопролола фумарата, 243 нм – карведилола, 222 нм – метопролола тартрата, 231 нм – пропранолола гидрохлорида и соталола гидрохлорида, 286 нм – диклофенака натрия в этаноле.

5. Разработаны, апробированы и валидированы методики количественного спектрофотометрического анализа исследуемых соединений в мазях на основе геля «Тизоль» методами абсолютной градуировки и Фирордта. Относительные ошибки среднего определения бета-адреноблокаторов в двухкомпонентных мягких лекарственных формах ($n = 6$, $P = 95 \%$) составляют $\pm 1,82 \%$ при анализе атенолола; $\pm 2,03 \%$ – бетаксолола гидрохлорида; $\pm 2,06 \%$ – бисопролола фумарата; $\pm 1,83 \%$ – карведилола; $\pm 1,97 \%$ – метопролола тартрата; $\pm 2,03 \%$ – небиволола гидрохлорида; $\pm 1,89 \%$ – пропранолола гидрохлорида; $\pm 1,86 \%$ – соталола гидрохлорида. Относительная погрешность среднего результата ($n = 6$, $P = 95 \%$) при количественном определении ЛС в мази «Атенодиклозоль» находится в пределах $\pm 2,06$ – $3,02 \%$, «Бетадиклозоль» – $\pm 2,16$ – $2,63 \%$, «Бисодиклозоль» – $\pm 2,77$ – $3,52 \%$, «Карведиклозоль» – $\pm 2,18$ – $2,27 \%$, «Методиклозоль» – $\pm 2,75$ – $2,98 \%$, «Пропрадиклозоль» – $\pm 2,24$ – $3,17 \%$, «Сотадилозоль» – $\pm 2,36$ – $3,28 \%$. Время анализа составляет от 12 до 15 минут при использовании рассчитанных уравнений калибровочных графиков и констант уравнений Фирордта.

6. Выбраны оптимальные условия и разработана методика спектрофотометрического количественного определения геля «Тизоль», отличающаяся высокой чувствительностью ($C_{\min} = 0,1724$ мкг/мл) и точностью ($\bar{\epsilon} = \pm 1,21 \%$), незначительной затратой испытуемого образца (0,1 г) и времени на проведение анализа (15–20 минут). Исследование осуществляется путем растворения навески аквакомплекса глицеросольвата титана и титанила сульфата, используемого для приготовления стандартного раствора, в 0,1 М растворе хлористоводородной кислоты с добавлением ацетатного буферного раствора со значением $pH = 4$ и измерения оптической плотности аналитической пробы при длине волны 238 нм. Предложенная методика валидна по параметрам: специфичность, линейность, правильность и прецизионность.

7. Определены физико-химические характеристики исследуемых мазей (pH , фармакокинетическая активность, стабильность). Безындикаторным методом с применением флуоресцентного анализа изучены трансдермальные свойства мягких лекарственных форм «Пропранозоль» и «Карведилозоль». Показано, что аквакомплекс глицеросольвата титана, обнаруживаемый после УФ-облучения ($\lambda = 254$ нм) по фиолетовой флуоресценции, способен проникать в тонкий слой агара и транспортировать ЛС на расстояния от 19 мм до 23 мм за 12 часов. С использованием методов потенциометрии и прямой спектрофотометрии установлено, что мягкие лекарственные формы бета-адреноблокаторов стабильны на протяжении 12 месяцев и, в связи с этим, их можно рекомендовать для изготовления в аптечных организациях.

8. Изучена кинетика диффузии исследуемых ЛС из мазей в опытах *in vitro* по методу Крувчинского. Показано, что применение геля «Тизоль» в качестве мазевой основы обеспечивает наиболее полную (в пределах 70–100 %) и продолжительную (до 6,0 часов) диффузию изучаемых веществ в диализную среду по сравнению с другими носителями лекарственных средств.

Практические рекомендации. Полученные в рамках диссертационного исследования результаты имеют практическое значение для усовершенствования методов контроля качества ЛП бета-адреноблокаторов и могут быть применены не только в контрольно-аналитических кабинетах производственных аптек, но и в деятельности ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России при разработке общих фармакопейных статей и фармакопейных статей на лекарственные препараты аптечного изготовления. Кроме того, результаты представляют интерес при изучении дисциплины «Фармацевтическая химия» для ординаторов и аспирантов.

