

Научная статья

УДК 544.77.022.532 ÷ 544.77.051.7 ÷ 544.77.051.62 ÷ 519.242.7

**ДИЗАЙН МИЦЕЛЛЯРНОЙ МАТРИЦЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ *О*-ФЕНИЛЕНДИАМИНА
В ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМАХ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ.
ПЛАНИРОВАНИЕ И ОПТИМИЗАЦИЯ**

Роза Фаридовна Бакеева*, Ольга Евгеньевна Вахитова, Сергей Юрьевич Гармонов,
Владимир Федорович Сопин

Казанский национальный исследовательский технологический университет, Казань, Россия

ИНФОРМАЦИЯ

История статьи:

Поступила 16.05.2022

Одобрена 16.06.2022

Принята 20.06.2022

Ключевые слова:

мицеллы,
поверхностное натяжение,
тензиометрия,
неионные поверхностно
активные вещества,
диметилсульфоксид,
оксигетилированный неол,
лекарственные формы,
о-фенилендиамин,
дибазол,
спектрофотометрия,
методология поверхности
отклика,
многофакторный экспери-
мент,
планы Бокса-Бенкена

АННОТАЦИЯ

Приведены результаты применения методологии поверхности отклика и планов Бокса-Бенкена для создания оптимальной мицеллярной матрицы с целью определения содержания *о*-фенилендиамин в лекарственных формах. В качестве мицеллярной матрицы использовали систему, содержащую оксигетилированный нонилфенол (неол APh₉₋₆) в бинарном растворителе – диметилсульфоксид (20 %) + H₂O (80 %). Применяли трех уровневые планы Бокса-Бенкена. В качестве целевой функции выбрана интенсивность полосы поглощения продукта реакции аналита с реагентом 5,7-дихлор-4,6-динитробензофуросаном при 460 нм (A₄₆₀), поскольку по ней определяли содержание аналита. Основными независимыми факторами, влияющими на целевую функцию A₄₆₀, являлись концентрация реагента, концентрация неола APh₉₋₆ и pH среды. В организованных мицеллярных средах благодаря солюбилизации участников реакции изменяются свойства реагента и продукта реакции, а также расширяется интервал pH для аналитических определений, вплоть до значений 5–10 ед. Разработана чувствительная, селективная и экспрессная методика спектрофотометрического определения *о*-фенилендиамин, обладающая хорошими метрологическими характеристиками.

DOI:

10.18083/LCAppl.2022.2.19

Для цитирования:

Бакеева Р. Ф., Вахитова О. Е., Гармонов С. Ю., Сопин В. Ф. Дизайн мицеллярной матрицы для определения *о*-фенилендиамин в лекарственных формах спектрофотометрическим методом. Планирование и оптимизация // *Жидк. крист. и их практич. использ.* 2022. Т. 22, № 2. С. 19–31.

*Автор для переписки: gurf71@mail.ru

© Бакеева Р. Ф., Вахитова О. Е., Гармонов С. Ю., Сопин В. Ф., 2022

Original Article**DESIGN OF MICELLAR MATRIX FOR DETERMINATION OF *O*-PHENYLENEDIAMINE IN DOSAGE FORMS BY SPECTROPHOTOMETRIC METHOD. PLANNING AND OPTIMIZATION**

Roza F. Bakeeva*, Ol'ga E. Vakhitova, Sergey Yu. Garmonov, Vladimir F. Sopin

*Kazan National Research Technological University, Kazan, Russia***ARTICLE INFO:****ABSTRACT****Article history:**

Received 16 May 2022

Approved 16 June 2022

Accepted 20 June 2022

Key words:micelles,
surface tension,
tensiometry,
non-ionic surfactants,
dimethyl sulfoxide,
neonol APh₉₋₆,
medicinal substances,
o-phenylenediamine,
spectrophotometry,
quantitative analysis,
multivariate experiment,
Box-Behnken plans,
response surface methodology,
dosage forms

The results of applying the response surface methodology and Box-Behnken plans to create an optimal micellar matrix in order to determine the content of *o*-phenylenediamine in dosage forms are presented. A system containing ethoxylated nonylphenol (neonol APh₉₋₆) in a binary solvent, dimethyl sulfoxide (20 %) + H₂O (80 %), was used as a micellar matrix. Three-level Box-Behnken plans were used. The intensity of the absorption band of the reaction product of the analyte with the reagent 5,7-dichloro-4,6-dinitrobenzofuroxan at 460 nm (A_{460}) was chosen as the objective function, since the content of the analyte was determined from it. The main independent factors influencing the target function of A_{460} were the concentration of the reagent, the concentration of neonol APh₉₋₆, and the pH of the medium. The properties of the reagent and reaction product are changed due to the solubilization of the reaction participants, and the pH range for analytical determinations is also expanded, up to values of 5–10 units in organized micellar media. A sensitive, selective and rapid method for the spectrophotometric determination of *o*-phenylenediamine has been developed, which has good metrological characteristics.

DOI:**10.18083/LCAppl.2022.2.19****For citation:**Bakeeva R. F., Vakhitova O. E., Garmonov S. Yu., Sopin V. F. Design of micellar matrix for determination of *o*-phenylenediamine in dosage forms by spectrophotometric method. Planning and optimization. *Liq. Cryst. and their Appl.*, 2022, **22** (2), 19–31 (in Russ.).

*Corresponding author: gurf71@mail.ru

© Bakeeva R. F., Vakhitova O. E., Garmonov S. Yu., Sopin V. F., 2022

Введение

Производство высококачественных лекарственных препаратов требует эффективных методов их контроля. Особенно это обусловлено проникновением на рынок фальсифицированной, забракованной или с истекшим сроком годности продукции. Одним из элементов, которые обеспечивают научно обоснованную оценку качества фармацевтической продукции в рамках концепции *Quality by Design* (QbD), является контроль состава лекарственных препаратов [1].

Ароматический амин – *о*-фенилендиамин (OPhDA) находит широкое применение при синтезе дибазола, который, как известно, обладает спазмолитическим, иммуномодулирующим, гипотензивным свойствами. В связи с высокой гепато-, нефро- и генотоксичностью OPhDA содержание такой примеси в лекарственных препаратах строго нормируется. OPhDA также широко используется для синтеза фунгицидов, содержащих в своей структуре фрагмент бензимидазола, в синтезе ветеринарных антигельминтных препаратов, является полупродуктом при получении пестицидов и красителей [2]. В связи с этим разработка чувствительных и селективных методов контроля качества фармацевтической продукции является важной и актуальной задачей, особенно при оценке соответствия и безопасности фармацевтических субстанций и лекарственных форм, в том числе в процессе их хранения.

