

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2020-9-1-35-38>  
УДК 615.014.2



Оригинальная статья/Research article

## Оценка возможности использования метода УФ-спектрофотометрии для разработки количественного определения нафтифина гидрохлорида в его растворе с комбинацией ПЭГ для лечения грибковых инфекций

С. И. Косенкова<sup>1\*</sup>, И. И. Краснюк<sup>1</sup>, И. И. Краснюк (мл.)<sup>1</sup>, А. В. Беляцкая<sup>1</sup>, О. И. Степанова<sup>1</sup>, С. Р. Нарышкин<sup>1</sup>

1 – ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

\*Контактное лицо: Косенкова Светлана Игоревна. E-mail: sv-omega@yandex.ru

Статья получена: 11.11.2019. Статья принята к печати: 19.12.2019

### Резюме

**Введение.** На базе кафедр Сеченовского Университета разработан инновационный противогрибковый препарат на основе нафтифина гидрохлорид с комбинацией ПЭГ-400 и ПЭГ-1000. Данный раствор предназначен для наружного применения в качестве противогрибкового препарата. Нафтифин гидрохлорид имеет широкий спектр действия в отношении различных грибов, способных вызывать онихомикозы. ПЭГ входящие в состав разработанной лекарственной формы обуславливают необходимую вязкость раствора (для удерживания в области аппликации), не препятствуют высвобождению ДВ. Нафтифин гидрохлорид имеет выраженный УФ-спектр поглощения с максимумом  $256 \pm 2$  нм, в связи с этим предполагается использование метода УФ-спектрофотометрии для дальнейшей разработки метода количественного определения нафтифина гидрохлорида в исследуемой жидкой лекарственной форме.

**Цель.** Оценить возможность использования метода УФ-спектрофотометрии для разработки количественного определения нафтифина гидрохлорида в его растворе с комбинацией ПЭГ для лечения грибковых инфекций.

**Материалы и методы.** Субстанция нафтифина гидрохлорида, ПЭГ-400 и ПЭГ-1000, спирт этиловый 96 %, УФ-спектрофотометрия, фильтр «Миллипор».

**Результаты и обсуждение.** Проведен комплекс работ на УФ-спектрофотометре, включающий исследования растворов исходной субстанции нафтифина гидрохлорида, растворы ПЭГ, раствор разработанного пролонгированного антимикозного лекарственного средства и его плацебо. Установлена идентичность УФ-спектров действующего вещества в различных средах и доказано сохранение максимума поглощения ДВ, также сохранение зависимости между определенной концентрацией и оптической плотностью раствора. Установлено, что вспомогательные вещества, входящие в состав жидкой лекарственной формы, не влияют на основные характеристики УФ-спектра действующего вещества.

**Заключение.** Установлена принципиальная возможность использования метода УФ-спектрофотометрии для количественного и качественного анализа инновационного пролонгированного антимикозного лекарственного средства – жидкая лекарственная форма нафтифина гидрохлорид с комбинацией ПЭГ.

**Ключевые слова:** количественное определение, нафтифина гидрохлорид, полиэтиленгликоль (ПЭГ), УФ-спектрофотометрия, оптическая плотность.

**Конфликт интересов:** конфликта интересов нет.

**Вклад авторов.** Авторы С. И. Косенкова, И. И. Краснюк, И. И. Краснюк (мл.) занимались разработкой эксперимента. С. И. Косенкова, А. В. Беляцкая, О. И. Степанова, С. Р. Нарышкин участвовали в обработке полученных данных. С. И. Косенкова и И. И. Краснюк (мл.) участвовали в написании текста статьи. Все авторы участвовали в обсуждении.

**Для цитирования:** Косенкова С. И., Краснюк И. И., Краснюк И. И. (мл.), Беляцкая А. В., Степанова О. И., Нарышкин С. Р. Оценка возможности использования метода УФ-спектрофотометрии для разработки количественного определения нафтифина гидрохлорида в его растворе с комбинацией ПЭГ для лечения грибковых инфекций. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2020; 9(1): 35–38.

