

Научная статья

УДК: 544.77.022.532:544.77.051.7:544.77.051.62:519.242.7

**МИЦЕЛЛЯРНАЯ МАТРИЦА ДЛЯ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
5-АМИНОСАЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ В ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТАХ
ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ МЕТОДОЛОГИИ ПОВЕРХНОСТИ ОТКЛИКА
И ПЛАНОВ БОКСА – БЕНКЕНА**

Р. Ф. Бакеева*, С. Ю. Гармонов, В. Д. Осипова, К. В. Черный, С. Ю. Мамыкина, В. Ф. Сопин

Казанский национальный исследовательский технологический университет, Казань, Россия

ИНФОРМАЦИЯ

История статьи:

Поступила 31.10.2023

Одобрена 11.12.2023

Принята 18.12.2023

Ключевые слова:

мицеллы,
кондуктометрия,
цетилтриметиламмоний
бромид,
диметилсульфоксид,
лекарственные формы,
5-аминосалициловая
кислота,
спектрофотометрия,
методология поверхности
отклика,
многофакторный
эксперимент,
планы Бокса – Бенкена

АННОТАЦИЯ

Определение содержания труднорастворимых фармацевтических субстанций в лекарственных формах является актуальной задачей, поскольку их дозирование весьма существенно для оптимального соотношения между терапевтическим эффектом и обеспечением необходимой биодоступности. Увеличить растворимость позволяет применение мицеллярных сред в качестве матрицы. В настоящем сообщении приведены результаты влияния мицеллярной системы «цетилтриметиламмоний бромид (СТАВ) + диметилсульфоксид (DMSO) + вода» на определение содержания 5-аминосалициловой кислоты (5-ASA) в фармацевтической субстанции и в лекарственных формах. 5-ASA находит широкое применение для лечения воспалительных заболеваний кишечника, неспецифического язвенного колита и болезни Крона. Для получения оптимальной матрицы применяли методологию поверхности отклика (МПО) и трехуровневые планы Бокса – Бенкена (ПББ). В качестве целевой функции использовали интенсивность полосы поглощения 5-ASA A_{330} , которая отражает содержание кислоты. Независимыми факторами служили: концентрация СТАВ ($pC(СТАВ)$); кислотность среды (pH); доля DMSO в бинарном растворителе ($\alpha DMSO$). Составлен ПББ, состоящий из пятнадцати композиций, построены поверхности отклика. Определены оптимальные условия определения 5-ASA для полосы поглощения при A_{330} : $pC(СТАВ) = 1,1$; $pH = 7,6$; $\alpha DMSO = 0,3$. В этой матрице устанавливалось содержание 5-ASA в фармацевтической субстанции и были достигнуты хорошие метрологические параметры определений. Подтверждено, что применение МПО и ПББ способствует разработке эффективных методик контроля качества лекарственных форм 5-ASA разных производителей.

DOI:

10.18083/LCAppl.2024.1.36

Для цитирования:

Бакеева Р. Ф., Гармонов С. Ю., Осипова В. Д., Черный К. В., Мамыкина С. Ю., Сопин В. Ф. Мицеллярные матрицы для спектрофотометрического определения 5-аминосалициловой кислоты в лекарственных препаратах при использовании методологии поверхности отклика и планов Бокса – Бенкена // *Жидк. крист. и их практич. использ.* 2024. Т. 24, № 1. С. 36–49.

*Адрес для переписки: gurf71@mail.ru

Original Article

MICELLAR MATRICES FOR SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF 5-AMINOSALICYLIC ACID IN MEDICINAL PREPARATIONS USING RESPONSE SURFACE METHODOLOGY AND BOX-BENKEN PLANS

R. F. Bakeeva*, S. Ju. Garmonov, V. D. Osipova, K. V. Chernyj, S. Ju. Mamykina, V. F. Sopin

Department of Analytical Chemistry, Kazan National Research Technological University, Kazan, Russia

ARTICLE INFO:

ABSTRACT

Article history:

Received 31 October 2023
Approved 11 December 2023
Accepted 18 December 2023

Key words:

micelles,
conductometry,
cetyltrimethylammonium
bromide,
dimethyl sulfoxide,
dosage forms,
5-aminosalicylic acid,
spectrophotometry,
response surface
methodology,
multivariate experiment,
Box-Behnken plans

Determination of the content of insoluble pharmaceutical substances in dosage forms is an urgent task, since their dosage is very important for the optimal ratio between the therapeutic effect and ensuring the necessary bioavailability. The use of micellar media as a matrix allows increasing solubility. This report presents the results of the influence of the micellar system consist from cetyltrimethylammonium bromide, CTAB, dimethyl sulfoxide, DMSO and water on the determination of the content of 5-aminosalicylic acid (5-ASA) in pharmaceutical substances and in dosage forms. 5-ASA is widely used for the treatment of inflammatory bowel diseases, ulcerative colitis and Crohn's disease. To obtain the optimal matrix, the methodology of the response surface (MRS) and three-level Box-Benken plans (BBP) were used. The intensity of the absorption band of 5-ASA (A_{330}), which reflects the acid content, was used as the target function. The independent factors were: the concentration of CTAB ($pC(CTAB)$, mol/l); the acidity of medium (pH); the proportion of DMSO in the binary solvent ($\alpha DMSO$). The BBP consisting of fifteen compositions were compiled and response surfaces constructed. Optimal conditions for the determination of 5-ASA by the absorption band A_{330} are: $pC(CTAB) = 1.1$, $pH = 7.6$, $\alpha(DMSO) = 0.3$. In this matrix, the content of 5-ASA in the pharmaceutical substance was established and good metrological performance was achieved. The use of MRS and BBP contributes to the development of effective methods for quality control of 5-ASA dosage forms from different manufacturers.

DOI:

10.18083/LCAppl.2024.1.36

For citation:

Bakeeva R. F., Garmonov S. Ju., Osipova V. D., Chernyj K. V., Mamykina S. Ju., Sopin V. F. Micellar matrices for spectrophotometric determination of 5-aminosalicylic acid in medicinal preparations using response surface methodology and Box-Benken plans. *Liq. Cryst. and their Appl.*, 2024, **24** (1), 36–49. (in Russ.).

*Corresponding author: gurf71@mail.ru

© Bakeeva R. F., Garmonov S. Ju., Osipova V. D., Chernyj K. V., Mamykina S. Ju., Sopin V. F., 2024

Введение

Важной проблемой, которая возникает при обеспечении безопасного и эффективного применения лекарственных средств (ЛС), является всестороннее обеспечение их качества. При этом одним из инструментов обеспечения качества фармацевтической продукции является эффективный ее контроль в рамках концепции *Quality by Design* (QbD) [1].