Спектрофотометрическое определение OPhDA основано на получении производных с альдегидами, солями церия, индофенольной реакции [3, 4]. Однако в этом случае реакции характеризуются невысокими скоростями, необходимостью их проведения при повышенных температурах, а также многостадийностью аналитических процедур. Кроме того, большинство реакций получения производных OPhDA отличаются невысокой избирательностью и чувствительностью определений. Все эти факторы ограничивают возможности доступного для практики спектрофотометрического метода определения. В связи с этим представляло интерес применение в качестве хромогенного реагента 5,7-дихлор-4,6-динитробензофураксана (DCDNBPh), который,

как показано нами ранее, может быть модифицирован в мицеллярной среде [5] и проявлять высокую селективность и чувствительность в анализе 4-аминофенола в лекарственных препаратах на основе парацетамола [6].

Применение организованных сред, в частности мицеллярных, в спектрофотометрии приводит к улучшению аналитических характеристик за счет эффектов концентрирования лекарственных веществ (ЛВ) и реагентов в мицеллярной псевдофазе. Специфика строения мицеллярных агрегатов позволяет солюбилизовать соединения, в том числе лекарственные вещества, ЛВ и реагенты, имеющие как гидрофобный, так и гидрофильный характер [7–11].

Одним из перспективных методов поиска оптимальных условий для аналитических определений различных соединений является методология поверхности отклика (МПО) с использованием планов Бокса-Бенкена [12, 13].

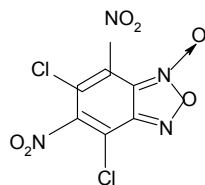
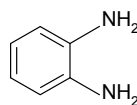
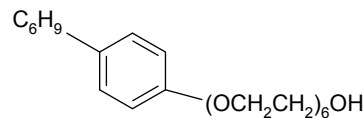
Целью настоящей работы является исследование возможности использования организованных мицеллярных сред на основе неонла APh₉₋₆ для спектрофотометрического определения *о*-фенилендиамина в лекарственных препаратах на основе дибазола с привлечением методологии поверхности отклика и планов Бокса-Бенкена.

Экспериментальная часть

5,7-Дихлор-4,6-динитробензофураксан синтезирован по известной методике [14] и любезно предоставлен проф. Л. М. Юсуповой. Использовали коммерческую субстанцию *о*-фенилендиамина фармакопейной чистоты.

Для создания мицеллярных матриц использовали неионное поверхностно активное вещество (ПАВ) – оксиэтилированный нонилфенол, 17-(4-нонилфеноксид)-3,6,9,12,15-пентаоксагептадеканол-1, (неонол APh₉₋₆) (Fluka Chemie AG).

Определение *о*-фенилендиамина проводили в водной мицеллярной матрице APh₉₋₆ в бинарном растворителе до и после формирования мицелл. Критическая концентрация мицеллообразования (ККМ) в системе APh₉₋₆ + H₂O (80 %) + DMSO (20 %) равна $4,89 \pm 0,65 \cdot 10^{-5}$ моль/л. Остальные реактивы были марки х.ч.

5,7-дихлор-4,6-динитробензофуросан
(DCDNBPh)o-фенилендиамин
(OPhDA)оксиэтилированный нонилфенол
(APh₉₋₆)

Для приготовления матрицы анализатора использовали биполярный протонный растворитель диметилсульфоксид, DMSO фирмы «Chemapol» и воду, очищенную на установке «Millipore compact laboratory high purity system». Электрическое сопротивление воды 18,2 МОм. Состав смешанного растворителя H₂O (80 %) – DMSO (20 %).

Определение поверхностного натяжения проводили тензиометрическим методом с использованием тензиометра дю Нуи, оснащенного платиновым кольцом. При проведении спектрофотометрических измерений для построения градуировочного графика готовили растворы OPhDA с концентрацией в диапазоне от $1,0 \cdot 10^{-6}$ до $1,0 \cdot 10^{-4}$ моль/л.

Использование ПАВ позволило перейти от DMSO к водосодержащим растворителям (H₂O–DMSO). Состав смешанного растворителя H₂O–DMSO – 80:20 %.

Спектрофотометрические измерения проводили на приборе СФ «Agilent 8453» в спектральном диапазоне от 400 до 700 нм. При измерении оптической плотности растворов были использованы кварцевые кюветы с толщиной поглощающего слоя 0,2; 0,50 и 1,0 см. В качестве раствора сравнения при проведении дифференциальных спектрофотометрических измерений использовали раствор «холостого опыта».

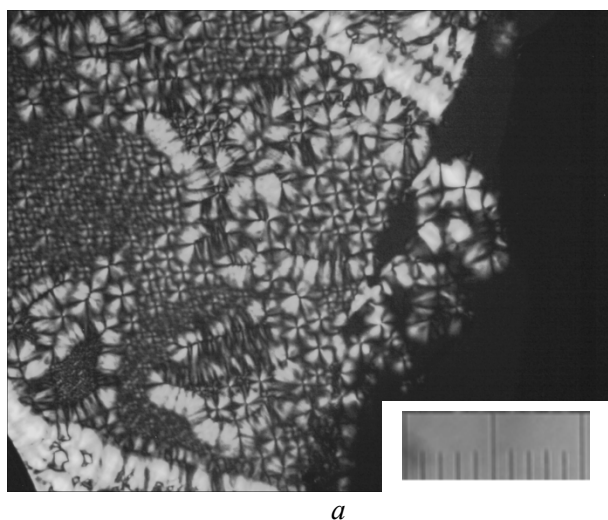
Определение текстур ламеллярной мезофазы проводили на поляризационном микроскопе Биолам Л 212. Для расчета эффектов и построения по-

верхностей отклика использовали пакет программ «Statistica 10».