## Evaluation of the Possibility of Using the Method of UV Spectrophotometry for the Development of Quantitative Determination of Naftifine Hydrochloride in its Solution with a Combination of PEG for the Treatment of Fungal Infections

Svetlana I. Kosenkova<sup>1\*</sup>, Ivan I. Krasnyuk<sup>1</sup>, Ivan I. Krasnyuk (jr.)<sup>1</sup>, Anastasia V. Belyatskaya<sup>1</sup>, Olga I. Stepanova<sup>1</sup>, S. R. Naryshkin<sup>1</sup>

1 – I. M. Sechenov First MSMU of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

\*Corresponding author: Svetlana I. Kosenkova. E-mail: sv-omega@yandex.ru

Received: 11.11.2019. Accepted: 19.12.2019

### Abstract

**Introduction.** An innovative antifungal agent based on hydrochloride with combination of PEG-400 and PEG-1000 has been developed based at the chairs of Sechenov University. This solution is designated for external application as an antifungal agent. Naftifine hydrochloride has a broad spectrum of action against various fungi capable of causing onychomycosis. PEGs, forming part of the developed dosage form, bring about necessary viscosity of the solution (for retention in application area) and do not prevent drug product performance. Naftifine hydrochloride has an apparent UV absorption band with maximum of  $256 \pm 2$  nm, in connection with this, it is supposed to use the UV spectrophotometry method for further development of quantitation method of naftifine hydrochloride detection in tested oral liquid.

© Косенкова С. И., Краснюк И. И., Краснюк И. И. (мл.), Беляцкая А. В., Степанова О. И., Нарышкин С. Р., 2020

© Kosenkova S. I., Krasnyuk I. I., Krasnyuk I. I. (jr.), Belyatskaya A. V., Stepanova O. I., Naryshkin S. R., 2020

**Aim.** To evaluate the feasibility of using the UV spectrophotometry method for development of quantitation of naftifine hydrochloride in its solution with a combination of PEG for mycotic infection treatment.

**Materials and methods.** The substance of naftifine hydrochloride, PEG-400 and PEG-1000, ethyl alcohol 96 %, UV spectrophotometry, «Millipore» filter.

**Results and discussion.** A set of operations was carried out with UV spectrophotometer, including trials of solutions of initial substance of naftifine hydrochloride, PEG solutions, a solution of developed prolonged antimycotic drug and its placebo. The identity of UV spectra of the actual substance in various media was determined, maximum absorption of actual substance and dependence preservation between specified concentration and optical density of the solution were proved. It was found that auxiliary substances included in liquid dosage form do not affect the main characteristics of the UV spectrum of actual substance.

**Conclusion.** The possibility in principle of using the UV spectrophotometry method for quantitative and qualitative analysis of innovative prolonged antimycotic drug – liquid dosage form of naftifine hydrochloride with a combination of PEG has been established.

**Keywords:** quantitation, naftifine hydrochloride, polyethylenglycol (PEG), UV spectrophotometry, optical density.

**Conflict of interest:** no conflict of interest.

**Contribution of the authors.** Authors Svetlana I. Kosenkova, Ivan I. Krasnyuk, Ivan I. Krasnyuk (jr.) were engaged in development of experiment. Svetlana I. Kosenkova, Anastasia V. Belyatskaya, Olga I. Stepanova, R. S. Naryshkin took part in the processing of the received data. Svetlana I. Kosenkova, Ivan I. Krasnyuk (jr.) participated in the writing of the text of the article. All authors participated in the discussion.

**For citation:** Kosenkova S. I., Krasnyuk I. I., Krasnyuk I. I. (jr.), Belyatskaya A. V., Stepanova O. I., Naryshkin S. R. Evaluation of the possibility of using the method of UV spectrophotometry for the development of quantitative determination of naftifine hydrochloride in its solution with a combination of PEG for the treatment of fungal infections. *Drug development & registration*. 2020; 9(1): 35–38.