5-Аминосалициловая кислота находит широкое применение для лечения воспалительных заболеваний кишечника, особенно неспецифического язвенного колита и болезни Крона [2]. Лекарственные препараты на ее основе (месалазин, месаламин, салофальк, кансалазин, асакол, пентаса) относятся к перечню жизненно необходимых лекарств. Для этого часто используются препараты как на основе субстанции 5-аминосалициловой кислоты, так и ее пролекарств (сульфасалазин, олсалазин, балсалазид). Однако применение пролекарств 5-аминосалициловой кислоты весьма ограничено из-за большого количества побочных эффектов при их применении (лекарственные гепатиты, синдром Стивена – Джонсона, гемолитическая анемия, интерстициальный нефрит и др.), в формирование которых вносят вклад и особенности генетического статуса пациента.

Спектрофотометрическое определение 5-аминосалициловой кислоты предусматривает получение спектрохимических производных с альдегидами и солями железа [3, 4]. Однако эти реакции дериватизации характеризуются невысокими скоростями, многостадийностью, невысокой избирательностью и чувствительностью определений. Эти особенности фармацевтического анализа ограничивают использование доступного спектрофотометрического метода для рутинной практики.

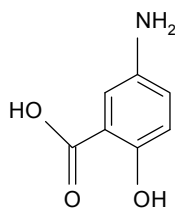
Интерес к использованию в спектрофотометрии организованных сред, в частности мицел-

лярных, вызван простотой их формирования за счет самосборки при определенных концентрациях и температурах. Движущей силой в этом случае является процесс солубилизации как полярных, так и неполярных лекарственных веществ за счет их локализации либо в области головных групп, либо в области углеводородных радикалов. Это явление применяется при создании эффективных сред для фармацевтического анализа, поскольку концентрирование лекарственных веществ и ускорение реакций в мицеллах приводит к улучшению аналитических характеристик [5–11]. Созданию оптимальных матриц и временных затрат на это способствует применение хеометрики, в частности методологии поверхности отклика и трехуровневых планов Бокса – Бенкена [12, 13].

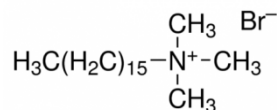
В связи с этим проведение исследований по разработке простых, избирательных, экспрессных и точных методик спектрофотометрического определения 5-аминосалициловой кислоты для контроля качества лекарственных препаратов на ее основе весьма актуальны. Целью настоящей работы является исследование возможности использования мицеллярных сред на основе цетилтриметиламмоний бромид СТАВ в бинарном растворителе диметилсульфоксид, DMSO – вода для спектрофотометрического определения 5-аминосалициловой кислоты в лекарственных препаратах с привлечением методологии поверхности отклика и планов Бокса – Бенкена.

Экспериментальная часть

В работе использовали коммерческую субстанцию 5-аминосалициловой кислоты фармацевтической чистоты. Для создания мицеллярных матриц использовали катионное поверхностно активное вещество (ПАВ) – цетилтриметиламмоний бромид (СТАВ) фирмы «Fluka».



5-аминосалициловая кислота
(5-ASA)



Цетилтриметиламмоний бромид
(СТАВ)

Для приготовления матрицы анализа использовали биполярный апротонный растворитель диметилсульфоксид, DMSO фирмы «Chemapol» и воду, очищенную на установке «Millipore compact laboratory high purity system». Электрическое сопротивление воды 18,2 МОм. Определение 5-аминосалициловой кислоты проводили в водной мицеллярной матрице СТАВ до и после формирования мицелл в бинарном растворителе DMSO + вода при варьировании содержания DMSO и различном значении pH.

Определение критической концентрации мицеллообразования ККМ проводили кондуктометрическим методом на кондуктометре фирмы «ВЗОР Марк 603» (Россия).

При проведении спектрофотометрических измерений для построения градуировочного графика готовили растворы 5-аминосалициловой кислоты (5-ASA) с концентрацией в диапазоне от $1,0 \cdot 10^{-6}$ до $1,0 \cdot 10^{-4}$ моль/л.

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; 1,0 см. В качестве раствора сравнения при проведении дифференциальных спектрофотометрических измерений использовали раствор «холостого опыта».

Для определения спектров насыщенных растворов 5-ASA определенное количество 5-ASA добавляли в эппендорф и заливали раствором. Затем перемешивали на термошейкере *TS 100-S Biosan* (Латвия) при 25 °С в течение 4 ч и оставляли на 20 ч.

Для расчета эффектов и построения поверхностей отклика использовали пакет программ «Statistica 10».

Методика определения 5-ASA. Таблетку лекарственного препарата измельчают в порошок, взвешивают около 0,0030 г (точная навеска), растворяют в DMSO и количественно переносят в мерную колбу на 25 мл. Содержимое мерной колбы доводят DMSO до метки и тщательно перемешивают. Далее раствор фильтруют через бумажный фильтр. Из полученного фильтрата отбирают

аликвоту объемом 2,5 мл в мерную колбу на 25 мл, добавляют 2 мл раствора СТАВ концентрации 0,01 моль/л, 1 мл фосфатного буферного раствора с pH = 7,6 и доводят содержимое колбы бидистиллированной водой до метки. Далее измеряют оптическую плотность раствора при длине волны 330 нм в кювету с длиной оптического пути 1 см. Используя градуировочную зависимость, построенную в этих же условиях, определяют количественное содержание 5-аминосалициловой кислоты в пробе.

Результаты и их обсуждение

Для количественного определения 5-аминосалициловой кислоты использован спектрофотометрический метод, в качестве аналитической среды применялась мицеллярная матрица в бинарном растворителе (СТАВ + DMSO + вода), что весьма актуально и перспективно для фармацевтического анализа [6–8, 11, 14, 15]. Ранее мы использовали эту систему для определения нитроксолина [14] и показали кондуктометрическим методом формирование мицелл при критической концентрации мицеллообразования, ККМ при 0,0026 моль/л (СТАВ + DMSO (20 %) + H₂O (80 %)).

Применение методологии поверхности отклика (МПО) весьма перспективно для нахождения оптимальных условий анализа некоторых лекарственных препаратов (ЛП) [11–14], поэтому мы применили МПО и трехуровневые планы Бокса – Бенкена (ПББ) для выявления универсальности такого подхода.

Нами установлены основные факторы, влияющие на целевую функцию (или отклик), которой является интенсивность полос поглощения (ПП). Это кислотность среды, pH, концентрация СТАВ и доля DMSO, αDMSO.