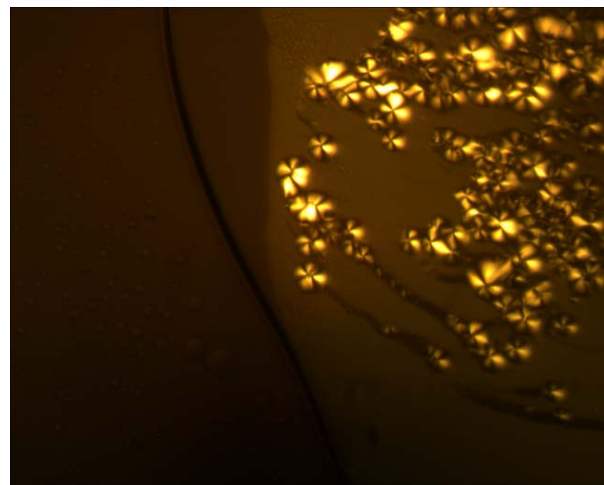
Результаты и их обсуждение

Применение мицеллярной матрицы является одним из актуальных и перспективных методов для аналитических определений [6–8, 11]. В этом аспекте нами исследована система, содержащая неонол APh₉₋₆ в бинарном растворителе диметилсульфоксид (DMSO) 20 % – вода (80 %) для определения o-фенилендиамина (OPhDA) и выявлены ее преимущества. Интерес именно к этому неонолу связан с тем, что нами показано формирование ламеллярной мезофазы. На рис. 1 приведена текстура раствора APh₉₋₆ + H₂O. Эта текстура является характерной для ламеллярной или neat мезофазы, L_a. В этой фазе молекулы ПАВ располагаются в бислои, часто простирающиеся на большие расстояния (микрон и более), которые разделены прослойками воды [15, 16].

Формирование ламеллярной мезофазы косвенно свидетельствует о том, что ее предшественниками являются пластинчатые мицеллы. Кроме того, образование сферических мицелл при таком коротком углеводородном хвосте маловероятно. Образование ассоциатов подтверждено нами тензиометрическим методом. На рис. 2 представлена зависимость поверхностного натяжения (γ , Дж/м²) от концентрации неонла (APh₉₋₆, моль/л).



a



b

Рис. 1. Текстура «Мальтийские кресты» (Maltese crosses) мезофазы растворов:
a – 10 % APh₉₋₆ и 90 % H₂O; *b* – 20 % APh₉₋₆ и 80 % H₂O. Николи скрещены.

Fig. 1. «Maltese crosses» texture of the mesophase of solutions:
a – 10 % APh₉₋₆ and 90 % H₂O; *b* – 20 % APh₉₋₆ and 80 % H₂O. Nicol crossed.

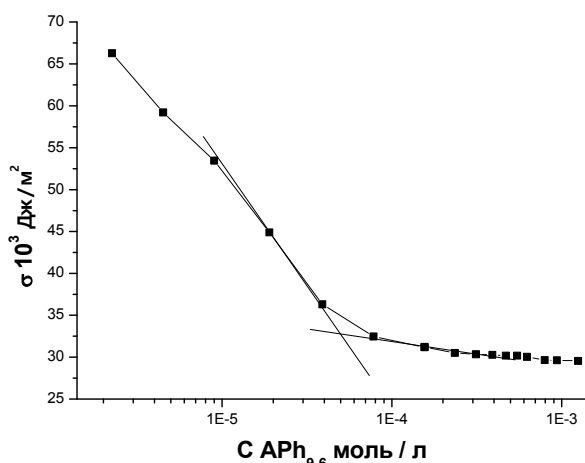
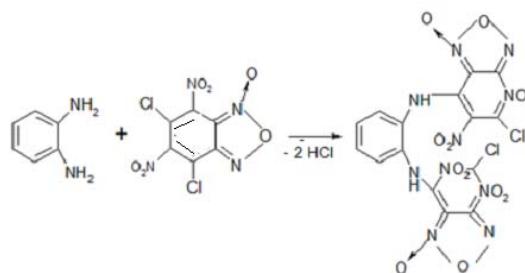


Рис. 2. Изотерма поверхностного натяжения растворов APh₉₋₆ (*t* = 25 °C, $C_{\text{КМ}} = 4,89 \pm 0,65 \cdot 10^{-5}$ моль/л)

Fig. 2. Surface tension isotherm of APh₉₋₆ solutions
 (*t* = 25 °C, CMC = $4.89 \pm 0.65 \cdot 10^{-5}$ mol/l)

Как известно, организованные среды можно применять для анализа лекарственных препаратов [6–8, 14], однако в каждом случае необходимо подтверждение такой возможности.

Для определения содержания OPhDA мы использовали реакцию нуклеофильного замещения при реакции OPhDA с реагентом 5,7-дихлор-4,6-динитробензофуроксаном, DCDNBPh:



Проведенные нами серии однофакторных экспериментов показали, что спектры поглощения OPhDA имеют полосу поглощения (ПП) при 290 нм, DCDNBPh – при 400 нм. Спектры поглощения продукта взаимодействия OPhDA с аналитическим реагентом при значениях pH ~ 5–7 ед. содержат интенсивную полосу поглощения при $\lambda_{\text{max}} = 440\text{--}465$ нм. Наибольшее и практически постоянное значение интенсивности сигнала наблюдается при pH ≥ 1,68–7 ед. и времени взаимодействия 1–3 мин. Таким образом, присутствие APh₉₋₆ обеспечивает протекание реакции нуклеофильного замещения в водосодержащих средах. Высокая скорость реакций в присутствии APh₉₋₆ может быть связана с увеличением концентрации как аналитического реагента, так и самого ароматического амина в мицеллярной псевдофазе (эффекты концентрирования и увеличения реакционной способности) [9].

Окраска, связанная с появлением продукта реакции, устанавливается практически мгновенно.

Кривая зависимости A_{460} раствора продукта реакции от концентрации анализата выходит на предел при концентрации, равной $\sim 2 \cdot 10^4$ моль/л, что соответствует $C_{\text{ДХДНБФ}}/C_{\text{OPhDA}} = 1$. Это позволяет сделать предположение о стехиометрии реакции в данных условиях: 1:1, что соответствует приведенному выше уравнению реакции.

Для выявления оптимальных условий для определения OPhDA мы использовали методоло-

гию поверхности отклика и трехуровневые планы Бокса-Бенкена. В качестве целевой функции, по которой определяли содержание OPhDA, выбрана интенсивность полосы поглощения (ПП) при 460 нм, A_{460} . Основными независимыми факторами, влияющими на целевую функцию (A_{460}), являются концентрация реагента, C_{DCDNBPb} , ммоль/л (X_1), концентрация неолола, $pC_{\text{Aph9-6}}$ (X_2), кислотность среды, pH (X_3). В табл. 1 представлены выбранные диапазоны изученных факторов, их нижний, средний и верхний уровни.