Перспективы дальнейшей разработки темы связаны с продолжением экспериментально-аналитического обоснования и совершенствования стандартов качества лекарственных средств БАБ, а также дальнейшем проведении исследований по фармацевтическому анализу комбинированных ЛП, включающих бета-адреноблокаторы.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Кобелева, Т.А. Разработка и валидация спектрофотометрического способа анализа пропранолола в новой мягкой лекарственной форме «Пропранозоль» / Т.А. Кобелева, А.И. Сичко, М.И. Попова, Е.М. Шаповалова // Человек и его здоровье. – 2021. – Т. 24. – № 4. – С. 83-90.
2. Кобелева, Т.А. Фармацевтический анализ нового лекарственного препарата «Небиволозоль» с использованием метода абсорбционной спектроскопии / Т.А. Кобелева, А.И. Сичко, М.И. Попова // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. – 2022. – № 2(36). – С. 11-17.
3. Кобелева, Т.А. Создание и валидация способа количественного определения биспролола в новой фармакологической композиции «Биспролозоль» / Т.А. Кобелева, А.И. Сичко, М.И. Попова // Медицина. – 2022. – Т. 10. – № 2(38). – С. 25-33.
4. Попова, М.И. Спектрофотометрический анализ атенолола в новой мягкой лекарственной форме «Атенолозоль» / М.И. Попова, Т.А. Кобелева, А.И. Сичко, Е.М. Шаповалова // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2022. – Т. 21. – № 4. – С. 191-197.
5. Попова, М.И. Применение спектрофотометрии для количественного определения метопролола в новом лекарственном препарате «Метопролозоль» / М.И. Попова, Т.А. Кобелева, А.И. Сичко, Е.М. Шаповалова // Медицинский вестник Башкортостана. – 2022. – Т. 17. – № 3(99). – С. 38-41.
6. Попова, М.И. Спектрофотометрическое исследование карведилола в лекарственном препарате, приготовленном на аквакомплексе глицеросольвата титана / М.И. Попова, Т.А. Кобелева, А.И. Сичко // Аспирантский вестник Поволжья. – 2022. – Т. 22. – № 2. – С. 67-72.
7. Копылова, А.И. Использование современных трансдермальных проводников в изготовлении мягких лекарственных форм / А.И. Копылова, М.И. Попова, Т.А. Кобелева [и др.] // Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. – 2023. – № 1(39). – С. 51-60.
8. Попова, М.И. Разработка способа количественного определения бетаксолола гидрохлорида в мази для лечения гемангиом / М.И. Попова, Т.А. Кобелева, А.И. Сичко // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2023. – № 4. – С. 101-107.
9. Попова, М.И. Основные методы контроля качества лекарственных препаратов бета-адреноблокаторов и применение спектрофотометрии в анализе мазей

антиангиогенного действия на основе Тизоль геля (обзор) / М. И. Попова // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2024. – Т. 27. – № 1. – С. 47-54.

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

11. Попова, М.И. Изучение кинетики высвобождения пропранолола и атенолола из мази, приготовленной на геле «Тизоль». Лечение младенческих гемангиом аппликациями лекарственной композиции «Тизоль с пропранололом» / М.И. Попова, Н.А. Цап, Т.А. Кобелева [и др.] // Интернаука. – 2021. – № 46-1(222). – С. 56-61.

12. Замараева, А.И. Изучение диффузии новых титансодержащих комплексных препаратов некоторых производных 5-нитроимидазола и бета-адреноблокаторов на твердых и гелевых носителях / А.И. Замараева, М.И. Попова, Т.А. Кобелева, А.И. Сичко // Наукосфера. – 2022. – № 2-1. – С. 1-6.

13. 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.

14. Попова, М.И. Использование ультрафиолетовой спектрофотометрии для количественного определения бета-блокатора соталола в комбинированном лекарственном препарате «Соталозоль» / М.И. Попова, Т.А. Кобелева, А.И. Сичко // Инновационная наука. – 2022. – № 5-2. – С. 120-124.

15. Попова, М.И. Рассмотрение кинетики высвобождения карведилола и небиволола из мазей для лечения гемангиом / М.И. Попова, Т.А. Кобелева, А.И. Сичко // Проблемы современной науки и образования. – 2022. – № 2(171). – С. 74-78.

16. Степанова, Е.В. Идентификация метопролола в новой мягкой лекарственной форме, приготовленной на основе титансодержащего геля / Е.В. Степанова, М.И. Попова // Неделя молодежной науки – 2022: Материалы Всероссийского научного форума с международным участием, Тюмень, 24–26 марта 2022 года. – Тюмень, 2022. – С. 72.