Как известно, 5-ASA трудно растворяется в воде. Мы попытались определить положение ПП 5-ASA в насыщенных водных растворах (рис. 1, а) – это 300 нм. При добавлении DMSO растворимость 5-ASA существенно возрастает. Однако положение ПП зависит от доли DMSO (рис. 1, б).

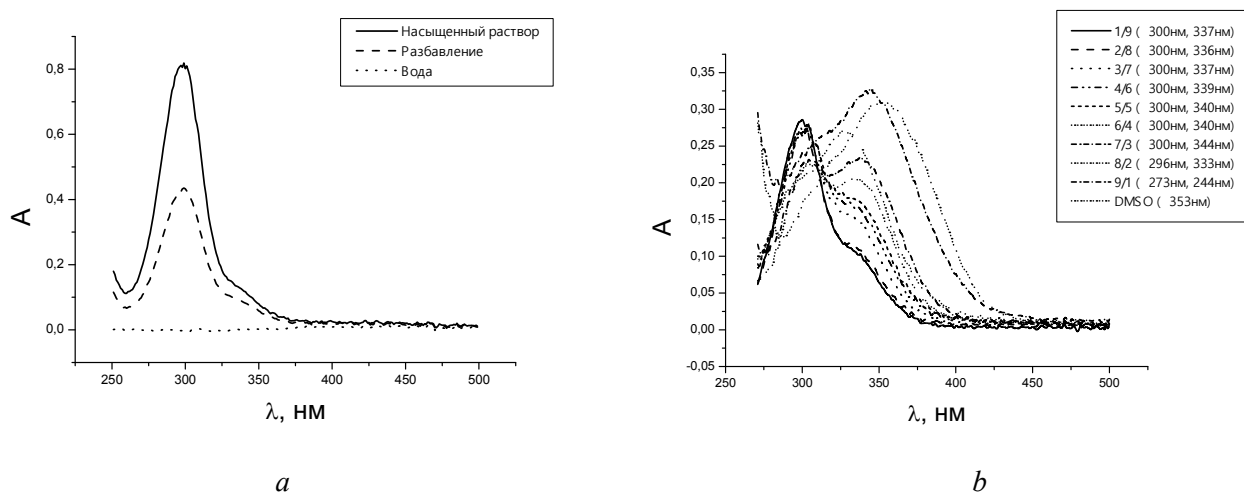


Рис. 1. УФ-спектры 5-АСА: *a* – в насыщенных водных растворах ($l = 0,2$ см, $t = 25$ °С, $\lambda_{\text{max}} = 300$ нм),
b – в бинарном растворителе DMSO + H₂O при различных соотношениях DMSO/H₂O

Fig. 1. UV spectra of 5-ASA: *a* – in saturated aqueous solutions ($l = 0.2$ cm, $t = 25$ °C, $\lambda_{\text{max}} = 300$ nm),
b – in a binary solvent DMSO + H₂O at different DMSO/H₂O ratios

Учитывая структуру 5-АСА, можно предположить влияние кислотности среды на положение ПП, что и показано на рис. 2.

Влияние мицеллообразования на ПП 5-АСА выражается в смещении ПП до 330 нм, очевидно, за счет образования комплекса с переносом заряда.

Это показано на рис. 3. Увеличение концентрации СТАВ приводит к батохромному сдвигу с 300 нм до 330 нм. При анализе ЛВ это важно, поскольку добавки в таблетках обычно органические и их поглощение может мешать определению.

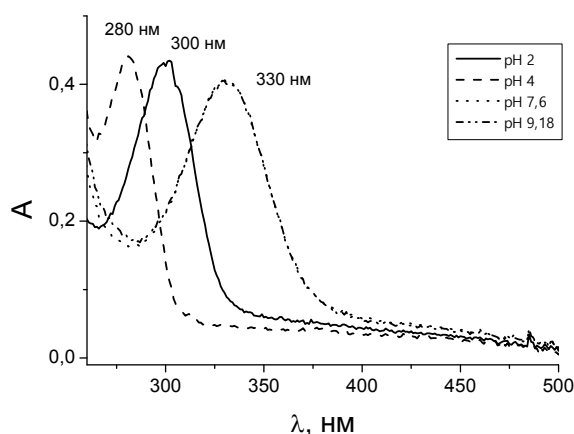


Рис. 2. Влияние кислотности среды на спектр поглощения 5-АСА. $l = 1$ см, $t = 25$ °С.
 pH = 2 (0,01н HCl); pH = 4 и 7,6 (в фосфатном буфере); pH = 9,18 (в боратном буфере)
 Соотношение DMSO/H₂O = 1/9

Fig. 2. The influence of medium acidity on absorption spectra of 5-ASA. $l = 1$ cm, $t = 25$ °C.
 pH = 2 (in 0.01 N HCl); pH = 4 and 7.6 (in phosphate buffer); pH = 9.18 (in a borate buffer)
 DMSO/H₂O ratio is 1/9

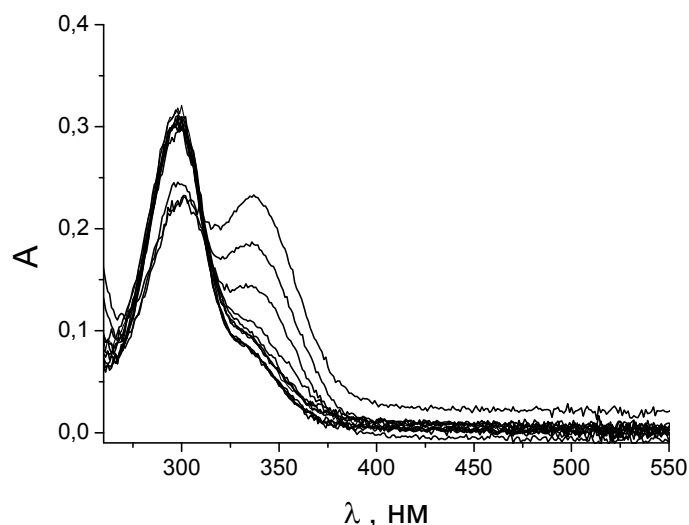


Рис. 3. УФ-спектры 5-АСА в системе СТАВ + DMSO (1) + H₂O (9). Концентрации СТАВ соответствуют тем, которые использовались для определения ККМ кондуктометрическим методом. $l = 1$ см, $t = 25$ °С

Fig. 3. UV spectra of 5-ASA in the system CTAB + DMSO (1) + H₂O (9). CTAB concentrations correspond to those used to determine CMC by the conductometric method. $l = 1$ cm, $t = 25$ °C

Таким образом, на положение и интенсивность ПП влияют концентрация СТАВ, pH и доля DMSO, α DMSO. Эти независимые переменные приняты нами за факторы, при составлении трехуровневых планов Бокса – Бенкена, а интенсивность ПП – за целевую функцию y , которую необходимо оптимизировать. Поскольку мы имеем три независимых фактора, то число экспериментов должно быть $N = 2K(K - 1) + CP$, где K – число независимых факторов и CP – центральная точка (для определения ошибки в центральной точке

проводили три эксперимента). Поскольку $K = 3$, то $N = 15$. В таблице 1 приведены кодированные и декодированные значения факторов, влияющих на интенсивность ПП 5-АСА. В таблице 2 обобщены результаты 15 экспериментов.