Таблица 1. Декодированные значения факторов, влияющих на интенсивность полосы поглощения A_{460}

Table 1. Decoded values of the factors influencing the intensity of absorbance band A_{460}

Фактор		Уровень		
		нижний -1	средний 0	верхний +1
X_1	C_{DCDNBPb} , ммоль/л $C_{\text{DCDNBPb}}/C_{\text{OPhDA}}$	0,05 0,5:1	0,10 1:1	0,15 1,5:1
X_2	$pC_{\text{Aph9-6}}$	3,82 до ККМ	3,32 ККМ	2,82 после ККМ
X_3	pH	2,00	6,00	10,00

Таблица 2. Значения A_{460} , план Бокса-Бенкена и уровни факторов для дизайна поверхности отклика в исследованных системах при определении *о*-фенилендиамина, OPhDA

Table 2. Values of A_{460} , Box-Behnken design and factor levels for response surface design in studied systems for the determination of *o*-phenylenediamine, OPhDA

№ опыта	Кодированные уровни факторов			Реальные (декодированные) уровни факторов			Отклик, A_{460}
	X_1^*	X_2^*	X_3^*	X_1 C_{DCDNBPb} , ммоль/л	X_2 , $pC_{\text{Aph9-6}}$	X_3 pH	
1	+1	0	+1	0,150	3,32	10,00	0,627
2	+1	0	-1	0,150	3,32	2,00	0,497
3	-1	0	+1	0,0500	3,32	10,00	0,202
4	-1	0	-1	0,0500	3,32	2,00	0,167
5	+1	+1	0	0,150	2,82	6,00	0,595
6	+1	-1	0	0,150	3,82	6,00	0,099
7	-1	+1	0	0,0500	2,82	6,00	0,177
8	-1	-1	0	0,0500	3,82	6,00	0,258
9	0	+1	+1	0,100	2,82	10,00	0,477
10	0	-1	+1	0,100	3,82	10,00	0,089
11	0	+1	-1	0,100	2,82	2,00	0,399
12	0	-1	-1	0,100	3,82	2,00	0,101
13	0	0	0	0,100	3,32	6,00	0,484
14	0	0	0	0,100	3,32	6,00	0,454
15	0	0	0	0,100	3,32	6,00	0,479
	1,00	0,48	0,66	0,150	$9,29 \cdot 10^{-5}$ моль/л	7,50	0,661* 0,700

Концентрация *о*-фенилендиамина во всех опытах поддерживалась постоянной $C_{\text{OPhDA}} = 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л

*Экспериментальное значение A_{460}

Количественную оценку зависимости величины отклика от значимых факторов получили из серии выполненных спектральных экспериментов в соответствии с приведенным в табл. 2 трехуровневым планом Бокса-Бенкена. Состав матрицы и значения отклика приведены в той же таблице.

Нами проведено планирование и выполнение многофакторного эксперимента; построение математической модели ($y = f(X_i)$). Изучение влияния факторов (X_i) на целевую функцию ($Y = A_{460}$) возможно путем построения и анализа поверхности отклика, дизайна лучшей матрицы. В планах Бокса-Бенкена каждый фактор варьировался на трех уровнях, поэтому число опытов равно 13,

$$Y = A_{460} = 0,307 + 0,212X_1 + 0,0417(X_1)^2 + 0,253X_2 + 0,148X_1 + 0,066X_3 + 0,057(X_3)^2 + 0,289X_1X_2 + 0,124X_1(X_2)^2 + 0,068(X_1)^2X_2,$$

где: значение 0,307 является свободным членом; значения с индексом X_n – регрессионный коэффициент линейных (главных) факторных эффектов; значения с индексом X_n^2 – регрессионный коэффициент квадратичных (нелинейных) факторных эффектов; значения с индексом X_nX_m – регрессионный коэффициент эффектов взаимодействия [11, 12]. Значение коэффициента детерминации $R^2 = 0,9989$, что указывает на адекватность модели.

Из полученного уравнения следует, что главные и квадратичные эффекты наблюдаются для всех факторов. В определенной степени выражена зависимость факторов между собой, причем

причем в центре плана опыт повторяли трижды для определения ошибки эксперимента.

Кодирование уровней факторов осуществлялось на основе экспериментальных данных по формуле:

$$X_i^* = (X_i - M)/H,$$

где X_i^* – кодированный уровень i -го фактора, X_i – декодированный (реальный) уровень i -го фактора, M – среднее значение, а H – полуширина интервала.

$M = X(\text{верхний уровень}) + X(\text{нижний уровень})/2$,

$H = X(\text{верхний уровень}) - X(\text{нижний уровень})/2$

Декодирование уровней факторов выполнялось по формуле $X_i = X_i^* \cdot H + M$. Модель представляет собой полином и имеет вид:

наибольшее влияние оказывают друг на друга факторы X_1 и X_2 , т.е. концентрации аналитического реагента (DCDNBPh) и APh₉₋₆. Математическая модель адекватно описывает поверхность отклика – графическое представление зависимости отклика от величин значимых факторов. Ниже изображены поверхности отклика для концентрации реагента DCDNBPh и концентрации APh₉₋₆ (рис. 3), концентрации реагента DCDNBPh и pH (рис. 4), концентрации APh₉₋₆ и pH (рис. 5). Следует отметить, что поверхность отклика имеет нелинейный характер и pH слабо влияет на ее вид.

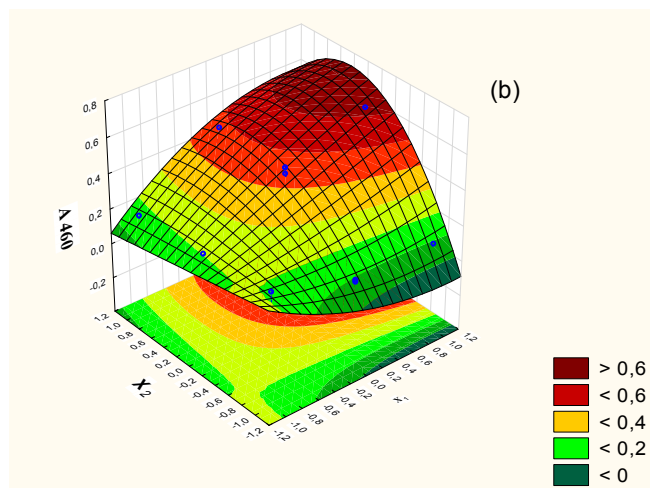
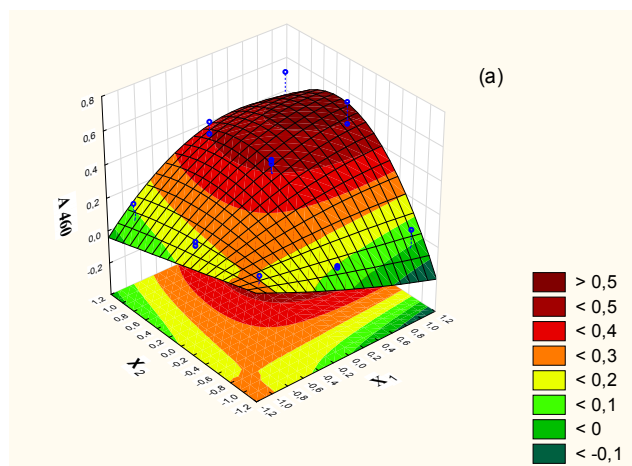


