

К. В. ХОМЕНКО ¹ (<https://orcid.org/0000-0001-8612-2268>),

К. П. МЄДВЕДЄВА ² (<https://orcid.org/0000-0001-7260-5728>), канд. фарм. наук, доцент,

І. В. БУШУЄВА ² (<https://orcid.org/0000-0002-5336-3900>), д-р фарм. наук, проф.,

С. О. ВАСЮК ² (<https://orcid.org/0000-0002-1569-9374>), д-р фарм. наук, проф.,

Ж. М. ПОЛОВА ¹ (<http://orcid.org/0000-0001-8997-4634>), д-р фарм. наук, проф.

¹ Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ

² Запорізький державний медико-фармацевтичний університет

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ 4-((5-(ДЕЦИЛТІО)-4-МЕТИЛ-4-Н-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ІЛ)МЕТИЛ)МОРФОЛІНУ В М'ЯКІЙ ЛІКАРСЬКІЙ ФОРМІ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНИМ МЕТОДОМ

Ключові слова: спектрофотометрія, валідаційні характеристики, лікарська форма, мазь, 4-((5-(децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)морфолін

K. V. KHOMENKO ¹ (<https://orcid.org/0000-0001-8612-2268>),

K. P. MEDVEDEVA ² (<https://orcid.org/0000-0001-7260-5728>),

I. V. BUSHUEVA ² (<https://orcid.org/0000-0002-5336-3900>),

S. A. VASYUK ² (<https://orcid.org/0000-0002-1569-9374>),

Zh. M. POLOVA ¹ (<http://orcid.org/0000-0001-8997-4634>)

¹ Bogomolets National Medical University, Kyiv

² Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University

QUANTITATIVE DETERMINATION OF 4-((5-(DECYLTHIO)-4-METHYL-4-H-1,2,4-TRIAZOL-3-YL)METHYL)MORPHOLINE IN THE SOFT MEDICINAL FORM BY SPECTROPHOTOMETRIC METHOD

Key words: spectrophotometry, validation characteristics, dosage form, ointment,

4-((5-(decylthio)-4-methyl-4-H-1,2,4-triazol-3-yl)methyl)morpholine

Синтетичні біологічно активні сполуки є активними фармацевтичними інгредієнтами різних лікарських препаратів, які широко використовують як у гуманній, так і у ветеринарній медицині. Особливої уваги заслуговують 1,2,4-триазол-5-тіоли [1–4].

Актуальним на сьогодні залишаються питання створення нових ефективних проти-мікробних та протигрибкових ліків. Цей факт має аргументоване пояснення у зв'язку зі збільшенням інфекційних захворювань мікробної та грибової етіології та постійно зростаючою резистентністю мікроорганізмів та грибів до різних лікарських препаратів. Авторами роботи науково доведено протигрибкову ефективність нової сполуки ряду похідних 1,2,4-триазолу – 4-((5-(децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)морфоліну у вигляді лініменту щодо *A. niger*, *C. albicans*, *Microsporum*, *Trichophyton*. Окрім цього, 4-((5-(децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)морфолін має протимікробні (*St. aureus*), ранозагоювальні та протисвербіжні властивості.

Також актуальним, на нашу думку, залишається спроба розширення «спектра» лікарських форм із відомими субстанціями ряду 1,2,4-триазолів, які виявилися біологічно активними та малотоксичними [5, 6].

Формат подальшого дослідження складався зі створення та спектрофотометричного дослідження лікарської форми – мазі. Мазі – вільні, всебічно дисперсні, безформні (безструктурні) або структуровані системи з пластично-пружно-в'язким дисперсійним середовищем. Лікарські речовини, що містяться в них, всмоктуються в глибокі шари шкіри, підшкірної клітковини, а також в кров'яне і лімфатичне русло з місця її нанесення. На відміну від лініменту, мазь глибше проникає в товщу

шкіри, має більш в'язку концентрацію, повільніше всмоктується і має більшу тривалість лікувального ефекту [7].

Безумовно, належна якість лікарських препаратів є одним із найпріоритетніших факторів їх безпечного та ефективного використання. Сучасні фізико-хімічні методи аналізу дають змогу забезпечити відповідний рівень контролю якості препаратів на всіх етапах виробництва – від субстанції до готового продукту. Тому, наразі, актуальною метою є розроблення високоточних, але при цьому валідних, експресних методик кількісного визначення.

Доцільним було звернутися до спектрофотометричного визначення як сучасного методу аналізу, що базується на визначенні спектра поглинання або вимірюванні світлопоглинання за певної довжини хвилі, яка відповідає максимуму кривої поглинання досліджуваної речовини [7, 8, 16–18, 20].

Метою роботи стало розроблення та валідація нової спектрофотометричної методики кількісного визначення 4-((5-(децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)морфоліну у 7%-й мазі за власним поглинанням, згідно з ДФУ, за такими валідаційними характеристиками як специфічність, лінійність, прецизійність, правильність, діапазон застосування та робасність [22–24].