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 этой же таблице.

Таблица 1. Декодированные значения факторов, влияющих на интенсивность полос поглощения 5-АСА

Table 1. Decoded values of the factors influencing the intensity of absorption bands of 5-ASA

Наименование фактора и единицы измерения	Обозначение	Уровни фактора			Интервал варьирования
		Нижний (-1)	Средний (0)	Верхний (+1)	
С (СТАВ), моль/л	X_1	0,000008 pC = 5,1 До ККМ	0,0008 pC = 3,1 ККМ	0,08 pC = 1,1 После ККМ	$\Delta pC = 2$
pH системы	X_3	2	4,8	7,6	2,8
α DMSO	X_2	0,1	0,2	0,3	0,1

Таблица 2. Значения A_{300} и A_{330} , план Бокса – Бенкена и уровни факторов для дизайна поверхности отклика в исследованных системах при определении содержания 5-аминосалициловой кислоты, 5-ASATable 2. Values of A_{300} and A_{330} , Box-Behnken plan and factor levels for response surface design in studied systems when determining the content of 5-aminosalicylic acid, 5-ASA

№ опыта	Кодированные уровни факторов			Реальные (декодированные) уровни факторов			Отклик, $y = A$	
	X_1	X_2	X_3	pC(СТАВ), моль/л	pH	α DMSO	A_{300} нм	A_{330} нм
1	-1	-1	0	5,1	2	0,2	0,3750	0,03922
2	+1	-1	0	1,1	2	0,2	0,4661	0,07174
3	-1	+1	0	5,1	7,6	0,2	0,2457	0,3989
4	+1	+1	0	1,1	7,6	0,2	0,2304	0,3678
5	-1	0	-1	5,1	4,8	0,1	0,3245	0,1135
6	+1	0	-1	1,1	4,8	0,1	0,2504	0,2457
7	-1	0	+1	5,1	4,8	0,3	0,3257	0,1721
8	+1	0	+1	1,1	4,8	0,3	0,3064	0,2738
9	0	-1	-1	3,1	2	0,1	0,3599	0,0346
10	0	+1	-1	3,1	7,6	0,1	0,1275	0,3234
11	0	-1	+1	3,1	2	0,3	0,4171	0,04494
12	0	+1	+1	3,1	7,6	0,3	0,1969	0,3594
13	0	0	0	3,1	4,8	0,2	0,3155	0,1324
14	0	0	0	3,1	4,8	0,2	0,3189	0,1373
15	0	0	0	3,1	4,8	0,2	0,3192	0,1303
16	1	1	1	5,1	7,6	0,3	–	0,4078 0,4100*

Примечание: Концентрация 5-АСК во всех опытах поддерживалась постоянной $C_{5-ASA} = 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л

*Экспериментальное значение A_{330}

Использование МПО и трехуровневых планов Бокса – Бенкена позволило определить композиционный состав каждого из 15 растворов при варьировании pC(СТАВ), моль/л, pH и α DMSO, то есть провести многофакторный эксперимент. С помощью пакета программ «Statistica 10» мы построили математическую модель зависимости отклика от факторов ($y = f(X_i)$), а также поверхности отклика и определили лучшую матрицу.

Кодирование уровней факторов осуществлялось на основе формулы $X_i^* = (X_i - M)/H$, 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 $X_i = X_i^* \cdot H + M$

Модели для определения целевой функции Y при использовании интенсивности ПП при 300 нм и 330 нм аппроксимируются полиномами второй степени и имеют вид:

$$Y = A_{300} = 0,318 - 0,113 X_2 + 0,042 X_1 (X_2)^2 - 0,035 \cdot (X_3)^2 + 0,032 X_3 - 0,026 X_1 X_2 - 0,023 X_1 + 0,022 (X_1)^2 \cdot X_2 + 0,019 (X_1)^2 - 0,017 (X_1)^2 X_3 + 0,014 X_1 X_3 - 0,007 \cdot (X_2)^2 \quad (R^2 = 0,99992)$$

$$Y = A_{330} = 0,133 + 0,058 X_1 + 0,048 (X_1)^2 + 0,151 X_2 + 0,038 (X_2)^2 + 0,012 X_3 + 0,0196 (X_3)^2 - 0,016 X_1 X_2 - 0,058 (X_1 X_2)^2 + 0,013 (X_1)^2 X_2 \quad (R^2 = 0,99989),$$

где значения 0,318 и 0,133 являются свободными членами; значения с индексом X_n – регрессионные коэффициенты линейных (главных) факторных эффектов; значения с индексом X_n^2 – регрессионные коэффициенты квадратичных (нелинейных) факторных эффектов; значения с индексом $X_n X_m$ – регрессионные коэффициенты эффектов взаимодействия [11–13]. Высокие значения коэффициентов детерминации R^2 указывают на адекватность моделей.

Математическая модель адекватно описывает поверхность отклика – графическое представление зависимости отклика от величин значимых факторов. Наглядно представить эффекты всех факторов можно с помощью диаграммы Парето (рис. 4).