17. Кондратьева, Д.И. Качественный анализ бисопролола в комплексном лекарственном препарате «Бисопролозоль» методом спектрофотометрии / Д.И. Кондратьева, М.И. Попова // Неделя молодежной науки – 2022: Материалы Всероссийского научного форума с международным участием, Тюмень, 24–26 марта 2022 года. – Тюмень, 2022. – С. 67-68.

18. Попова, М.И. Спектрофотометрический качественный анализ пропранолола в лекарственном препарате «Пропранозоль» / М.И. Попова // Неделя молодежной науки – 2022: Материалы Всероссийского научного форума с международным участием, Тюмень, 24–26 марта 2022 года. – Тюмень, 2022. – С. 287.

19. Попова, М.И. Изучение диффузии бисопролола и метопролола из некоторых мягких лекарственных форм / М.И. Попова, Т.А. Кобелева, А.И. Сичко, Е.М. Шаповалова // Мировая наука 2022. Проблемы и перспективы развития. Международные коммуникации: Материалы VI международной научно-практической конференции, Саратов, 12–19 января 2022 года. – Саратов, 2022. – С. 70-75.

20. Попова, М.И. Использование метода равновесного диализа для изучения интенсивности высвобождения бетаксолола из лекарственного препарата «Бетаксолозоль» / М.И. Попова // Молодой учёный года 2022: сборник статей Международного научно-исследовательского конкурса, Пенза, 25 марта 2022 года. – Пенза, 2022. – С. 154-158.

21. Попова, М.И. Спектрофотометрический способ идентификации пропранолола и небиволола в мягких лекарственных формах, приготовленных на геле «Тизоль» / М.И. Попова, Т.А. Кобелева, А.И. Сичко, Е.М. Шаповалова // Тенденции развития науки и образования. – 2023. – № 94-6. – С. 67-72.

22. Шкарин, В.С. Количественный анализ компонентов лекарственной композиции «Бетадиклозоль» / В.С. Шкарин, М.И. Попова // Неделя молодежной науки – 2023: Материалы Всероссийского научного форума с международным участием, посвященного 60-летию со дня образования Тюменского государственного медицинского университета, Тюмень, 23–25 марта 2023 года. – Тюмень, 2023. – С. 69.

23. Попова, М.И. Изучение степени высвобождения диклофенака натрия и атенолола из различных мазевых основ / М.И. Попова, Е.С. Булашева // Теоретические и практические аспекты развития науки в современном мире: сборник статей международной научной конференции, Санкт-Петербург, 17 марта 2023 года. – Санкт-Петербург, 2023. – С. 52-55.

24. Каргаполова, Я.Ю. Определение степени высвобождения бетаксолола и диклофенака натрия из мазей методом диализа / Я.Ю. Каргаполова, М.И. Попова // Неделя молодежной науки – 2023: Материалы Всероссийского научного форума с международным участием, посвященного 60-летию со дня образования Тюменского государственного медицинского университета, Тюмень, 23–25 марта 2023 года. – Тюмень, 2023. – С. 64.

25. Попова, М.И. Обнаружение бетаксолола в мягкой лекарственной форме на тизольной основе спектрофотометрическим методом / М.И. Попова, Е.Ю. Зубова // Неделя молодежной науки – 2023: Материалы Всероссийского научного форума с международным участием, посвященного 60-летию со дня образования Тюменского государственного медицинского университета, Тюмень, 23–25 марта 2023 года. – Тюмень, 2023. – С. 414-415.

26. Кобелева, Т.А. Исследование биофармацевтической доступности и анализ бета-адреноблокаторов в мягких лекарственных формах с гелем «Тизоль», используемых в педиатрической практике: монография / Т.А. Кобелева, М.И. Попова, А.И. Сичко. – Тамбов: ООО «Консалтинговая компания Юком», 2023. – 118 с.

Патенты

1. Патент № 2812613 С1 Российская Федерация, МПК G01N 21/33, G01N 1/28. Способ количественного определения лекарственного препарата Тизоль® геля: № 2023117934: заявл. 07.07.2023: опубл. 30.01.2024 / Т.А. Кобелева, А.И. Сичко, А.И. Копылова, М.И. Попова; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Список сокращений и условных обозначений

АГТ – аквакомплекс глицеросольвата титана	ДН – диклофенак натрия
АДВ – аналитическая длина волны	ЛП – лекарственный препарат
АФС – активная фармацевтическая субстанция	ЛС – лекарственное средство
БАБ – бета-адреноблокатор	МЛФ – мягкая лекарственная форма
ГФ РФ – Государственная Фармакопея Российской Федерации	МПП – молярный показатель поглощения
	ЭСП – электронный спектр поглощения