Матеріали та методи дослідження

Об'єкти дослідження, розчинники та обладнання

Об'єкт дослідження – лікарська форма 4-((5-(децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)морфолін (мазь 7%-ва). Як розчинник використовували етанол, як стандарт – РСЗ 4-((5-(децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)морфолін.

Аналітичне обладнання: спектрофотометр Specord 200 (Analytik Jena, Німеччина), ультразвукова баня ElmasonicE 60H (Німеччина), ваги електронні АВТ-120-5DM (Kern, Німеччина), мірний посуд класу А.

Загальна методика кількісного визначення 4-((5-(децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)морфоліну

Аліквоту 4-((5-(децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)морфоліну (0,02100 г) вміщують у мірну колбу на 50,00 мл, розчиняють та доводять етанолом до позначки, перемішують. 1,00 мл одержаного розчину переносять у мірну колбу ємністю 10,00 мл, доводять розчинником до позначки. Оптичну густину вимірюють на фоні компенсаційного розчину (етанолу) при аналітичній довжині хвилі 251 нм.

Методика кількісного визначення 4-((5-(децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)морфоліну в мазі

Точну наважку (0,3000 г) мазі вміщують у хімічний стакан ємністю 25 мл, додають 10 мл спирту етилового, розчиняють мазь за допомогою ультразвукової бані протягом 5 хв. Потім вміст стакану декантують у мірну колбу ємністю 50,00 мл, стакан ополіскують двома порціями розчинника по 5 мл, доводять до позначки спиртом етиловим, перемішують.

Одержаний розчин фільтрують за допомогою паперового фільтра, попередньо відкидаючи перші порції фільтрату. 1,00 мл одержаного розчину переносять у мірну колбу ємністю 10,00 мл та доводять до позначки тим самим розчинником. Оптичну густину вимірюють на фоні розчинника при довжині хвилі 251 нм. Паралельно проводять визначення з 1,00 мл 0,0420%-го розчину порівняння 4-((5-(децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)морфоліну, який готують шляхом розчинення в етиловому спирті точної наважки субстанції 4-((5-(децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)морфоліну.

Розрахунок вмісту діючої речовини здійснюють за формулою 1:

$$C = \frac{A \cdot C_0 \cdot 50,00 \cdot 10,00}{A_0 \cdot p \cdot 1,00 \cdot l}, \quad (1)$$

де A – оптична густина досліджуваного розчину;

A_0 – оптична густина розчину порівняння;

C_0 – концентрація спектрофотометрованого розчину порівняння 4-((5-(децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)морфоліну (0,0042 г у 100 мл);

p – наважка субстанції, г;

l – товщина шару, см.

Результати дослідження та обговорення

На етапі розроблення методики кількісного визначення розчинник підбирали, керуючись даними щодо розчинності діючої речовини. Відповідно до наданих даних [1], 4-((5-(децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)морфолін є нерозчинним у воді, але розчиняється в етанолі, метанолі, ізопропанолі, діоксані, диметилсульфоксиді. Етанол було обрано як найбільш доступний та менш токсичний розчинник для розроблення цієї методики. 4-((5-(децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)морфолін, розчинений в етанолі, вводять у мазеву основу у вигляді розчину.

Дві смуги поглинання характеризують УФ-спектр 4-((5-(децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)морфоліну в етанолі. Перша смуга спостерігається при 205–235 нм і має максимум поглинання за довжини хвилі 223 нм, друга смуга поглинання знаходиться між 240–260 нм із максимумом поглинання при 251 нм (рис. 1). Другу смугу поглинання було обрано для розроблення методики кількісного аналізу 4-((5-(децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)морфоліну, оскільки вона знаходиться у більш селективній області спектра [8, 19–21].

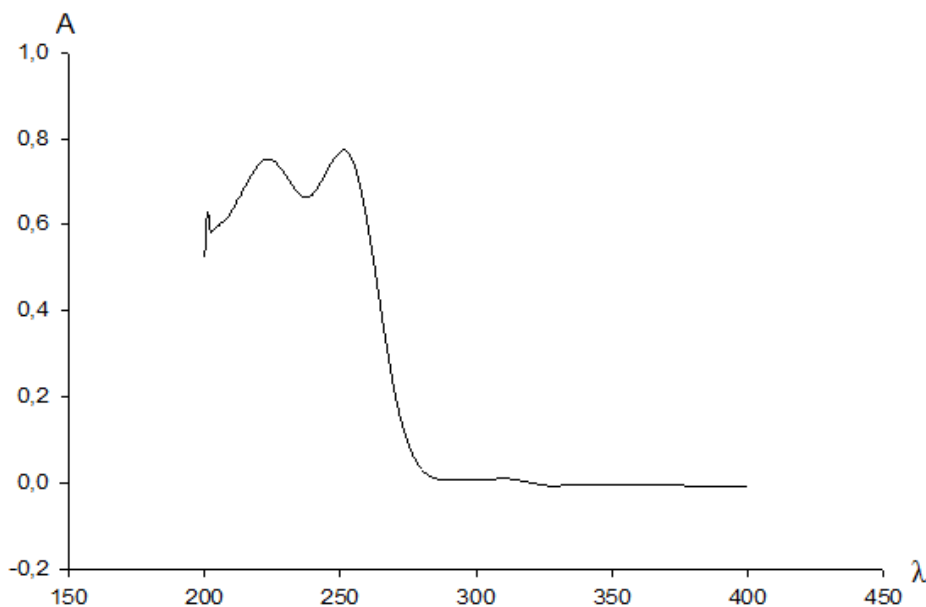


Рис. 1. УФ спектр поглинання 4-((5-(децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)морфоліну в етанолі