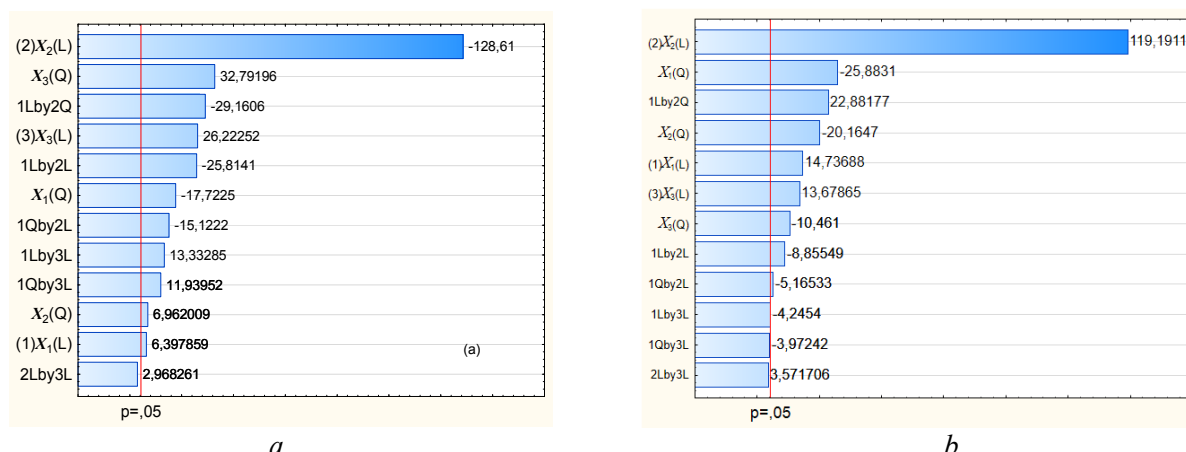


Рис. 4. Диаграмма Парето стандартизированных эффектов факторов на целевую функцию (интенсивность ПП 5-АА при (а) А₃₀₀ и (б) А₃₃₀). X₁ = рС(СТАВ), X₂ = рН, X₃ = αDMSO, L, Q –линейные и квадратичные эффекты. В рассмотрение брались эффекты с уровнем значимости p > 0,05. В этом случае доверительная вероятность 95 %

Fig. 4. Pareto diagram of standardized factor effects on the objective function (intensity AB of 5-ASA at (a) A₃₀₀ and (b) A₃₃₀). X₁ = pC(CTAB), X₂ = pH, X₃ = α DMSO, 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 %

Как известно, в диаграмме Парето положительные значения содействуют увеличению целевой функции, а отрицательные – ее снижению. На интенсивность ПП А₃₀₀ доля DMSO и концентрация СТАВ влияют положительно. Влияние рН негативное. Для ПП А₃₃₀ все факторы содействуют увеличению интенсивности в порядке X₂ > X₁ > X₃, то есть рН > С (СТАВ) > α DMSO.

Ниже изображены поверхности отклика для зависимостей интенсивности ПП 5-ААК: А₃₀₀ = f(pC (СТАВ), рН) (рис. 5); А₃₀₀ = f(pC (СТАВ), α DMSO) (рис. 6); А₃₀₀ = f(pH, α DMSO) (рис. 7) и для зависимостей интенсивности ПП 5-ААК: А₃₃₀ = f(pC (СТАВ), рН) (рис. 8); А₃₃₀ = f(pC (СТАВ), α DMSO) (рис. 9); А₃₃₀ = f(pH, α DMSO) (рис. 10).

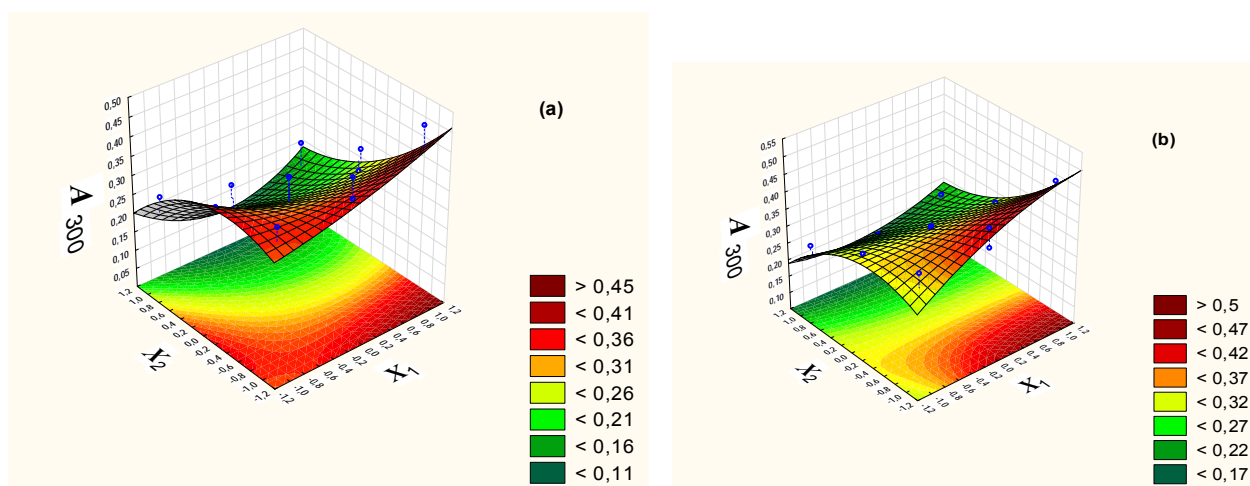


Рис. 5. Поверхности отклика зависимости интенсивности ПП 5-АА А₃₀₀ от концентрации СТАВ, (X₁) и рН, (X₂) при: (а) α DMSO = 0,1; X₃ = -1; (б) α DMSO = 0,3; X₃ = 1

Fig. 5. Response surfaces of intensity of AB A₃₀₀ of 5-ASA versus CTAB concentrations (X₁) and pH (X₂): (a) α DMSO = 0.1, X₃ = -1; (b) α DMSO = 0.3, X₃ = 1

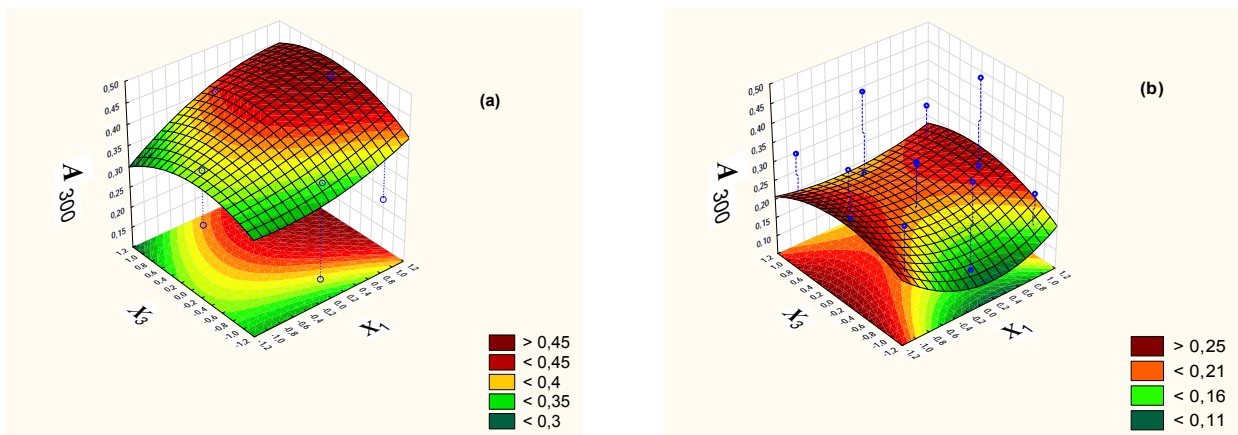


Рис. 6. Поверхности отклика зависимости интенсивности ПП 5-ASA A_{300} от концентрации pC CTAB (X_1) и α DMSO (X_3): (a) pH = 2, $X_2 = -1$, (b) pH = 7,6; $X_2 = 1$