Рис. 3. Поверхности отклика зависимости A_{460} от концентраций DCDNBPh (X_1) и APh₉₋₆ (X_2) при:
 а – pH 2, $X_3 = -1$; б – pH 10, $X_3 = 1$

Fig. 3. Response surfaces of A_{460} versus DCDNBPh (X_1) and APh₉₋₆ (X_2) concentrations: а – pH 2, $X_3 = -1$; б – pH 10, $X_3 = 1$

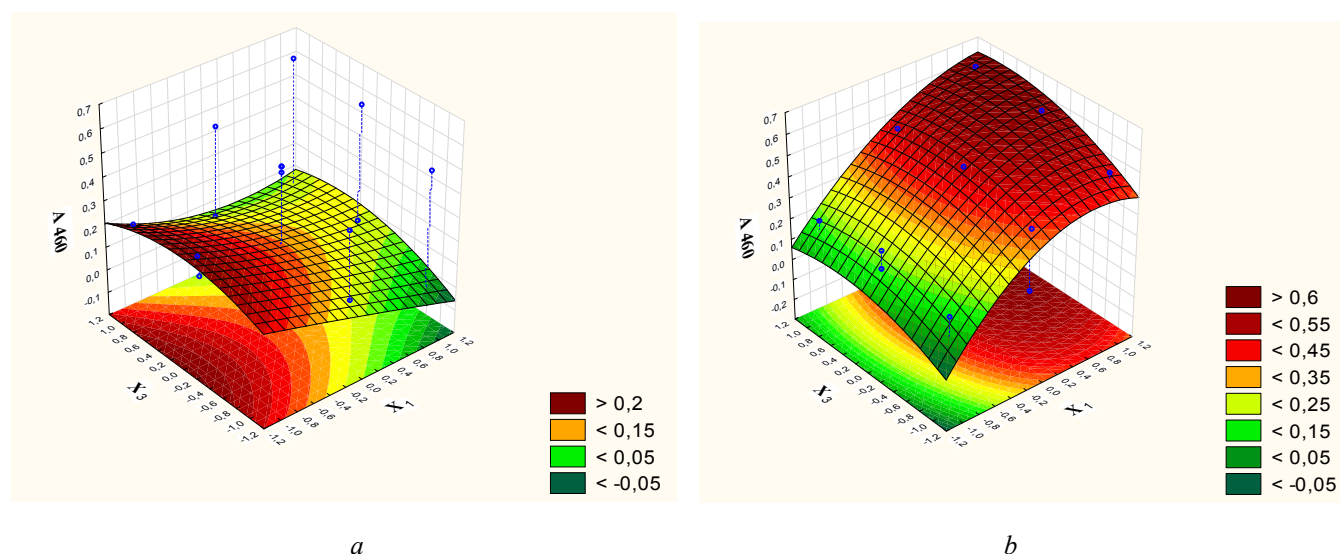


Рис. 4. Поверхности отклика зависимости A_{460} от концентрации DCDNBPh (X_1) и pH (X_3):

a – APh₉₋₆, X_3 -1, до ККМ; b – APh₉₋₆, X_3 1, после ККМ

Fig. 4. Response surfaces of A_{460} versus DCDNBPh (X_1) concentration and pH (X_3):

a – pC_{APh9-6}, X_3 -1, up to CMC; b – pC_{APh9-6}, X_3 1, after CMC

Сравнение 3D-графиков рис. 4, a , b явно показывает увеличение (трехкратное) интенсивности ПП A_{460} при формировании мицелл и, следовательно, солюбилизацию продукта реакции в мицеллах.

Различие в графиках рис. 5, a , b вызвано тем,

что в случае (a) реагента недостаточно для формирования продукта при $C_{\text{DCDNBPh}}/C_{\text{OPhDA}}$ 0,5:1. При $C_{\text{DCDNBPh}}/C_{\text{OPhDA}}$ 1,5:1 реакция проходит нацело.

Для сравнения эффектов исследованных факторов на рис. 6 представлена диаграмма Парето.

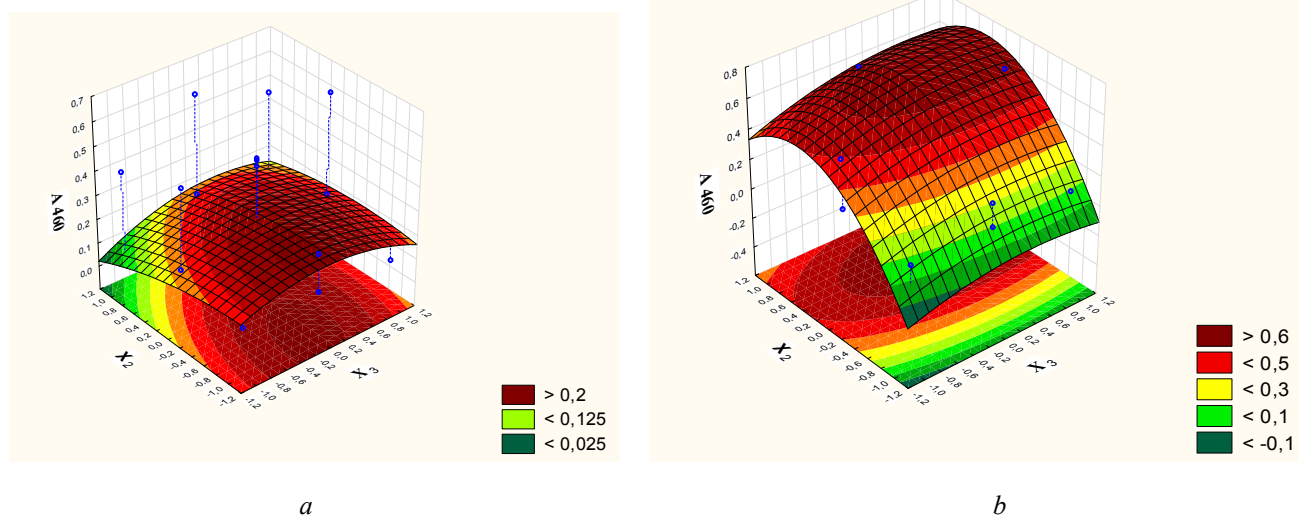


Рис. 5. Поверхности отклика зависимости A_{460} от концентрации APh₉₋₆, (X_2) и pH (X_3):

a – C_{DCDNBPh} , X_1 -1, $C_{\text{DCDNBPh}}/C_{\text{OPhDA}}$ 0,5:1, b – C_{DCDNBPh} , X_3 1, $C_{\text{DCDNBPh}}/C_{\text{OPhDA}}$ 1,5:1