## ВВЕДЕНИЕ

Значительный рост грибковых заболеваний связан с образом жизни, нарушением соблюдения правил гигиены, сопутствующих заболеваний (сахарный диабет), пожилой возраст пациентов [1]. Поэтому разработка новых антимикозных препаратов актуальна. Для внедрения в практику новых лекарственных препаратов необходимо проводить ряд исследований, в.ч. количественное определение содержания действующего вещества. Был разработан новый состав пролонгированного антимикозного препарата, содержащий нафтифин гидрохлорид и комбинацию полиэтиленгликолей (ПЭГ) с массой до 400 г/моль и 1000 г/моль. Данный состав обладает рядом преимуществ: высокой вязкостью и пролонгированностью действия. Дальнейшим этапом в разработке ЖЛФ является разработка метода количественного определения нафтифина гидрохлорида в присутствии используемых вспомогательных веществ. Нафтифин гидрохлорид имеет выраженный УФ-спектр поглощения с максимумом  $256 \pm 2$  нм, в связи с этим предполагается использование метода УФ-спектрофотометрии для дальнейшей разработки метода количественного определения нафтифина гидрохлорида в исследуемой жидкой лекарственной форме.

В связи с этим представляется актуальным метод УФ-спектрофотометрии. Данный метод широко используется в фармацевтическом анализе. Преимущество этого метода в том, что для эксперимента затрачивают небольшое количество вещества, и техника проведения исследования достаточно проста. Результаты, полученных данных в результате опыта, могут быть достаточно информативны. Предполагаемый, к использованию УФ-спектрофотометр, состоит на оснащение большинства химических, контрольно-аналитических и технологических лабораторий. Прибор состоит из источника излучения, призмы, щели для

выделения полосы длины волны, кюветы для образцов, с толщиной слоя 10 мм, детектора излучаемой энергии, встроенные усилители и измерительные приборы. Данный метод основан на получении и исследовании спектров испускания, а также поглощения в УФ-области. Для исследуемого раствора рабочая область составляет 190–500 нм. Определение концентрации вещества методом УФ-спектрофотометрии основано на законе Бугера – Ламберта – Бера [2].

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Метод УФ-спектрофотометрии проводили на базе кафедры аналитической, физической и коллоидной химии Института фармации ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). Использовали прибор UNICO 2800 из серии сканирующих спектрофотометров UNICO 280X Spectro Quest (США), также использовали кварцевые кюветы с толщиной слоя 10,0 мм.

В работе использовали действующее вещество нафтифин [не менее 99 % основного вещества, Argos Organic (Бельгия) серия № A0362535, срок годности до 03.03.2020] (рисунок 1).

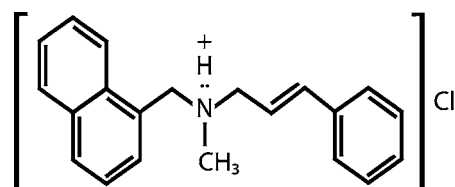


Рисунок 1. Формула нафтифина гидрохлорида

$C_{21}H_{21}N$ , (E)-N-Метил-N-(3-фенил-2-пропенил)-1-нафталинметанамин. 323,86 г/моль

Figure 1. Naphthylphine hydrochloride formula

$C_{21}H_{21}N$ , (E)-N-Methyl-N-(3-phenyl-2-propenyl)-1-naphthalene-methanamine. 323.86 g/mol

Нафтифин гидрохлорид представляет собой белый кристаллический порошок без запаха, практически нерастворимый в воде, легко растворимый в ацетоне, растворимый в спирте 95 %. Температура плавления 171–175 °С.

Нафтифин гидрохлорид чувствителен к высоким температурам и должен храниться при температуре 2–8 °С в плотно укупоренной таре, защищенным от света месте.

### ПЭГ-400, ПЭГ-1000

$\text{HOCH}_2-(\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2)_n-\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $n \approx 33 - 68$ . ПЭГи от Merck (Германия).

ПЭГ-400 – прозрачная, вязкая жидкость, без запаха и вкуса. ПЭГ-1000 пастообразное вещество, белого цвета, без запаха и вкуса. Плотность 1,13 г/мл. ПЭГи достаточно легко растворимы в воде, хлороформе, алифатических кетонах, спиртах и других органических соединениях, но абсолютно нерастворимы в эфирах. Температура плавления 65–72 °С. ПЭГи хранятся в хорошо укупоренной таре, прохладном и защищенном от света месте.