Fig. 6. Response surfaces of intensity AB 5-ASA A_{300} versus pC CTAB (X_1) and α DMSO (X_3): (a) pH = 2, $X_2 = -1$, (b) pH = 7,6; $X_2 = 1$

Проведенный анализ рис. 6 показывает, что интенсивность ПП при 300 нм при увеличении pH снижается, что находится в согласии с однофакторными экспериментами. Рисунок 7 демонстрирует, что при увеличении концентрации CTAB

интенсивность ПП при 300 нм увеличивается, то есть можно предположить, что формирование мицеллярных агрегатов приводит к солюбилизации 5-ASA.

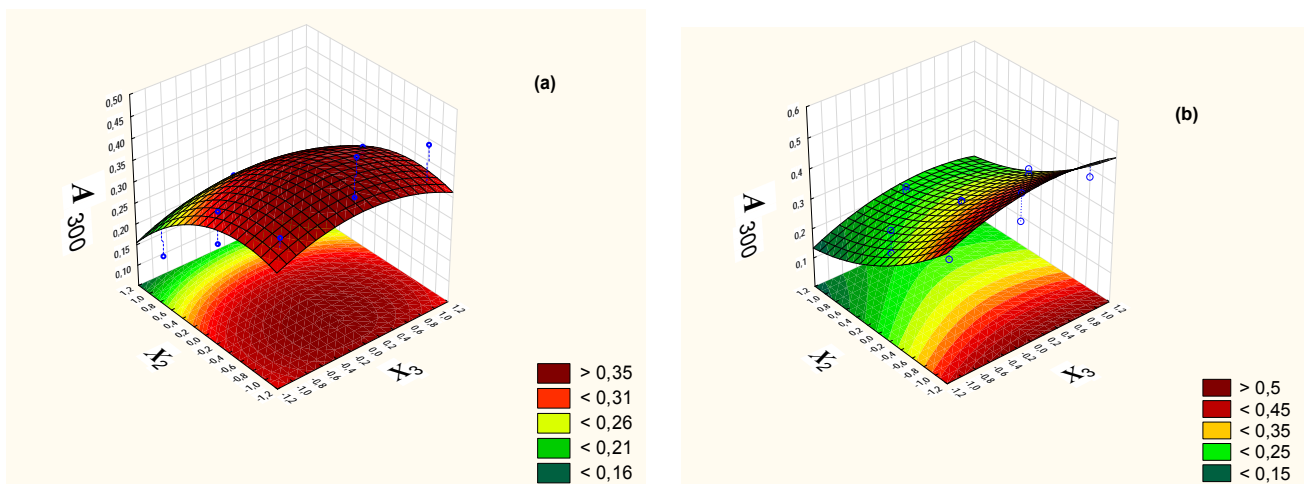


Рис. 7. Поверхности отклика зависимости интенсивности ПП 5-ASA A_{300} от pH (X_2) и α DMSO (X_3): (a) pC (CTAB) 5,1 $X_1 = -1$; (b) pC (CTAB) 1,1 $X_1 = 1$

Fig. 7. Response surfaces of intensity AB 5-ASA A_{300} dependence on pH (X_2) and α DMSO (X_3): (a) pC (CTAB) 5,1 $X_1 = -1$; (b) pC (CTAB) 1,1 $X_1 = 1$

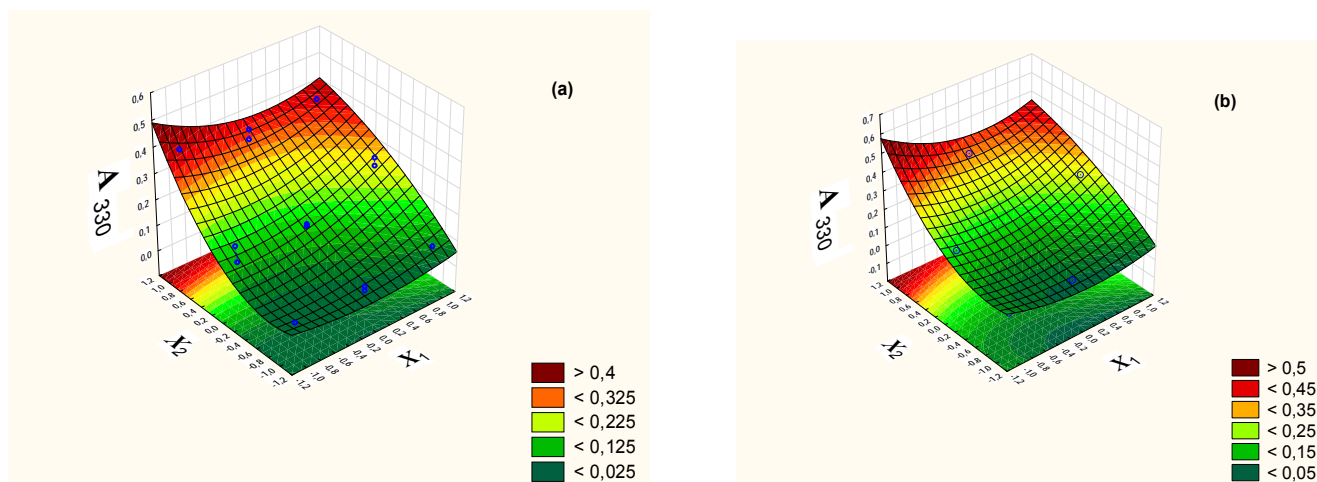


Рис. 8. Поверхности отклика зависимости интенсивности ПП 5-ASA A_{330} от концентраций СТАВ, (X_1) и pH, (X_2) при: (a) α DMSO 0,1, $X_3 = -1$; (b) α DMSO 0,3, $X_3 = 1$

Fig. 8. Response surfaces of intensity AB 5-ASA A_{330} versus CTAB (X_1) concentrations and pH (X_2): (a) α DMSO 0,1, $X_3 = -1$; (b) α DMSO 0,3, $X_3 = 1$