Fig. 5. Response surfaces of A_{460} versus APh₉₋₆ (X_2) concentration and pH (X_3):

a – C_{DCDNBPh} , X_1 -1, $C_{\text{DCDNBPh}}/C_{\text{OPhDA}}$ 0.5:1, b – C_{DCDNBPh} , X_3 1, $C_{\text{DCDNBPh}}/C_{\text{OPhDA}}$ 1.5:1

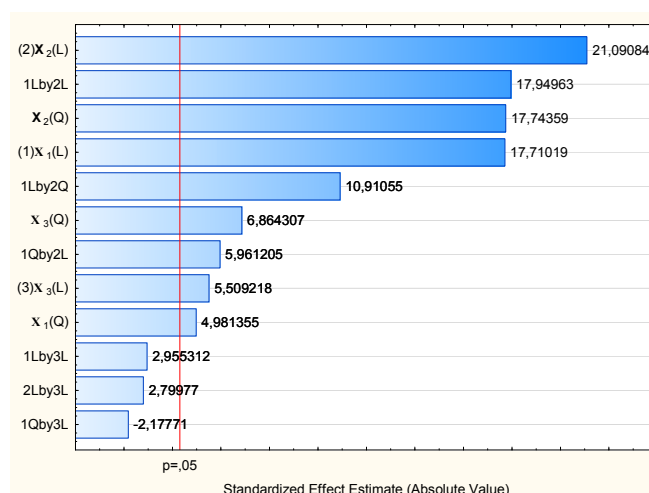


Рис. 6. Диаграмма Парето стандартизированных эффектов факторов на целевую функцию (интенсивность ПП при A_{460}). X_1 $C_{DCDNBPh}$, X_2 $p_{C_{A_{Ph9-6}}}$, X_3 pH, L, Q – линейные и квадратичные эффекты. В рассмотрение брались эффекты с уровнем значимости $p > 0,05$. В этом случае доверительная вероятность 95 %

Fig. 6. Pareto diagram of standardized factor effects on the objective function (AB intensity at A_{460}). X_1 $C_{DCDNBPh}$, X_2 $p_{C_{A_{Ph9-6}}}$, X_3 pH, L, Q – linear and quadratic effects. Effects with a significance level of $p > 0.05$ were taken into consideration. In this case, the confidence level is 95 %.

Таким образом, в системе A_{Ph9-6} + DMSO (20 %) + H_2O (80 %) на интенсивность ПП A_{460} наибольшее влияние оказывает концентрации A_{Ph9-6} и DCDNBPh. Влияние pH среды значительно меньше.

Для определения состава оптимальной мицеллярной матрицы мы воспользовались опцией «Профили предсказанных значений и функции желательности». Точка оптимума зависит от «же-

лательности». При «желательности», равной 1,5, получены следующие координаты оптимума (максимума) в кодированных значениях: $X_1:1,00$; $X_2:0,48$; $X_3:0,66$ (рис. 7). Декодированные значения составляют $C_{DCDNBPh} = 0,15$ ммоль/л, $C_{A_{Ph9-6}} = 9,29 \cdot 10^{-5}$ М, pH = 7,50. Интенсивность ПП A_{460} продукта реакции при оптимальных условиях экспериментальная: 0,661, расчетная: 0,700.

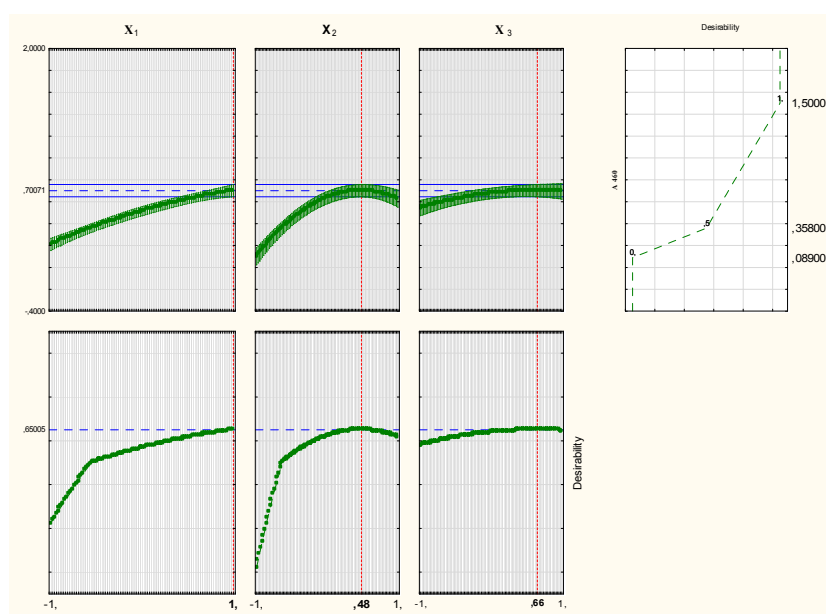


Рис. 7. Профили предсказанных значений и функции «желательности»

Fig. 7. Profiles of predicted values and desirability functions

В оптимальных условиях наблюдается увеличение интенсивности сигнала аналитической формы при формировании мицелл и стабилизация ПП А₄₆₀.

На этой основе была разработана методика спектрофотометрического определения OPhDA в лекарственных препаратах на основе дибазола. Изучено влияние ряда органических веществ, являющихся потенциальными компонентами реак-

ционных сред, содержащих OPhDA, на интенсивность сигнала. Это аминокислоты, ацетилсалициловая и аскорбиновая кислоты, фенол и другие органические соединения (табл. 3). Правильность методики при этом оценивалась с помощью критерия «введено–найдено». Компоненты лекарственных форм не оказывают мешающего влияния на результаты определений (табл. 4).