### Спирт этиловый 95 % (х.ч.) (ГФ XIV, ФС.2.1.0036.15)

Прозрачная жидкость, обладает летучими и горючими свойствами. Обладает высокой растворяющей способностью, за счет чего часто используется в фармацевтической отрасли в качестве растворителя. Плотность 0,8014 г/мл.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Поскольку в состав разработанного инновационного противогрибкового препарата в качестве действующего вещества входит нафтифин гидрохлорид – вещество, молекула которого имеет выраженный УФ-спектр, для его количественного и качественного анализа, теоретически можно использовать метод спектрофотометрии в УФ-области. Количественное определение возможно на основании закона Бугера – Ламберта – Бера.

В качестве объекта исследования использовали раствор в состав, которого входит: субстанция нафтифина гидрохлорида – 0,5 г; спирт этиловый – 96 %: 8,0 г; ПЭГ-400 – 33,20 г; ПЭГ-1000 – 8,30 г [4].

Раствор для исследований готовили следующим образом. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещали 0,5 г субстанции нафтифина гидрохлорида, субстанцию растворяли в 8,0 г (10 мл) спирта этилового 95 %. Колбу ставили на магнитную мешалку и перемешивали до полного растворения нафтифина гидрохлорида. После растворения в полученный спиртовой раствор нафтифина вносили ПЭГ-400 33,20 г (21 мл) и ПЭГ-1000 8,30 г (5,25 мл), вновь перемешивали до полного растворения ПЭГ-1000. Раствор фильтровали через фильтр «Миллипор» с размером пор 0,45 мкм.

Для того, чтобы исключить влияние вспомогательных веществ на УФ-спектр испытуемого раствора измерение его оптической плотности, необходимо осуществлять, используя в качестве раствора – сравнения состав вспомогательных веществ в аналогичной, испытуемому раствору концентраций. Отдельно готовили раствор вспомогательных веществ. В мерный стакан вместимостью 5000 мл помещали: 587,14 г ПЭГ-1000; 3001,4 г ПЭГ-400; 686,9 г этанола 96 % (в соотношении смесь по массе 1,00:5,11:1,14). Перемешивали до получения раствора и фильтровали через фильтр типа «Миллипор» с диаметром пор 0,45 мкм, отбрасывая первые 5 мл фильтрата.

Далее готовили испытуемый раствор. 1 мл исследуемого раствора нафтифина гидрохлорида помещали в мерную колбу вместимостью 1000 мл, доводили объем раствора составом вспомогательных веществ до метки, перемешивали и фильтровали через фильтр типа «Миллипор» с диаметром пор 0,45 мкм или бумажным фильтром, отбрасывая первые 5 мл фильтрата. Раствор использовали свежеприготовленным.

В качестве стандартного образца использовали субстанцию нафтифина гидрохлорид [серия № A0362535, Arcos Organic (Бельгия) срок годности до 03.03.2020]. Раствор стандартного образца готовили следующим образом: 1,38 г (точная навеска) нафтифина гидрохлорида [серия № A0362535, Arcos Organic (Бельгия) срок годности до 03.03.2020] помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 50 мл раствора вспомогательных веществ в концентрации, аналогично исследуемому раствору, встряхивали в течение 5 мин, доводили объем раствором вспомогательных веществ до метки и перемешивали. Из полученного раствора отбирали 1 мл и помещали в мерную колбу вместимостью 2000 мл, доводили объем раствора составом вспомогательных веществ до метки и перемешивали. Раствор использовали свежеприготовленным.

Измеряли оптическую плотность испытуемого раствора и раствора стандартного образца на УФ-спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны  $256 \pm 2$  нм в кварцевой кювете с толщиной слоя 10 мм.

В качестве раствора сравнения использовали раствор вспомогательных веществ в аналогичной, испытуемому раствору концентраций.