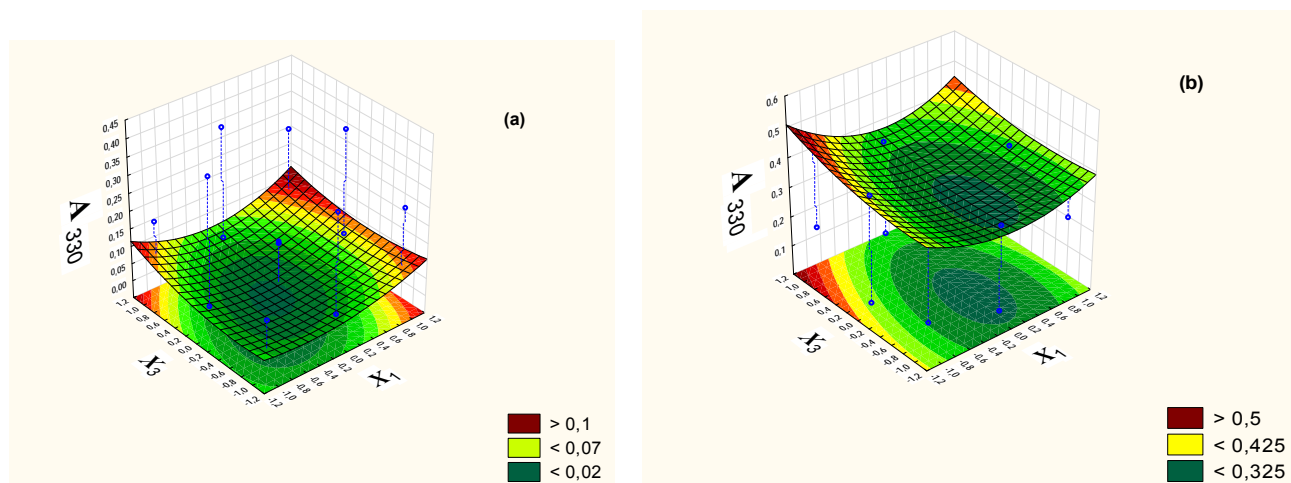


Рис. 9. Поверхности отклика зависимости интенсивности ПП 5-ASA A_{330} от концентрации pC СТАВ (X_1) и α DMSO (X_3): (a) pH = 2, $X_2 = -1$, (b) pH = 7,6; $X_2 = 1$

Fig. 9. Response surfaces of intensity AB 5-ASA A_{330} versus pC CTAB (X_1) and α DMSO (X_3): (a) pH = 2, $X_2 = -1$, (b) pH = 7,6; $X_2 = 1$

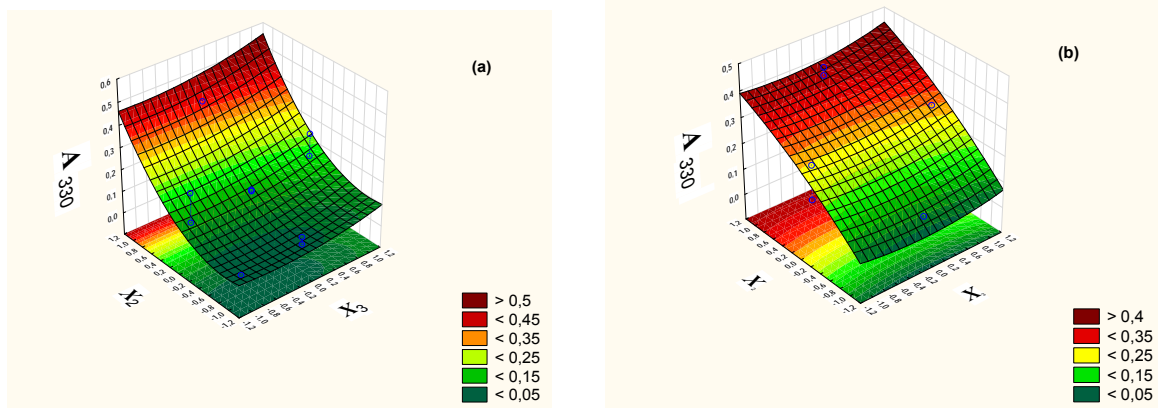


Рис. 10. Поверхности отклика зависимости интенсивности ПП 5-АSА A_{330} от рН (X_2) и α DMSO (X_3):
 (a) pC (CTAB) 5,1 $X_1 = -1$; (b) pC (CTAB) 1,1 $X_1 = 1$

Fig. 10. Response surfaces of intensity AB 5-ASA A_{300} dependence on pH (X_2) and α DMSO (X_3):
 (a) pC (CTAB) 5,1 $X_1 = -1$; (b) pC (CTAB) 1,1 $X_1 = 1$

На рисунке 11 приведены профили для предсказанных значений и функции желательности (*Desirability*). Координаты оптимального состава для A_{300} , рассчитанные с помощью функции желательности, в кодированных значениях: $X_1:1$; $X_2:1$; $X_3:0,1-0,7$. Декодированные значения составляют: pC (CTAB) 1,1; pH = 7,6; α DMSO 0,18. Расчетное значение $A_{300} = 0,2353$. Оптимальный состав для

A_{330} $X_1:1$; $X_2:1$; $X_3:1$ или pC (CTAB) 1,1; pH = 7,6; α DMSO 0,3, причем ожидаемое значение 0,4078, а экспериментальное 0,4100.

В оптимизированных условиях зависимость оптической плотности от концентрации 5-АСК в растворе линейна и описывается уравнением:

$$A_{330} = 0,05228 + 4053,15 C \text{ (моль/л)}$$

$$A_{330} = 0,0523 + 26,665 C \text{ (мг/мл)} (R^2 = 0,99965).$$

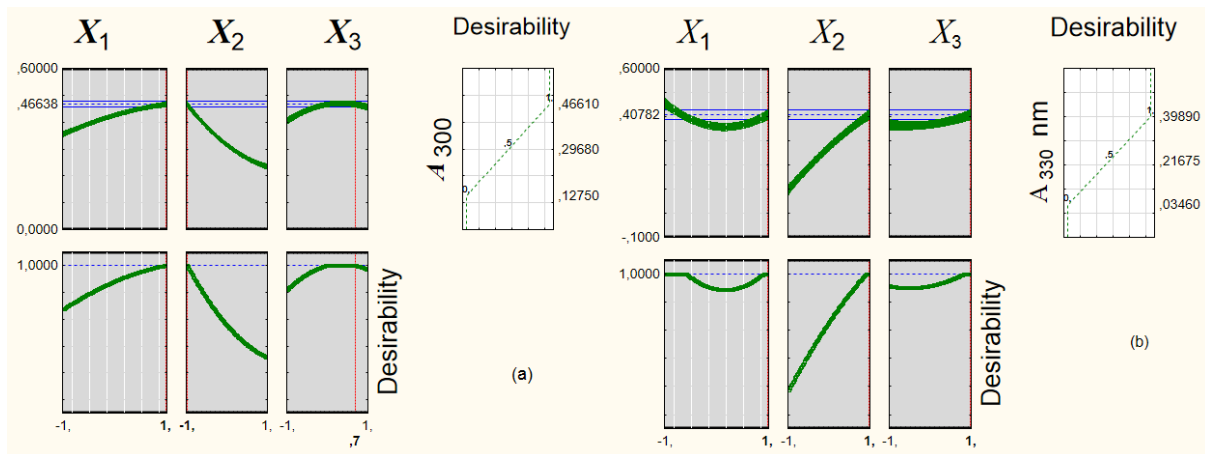


Рис. 11. Профили предсказанных значений и функции желательности: (a) для A_{300} ; (b) для A_{330}

Fig. 11. Profiles of predicted values and desirability functions: (a) for A_{300} , (b) for A_{330} .