Таблица 3. Влияние мешающих компонентов на результаты спектрофотометрического определения *о*-фенилендиамина ($n = 4$, $P = 0,95$)

Table 3. Effect of interfering components on the results of spectrophotometric determination of *o*-phenylenediamine ($n = 4$, $P = 0.95$)

Состав среды, (мг/л)	Аналит, мкг/мл		S_r
	введено	найдено	
Стандарт аминокислот (6,11)	1,1	1,15±0,06	0,06
	5,12	4,80±0,38	0,05
Дибазол (122,2)	0,54	0,6±0,02	0,06
Фенол (3,5)	0,550	0,60±0,06	0,06
Уксусный ангидрид (50)	1,0	1,02±0,02	0,05
Папазол (10)	0,54	0,6±0,02	0,06
Папазол (130)	0,54	0,6±0,02	0,06

Таблица 4. Мешающее влияние компонентов лекарственных форм на результаты определения *о*-фенилендиамина, OPhDA

Table 4. Interfering effect of components of dosage forms on the results of determination of *o*-phenylenediamine

Компоненты	Содержание компонентов, мкг/мл	Введено OPhDA мкг/мл	Найдено OPhDA мкг/мл	S_r
		0,54	0,61±0,10	0,059
		5,40	5,15±0,21	0,016
Крахмал Сахар молочный (лактоза)	8,00	0,54	0,58±0,06	0,041
	3,5	0,54	0,59±0,08	0,053
Глицерин/Этанол 96 %	108 мг/0,1 г	0,54	0,56±0,05	0,038
Фенол	3,5	0,54	0,62±0,09	0,054

Оценку робастности проводили при исследовании влияния различных факторов (условий) на результат измерения в рамках как однофакторного, так и многофакторного эксперимента. В оптимизированных условиях зависимость оптической плотности от концентрации OPhDA в растворе линейна и описывается уравнением:

$$A = 0,0184 + 157,89 \cdot C \text{ (мг/мл)} (r^2 = 0,9996).$$

Линейность графика сохраняется в диапазоне при-

менения OPhDA: $5 \cdot 10^{-7}$ – $2,0 \cdot 10^{-4}$ моль/л (0,108–54,0 мкг/мл) и выше. Предел количественного определения составил 0,126 мкг/мл ($1,18 \cdot 10^{-6}$ моль/л).

Возможность определения OPhDA в анализируемых объектах проверялась на примере анализа готовых лекарственных форм. Результаты (табл. 5) свидетельствуют о том, что содержание компонентов не выходит за пределы установленных норм (нормируемого содержания).

Таблица 5. Результаты определения *о*-фенилендиамин в лекарственных формах ($n = 5$, $P = 0,95$)

Table 5. Results of *o*-phenylenediamine determination in dosage forms ($n = 5$, $P = 0.95$)

Наименование	Лекарственная форма	Содержание OPhDA, $\omega \cdot 10^{-3}$, %
Бендазол	Субстанция	0,48±0,02
Дибазол	Таблетки по 20 мг	0,25±0,01
Бендазол	Раствор для инъекций 10 мг/мл	0,15±0,01

В случае необходимости модификации данной методики для анализа OPhDA в других препаратах можно сразу приступить к планированию многофакторного эксперимента.

Выводы

Таким образом, применение организованных сред на основе ПАВ оказалось эффективным для повышения чувствительности аналитической реакции определения лекарственного вещества *о*-фенилендиамин (OPhDA в системе $A_{Ph_{9-6}} + DMSO$ (20 %) + H_2O (80 %)). В организованных мицеллярных средах благодаря солубилизации участников реакции изменяются не только свойства реагента и продукта реакции, но и состояние равновесия реакции, происходит расширение интервала pH вплоть до значений 5–10 ед. pH, недоступных в отсутствие ПАВ из-за угрозы протекания конкурирующей реакции гидролитического превращения 5,7-дихлор-4,6-динитробензофуросана, DCDNBPh. На этой основе разработана чувствительная, селективная и экспрессная методика спектрофотометрического определения OPhDA с использованием модифицированного поверхностно-активным веществом ($A_{Ph_{9-6}}$) реагента 5,7-дихлор-4,6-динитробензофуросана. Она обладает хорошими аналитическими и метрологическими характеристиками. Дизайн мицеллярной матрицы с помощью методологии поверхности отклика и планов Бокса-Бенкена является важным инструментом оптимизации процесса разработки методики, поскольку

позволяет достичь наибольшей эффективности аналитических определений при минимальном количестве затрат. Особую важность это приобретает при разработке типовых методик анализа родственных веществ с близкими свойствами, поскольку позволяет свести к минимуму количество однофакторных экспериментов.

Благодарность. Авторы выражают благодарность проф. Л. М. Юсуповой за предоставленный образец 5,7-дихлор-4,6-динитробензофуросана.

Acknowledgments. The authors express their gratitude to Prof. L.M. Yusupova for providing a sample of 5,7-dichloro-4,6-dinitrobenzofuroxan.

Список источников / References

1. Lawrence X.Yu. Pharmaceutical Quality by Design: Product and Process Development, Understanding, and Control. *Pharm. Res.*, 2008, 25, 2463. DOI: 10.1007/s11095-008-9667-3.
2. Smiley R.A. Phenylene- and Toluenediamines. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. Wiley, 2000, 19, 405–411. DOI:10.1002/14356007a19_405.
3. Полнодек-Фабини Р., Бейрих Т. Органический анализ. Л.: Химия, 1981. 624 с. [Pohloudek-Fabini R., Beyrich Th. Organische analyse. Leipzig: Akademische Verlagsgesellschaft, 1975, 621 p.]
4. Коренман И. М. Фотометрический анализ. Методы определения органических соединений. М.: Химия, 1970. 343 с. [Korenman I.M. Photometric analysis. Methods for the determination of organic compounds. M.: Chemistry, 1970, 343 p. (in Russ.)].
5. Бакеева Р. Ф., Горбунова Т. С., Сафиуллина Л. И., Вахитова О. Е., Гармонов С. Ю., Юсупова Л. М., Сопин В. Ф. Модификация 5,7-дихлор-4,6-динитробензофуросана для применения в качестве аналитического реагента и компонента биологически активных композиций. Ч. 1: Иммунизация смешанными мицеллами // *Вестник Казан. технол. ун-та*. 2010. № 5. С. 48–54. [Bakeeva R.F., Gorbunova T.S., Safiullina L.I., Vakhitova O.E., Garmonov S.Yu., Yusupova L.M., Sopin V. F. Modification of 5,7-dichloro-4,6-dinitrobenzofuroxane for use as an analytical reagent and a component of biologically active compositions. Part 1: Immobilization with mixed micelles. *Bull. of Kazan. Tekhnol. Univ.*, 2010, (5), 48–54 (in Russ.)].