Содержание нафтифина гидрохлорида в одном миллилитре испытуемого раствора в процентах вычисляют по формуле:

$$X = \frac{a_0 \cdot P \cdot A \cdot 1000 \cdot a \cdot 100 \%}{100 \cdot 2000 \cdot A_0 \cdot G} = \frac{a_0 \cdot P \cdot A \cdot 1000 \cdot 1 \cdot 100}{100 \cdot 2000 \cdot A_0 \cdot 0,0138} = \frac{a_0 \cdot P \cdot A}{A_0 \cdot 0,0276}$$

где  $A$  – оптическая плотность испытуемого раствора;  $A_0$  – оптическая плотность раствора стандартного образца нафтифина гидрохлорида;  $a_0$  – навеска стандартного образца нафтифина гидрохлорида, в граммах;  $a$  – объем испытуемого раствора, в миллилитрах (1 мл);  $G$  – нормативное содержание нафтифина гидрохлорида

да в 1 мл испытуемого раствора, в граммах (0,0138 г);  $P$  – содержание основного вещества в стандартном образце нафтифина гидрохлорида, в долях единицы.

Содержание нафтифина гидрохлорида в разработанном исследуемом растворе, должно быть  $1,00 \pm 0,03$  %.

Метод УФ-спектрофотометрии также может быть использован и для качественного анализа разработанной лекарственной формы. Наличие максимума поглощения  $256 \pm 2$  нм на УФ-спектре испытуемого раствора свидетельствует о присутствии нафтифина гидрохлорида в его составе. Валидация не проводилась, в связи с тем, что целью работы была оценка теоретической возможности использования метода УФ-спектрофотометрии для проведения качественного и количественного определения раствора нафтифина гидрохлорида.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По совокупности результатов, полученных в эксперименте установлена принципиальная возможность использования метода УФ-спектрофотометрии для количественного и качественного анализа инновационной пролонгированной антимикотической лекарственной формы – ЖЛФ нафтифина гидрохлорид с комбинацией ПЭГ. Теоретически данный метод позволяет быстро и достаточно просто доказать наличие действующего вещества (нафтифина гидрохлорида). При наличии остальных вспомогательных

веществ, действующее вещество однозначно определяется на УФ-спектре по наличию максимуму поглощения  $256 \pm 2$  нм. Количественное определение возможно на основании закона Бугера – Ламберта – Бера. В качестве раствора сравнения используют раствор вспомогательных веществ в аналогичной, испытуемому раствору концентраций.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Сергеев А. Ю., Сергеев Ю. В. Грибковые инфекции. Руководство для врачей. – М.: БИНОМ-Пресс. 2003: 440.
2. ОФС.1.2.1.1.0003.15. Спектрофотометрия в УФ и видимой областях. Государственная фармакопея Российской Федерации. 14-е изд. – М.: Научный центр экспертизы средств медицинского применения. 2018.
3. Сергеев Ю. В., Шпигель Б. И., Сергеев А. Ю. Фармакотерапия микозов. – М.: Медицина для всех. 2003: 200.
4. Патент РФ 2699653. Средство для лечения микоза ногтей. Косенкова С. И., Краснюк И. И., Краснюк И. И. (мл.), Беляцкая А. В., Степанова О. И., Фатеева Т. В. Сеченовский Университет. Оpubл. 09.09.2019.

## REFERENCES

1. Sergeev A. Yu., Sergeev Yu. V. Fungal infections. A guide for physicians. – M.: BINOM-Press. 2003: 440 (In Russ.).
2. OFS.1.2.1.1.0003.15. Spectrophotometry in the UV and visible regions". State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 14<sup>th</sup> ed. – M.: Scientific center for examination of medical applications. 2018 (In Russ.).
3. Sergeev Y. V., Spiegel B. I., Sergeev A. Yu. Pharmacotherapy of fungal infections. – M.: Medicine for all. 2003: 200 (In Russ.).
4. Patent 2699653 of the Russian Federation Remedy for the treatment of nail mycosis. Kosenkova S. I., Krasnyuk I. I., Krasnyuk I. I. (jr.), Belyatskaya A. V., Stepanova O. I., Fateeva T. V. Sechenov University. Publ. 09.09.2019 (In Russ.).