В оптимальной матрице изучено влияние компонентов пробы (вспомогательных веществ – плацебо) на результаты аналитических определений (табл. 3) и установлено, что спектрофотометрическому определению 5-аминосалициловой кислоты не мешает их присутствие в широких пределах. Методика апробирована на лекарственных формах различных производителей. Для анализа были использованы лекарственных препараты двух производителей: Кансалазин (Россия) и Са-

лофальк (Германия), которые содержат 500 мг и 250 мг 5-аминосалициловой кислоты соответственно. В таблице 4 представлены результаты определения содержания 5-аминосалициловой кислоты в готовых лекарственных формах в виде таблеток. Как видно, найденное содержание фармацевтической субстанции соответствует заявленным производителями количествам действующего вещества в лекарственной форме.

Таблица 3. Мешающее влияние компонентов на результаты определения 5-аминосалициловой кислоты ($n = 3$, $P = 0.95$)

Table 3. Interfering influence of components on the results of determination of 5-aminosalicylic acid ($n = 3$, $P = 0.95$)

Компонент (А)	C_A , мг	Введено 5-аминосалициловой кислоты, мкг/мл	Найдено 5-аминосалициловой кислоты, мкг/мл	S_f
Глицин	10,0	7,00	7,13±0,28	0,04
Натрия карбонат	80,0	12,0	12,3±0,6	0,05
Кальция стеарат	5,0	12,0	11,9±0,5	0,05
Повидон	10,0	15,0	14,9±0,6	0,04
Гипромеллоза	2,00	15,0	15,2±0,4	0,03
Кремния диоксид коллоидный	5,00			
Целлюлоза микрокристаллическая	50,0			

Таблица 4. Результаты определения 5-аминосалициловой кислоты в лекарственных формах в виде таблеток ($n = 3$, $P = 0.95$)

Table 4. Results of determination of 5-aminosalicylic acid in tablet dosage forms ($n = 3$, $P = 0.95$)

Лекарственная форма, производитель	Содержание 5-аминосалициловой кислоты, мг/таблетку	
	Заявлено	Найдено
Кансалазин (ЗАО «Канонфарма продакшн»)	500	495±18
Салофальк (Лозан Фарма ГмбХ/ Др.Фальк Фарма ГмбХ)	250	253±9

Выводы

В результате проведенного исследования показана целесообразность применения мицеллярной матрицы системы СТАВ + DMSO + вода для определения основного содержания 5-аминосалициловой кислоты в фармацевтической субстанции и в лекарственных формах. Кроме того, весьма полезным оказалось применение такого инструмента

оптимизации, как методология поверхности отклика и планы Бокса – Бенкена. В оптимальных условиях определения (при A_{330} : рС (СТАВ) 1,1; рН = 7,6; α DMSO 0,3) устанавливали содержание 5-ASA в фармацевтической субстанции с хорошими метрологическими характеристиками. Разработанная методика может служить средством независимого контроля качества лекарственных форм 5-ASA разных производителей.

Список источников / References

1. Lawrence X.Yu. Pharmaceutical quality by design: product and process development, understanding, and control. *Pharm. Res.*, 2008, **25** (10), 2463. DOI: 10.1007/s11095-008-9667-3.
2. Tripathi K., Feuerstein J.D. New developments in ulcerative colitis: latest evidence on management, treatment, and maintenance. *Drugs Context.*, 2019, **8**, 212572 (11 p.). DOI: 10.7573/dic.212572.
3. Полюдек-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 I: 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 // *Журн. аналит. химии*. 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 // *Фармацевтический анализ/ под ред. Г. К. Будникова, С. Ю. Гармонова*. М.: Аргамак-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. // *Pharmaceutical analysis / 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. *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 // *Журн. аналит. химии*. 2022. Т. 77, № 6. С. 540–549. [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** (2), 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 p. (in Russ.)].
14. Бакеева Р. Ф., Гармонов С. Ю., Осипова В. Д., Черный К. В., Мамыкина С. Ю., Сопин В. Ф. Спектрофотометрическое определение нитроксилина в лекарственных препаратах при использовании методологии поверхности отклика // *Учен. зап. Казан. ун-та. Серия: Естественные науки*. 2023. Т. 165, кн. 1. С. 118–132. [Bakeeva R.F., Garmonov S.Yu., Osipova V.D., Chernyj K.V., Mamykina S.Yu., Sopin V.F. Spectrophotometric determination of nitroxo-line in medicines using response surface methodology.

Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki, 2023, **165** (1), 118–132. DOI: 10.26907/2542-064X.2023.1.118-132 (in Russ.).

15. Бакеева Р. Ф., Вахитова О. Е., Гармонов С. Ю., Сопин В. Ф. Дизайн мицеллярной матрицы для определения *o*-фенилендиамин в лекарственных формах спектрофотометрическим методом. Планирование и оптимизация // *Жидк. крист. и их практич. использ.* 2022. Т. 22, № 2. С. 19–31. [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.). DOI: 10.18083/LCAppl.2022.2.19].

Вклад авторов:

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

Гармонов С. Ю. – разработка концепции научной работы, консультация по вопросам методологии и реализации исследования, написание текста статьи.

Осипова В. Д. – проведение исследований.

Черный К. В. – проведение исследований.

Мамыкина С. Ю. – проведение исследований.

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

Contribution of the authors:

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

Garmonov S. Yu. – development of the concept of scientific work, consultation on the methodology and implementation of the study, writing the text of the article.

Osipova V. D. – researching.

Chernyj K. V. – researching.

Mamykina S. Yu. – researching.

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 31.10.2023, одобрена 11.12.2023, принята 18.12.2023
Received 31.10.2023, approved 11.12.2023, accepted 18.12.2023