6. Бакеева Р. Ф., Горбунова Т. С., Вахитова О. Е., Гайсина А. И., Юсупова Л. М., Гармонов С. Ю., Сопин В. Ф. Спектрофотометрическое определение *n*-аминофенола в лекарственных препаратах при использовании 5,7-дихлор-4,6-динитробензофуросана как реагента в мицеллярной среде // *Хим.-фарм. журн.* 2010. Т. 44, № 4. С. 51–55. [Bakeeva R.F., Gorbunova T.S., Vakhitova O.E., Gaisina A.I., Yusupova L.M., Garmonov S.Y., Sopin V.F. Spectrophotometric determination of p-aminophenol in drugs using 5,7-dichloro-4,6-dinitrobenzofuroxan reagent in micellar medium. *Pharm. Chem. J.*, 2010, **44** (5), 282–286. DOI: 10.1007/s11094-010-0450-5/].
7. Штыков С. Н. Поверхностно-активные вещества в анализе. основные достижения и тенденции развития // *ЖАХ.* 2000. Т. 55, № 7. С. 679–686. [Shtykov S.N. Surfactants in analysis: progress and development trends. *J. Anal. Chem.*, 2000, **55** (7), 608–614].
8. Чернова Р. К., Доронин С. Ю., Гусакова Н. Н., Гаврилова Ю. Ю. Проблема избирательности и чувствительности спектрофотометрического определения компонентов лекарственных средств в водных, неводных и организованных средах // *Проблемы аналитической химии* / под ред. Г. К. Будникова, С. Ю. Гармонова. М. : Аргмак-Медиа, 2013. Т. 16. С. 187–229. [Chernova R.K., Doronin S.Yu., Gusakova N.N., Gavrilova Yu.Yu. The problem of selectivity and sensitivity of spectrophotometric determination of drug components in aqueous, non-aqueous and organized media. *Problems of Anal. Chem.* / eds. G.K. Budnikov, S.Yu. Garmonov. Moscow : Argamak-Media, 2013, **16**, 187–229. (in Russ.)].
9. Березин И. В., Мартинек К., Яцимирский А. К. Физико-химические основы мицеллярного катализа // *Успехи химии.* 1973. Т. 42, № 10. С. 1729–1756. [Berezin I.V., Martinek K., Yatsimirskii A.K. Physico-chemical foundations of micellar catalysis. *Russ. Chem. Rev.*, 1973, **42** (10), 787–802. DOI: RC1973v042n10ABEH002744].
10. Bhat P.A., Rather G.A. Solubilization capabilities of some cationic, anionic, and nonionic surfactants toward the poorly water-soluble antibiotic drug erythromycin. *J. Chem. Eng. Data*, 2008, **53**, 1271–1277.
11. Бакеева Р. Ф., Гармонов С. Ю., Вахитова О. Е., Сопин В. Ф. Спектрофотометрическое определение аминокислотных лекарственных препаратов в мицеллярных матрицах при использовании планов Бокса-Бенкена // *ЖАХ.* 2022. Т. 77, № 6. С. 540–549. DOI: 10.31857/S0044450222060032. [Bakeeva R.F., Garmonov S.Yu., Vakhitova O.E., Sopin V.F. Determination of amine-containing drugs in micellar matrices by spectrophotometry using Box-Behnken plans. *J. Anal. Chem.*, 2022, **77** (6), 686–695. DOI: 10.1134/S106193482206003X].
12. Ferreira S.L.C., Bruns R.E., Ferreira H.S., Matos G.D., David J.M., Brandao G.C., Silva E.G.P., Portugal L.A., Reisc P.S., Souza A.S., Santos W. Box-Behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods. *Analytica Chimica Acta*, 2007, **597**, 179–186. DOI:10.1016/j.aca.2007.07.011.
13. Адлер Ю. П., Маркова Е. В., Граеновский Ю. В. Планирование при поиске оптимальных условий. М. : Мир, 2004. 725 с. [Adler Yu.P., Markova E.V., Graenovskii Yu.V. Planning for the search for optimal conditions. M. : Mir, 2004. 725 с. (in Russ.)].
14. Патент № 2013132641 РФ. МПК C07D 271/12. Способ синтеза 4,6-динитро-5,7-дихлорбензофуросана / Юсупова Л. М., Гармонов С. Ю., Горелова Е. Г., Васютина Е. А., Мухаметшина А. М.; заявитель и патентообладатель Общество с ограниченной ответственностью «Аурмид», № 2013132641/04; заявл. 16.07.2013; опубл. 27.01.2015, Бюл. № 3. [Russian patent No. 2013132641 RF. IPC C07D 271/12. Method for the synthesis of 4,6-dinitro-5,7-dichlorobenzofuroxan / Yusupova L.M., Garmonov S.Yu., Gorelova E.G., Vasyutina E.A., Mukhametshina A.M.; Right holders: Aurmid Limited Liability Company, No. 2013132641/04; declared 07.16.2013; publ. 01.27.2015; Bull. No. 3 (in Russ.)].
15. Rosevear F.B. The microscopy of the liquid crystalline neat and middle phases of soaps and synthetic detergents. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1954, **31**, 628–639. DOI: 10.1007/BF02545595.
16. Fairhurst C., Fuller S., Gray J., Holmes M.C., Tiddy G.J.T. Lyotropic surfactant liquid crystals. *Handbook of Liquid Crystals* / eds. by D. Demus, J. Goodby, G.W. Gray, H.-W. Spiess, V. Vill. WILEY-VCH Verlag GmbH, 1998, **3**, Ch. VII, 341–392.

Вклад авторов:

¹Бакеева Р. Ф. – разработка концепции научной работы, консультация по вопросам планирования, методологии и реализации исследования, написание текста статьи.

²Вахитова О. Е. – проведение исследований.

³Гармонов С. Ю. – проведение исследований, подготовка иллюстраций, редактирование текста статьи.

⁴Сопин В. Ф. – разработка концепции научной работы, редактирование текста статьи.

Contribution of the authors:

¹Bakeeva R. F. – development of the concept of scientific work, consultation on planning, methodology and implementation, writing the text of the article.

²Vakhitova O.E. – conducting research.

³**Garmonov S. Yu.** – research, illustrations, editing the text of the article.

⁴**Sopin V. F.** – development of the concept of scientific work, editing the text of the article

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflicts of interests.

Orcid отсутствует у всех авторов.

Поступила 16.05.2022, одобрена 16.06.2022, принята 20.06.2022
Received 16.05.2022, approved 16.06.2022, accepted 20.06.2022