Валідація аналітичної методики

Відповідно до вимог ДФУ, розроблену методику кількісного визначення 4-((5-(децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)морфоліну було валідовано методом стандарту [9–11].

Кількісний вміст визначуваних речовин, які підлягають хімічному контролю, в м'яких лікарських засобах має бути від 90% до 110% від номінального вмісту. Виходячи з цього, можна визначити максимально припустиму невизначеність аналізу, що становить 3,20 [12].

У ході процедури було визначено основні валідаційні характеристики – лінійність, прецизійність, правильність, робасність.

Лінійність

Лінійність було визначено у межах концентрацій, в яких спостерігається підпорядкування закону Бугера–Ламберта–Бера, а саме 0,28–0,56 мг/100 мл. Шляхом розведення стандартного 0,0420%-го розчину 4-((5-(децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)морфоліну в етанолі одержували розчини з відомою концентрацією – 0,70; 0,80; 0,85; 0,90; 0,95; 1,00; 1,10; 1,20, 1,30 мл стандартного розчину вміщували в колби ємністю 10,00 мл, доводили до позначки тим самим розчинником і виконували визначення за вищенаведеною загальною методикою. На основі одержаних даних будували графік залежності оптичної густини від концентрації досліджуваної речовини у нормалізованих координатах. (рис. 2).

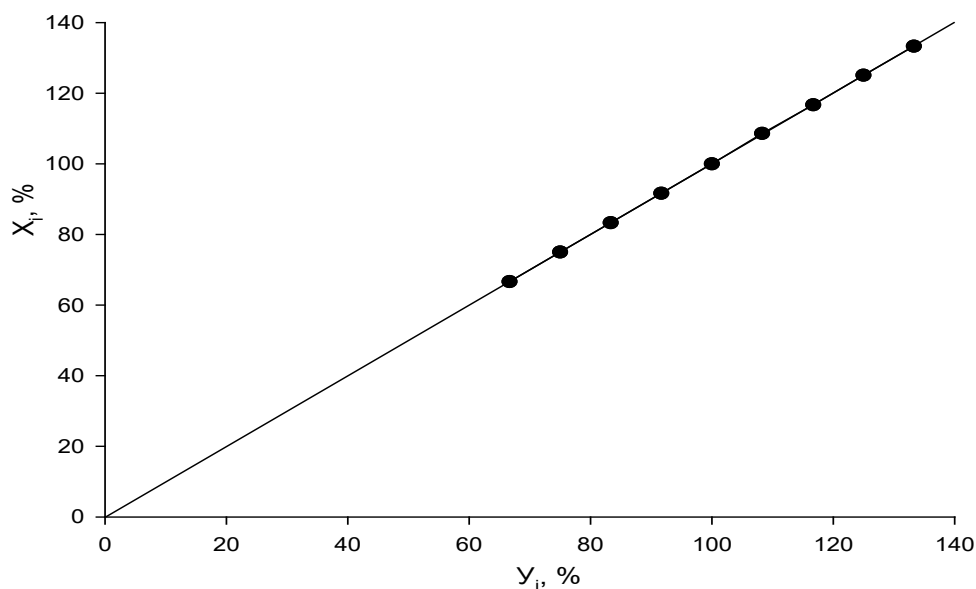


Рис. 2. Графік залежності абсорбції від концентрації 4-((5-(децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)морфоліну

Числові показники лінійної залежності – коефіцієнти b , a , стандартні відхилення для b і a – S_b , S_a , залишкове стандартне відхилення S_{x_0} (%) і коефіцієнт кореляції r наведено у табл. 1.

Параметри лінійної залежності

Величина	Значення	Критерії	Висновок
$b \pm (Sb)$	$0,9986 \pm (0,0016)$	–	–
$a \pm (Sa)$	$0,0953 \pm (0,1655)$	$a \leq t(95\%;7) \cdot Sa = 0,3135$	Відповідає
$Sx,0$ (%)	0,1046	$\leq \Delta As(\%) / t(95\%;7) = 1,689$	Відповідає
r	1,000	$\geq 0,9623$	Відповідає

Виконання нерівності $a \leq t(95\%;7) \cdot Sa$ ($0,0953 < 0,3135$) доводить відсутність систематичної похибки методу. Коефіцієнт кореляції є показником жорсткості лінійного зв'язку між величинами x та y , тобто чим ближче абсолютна величина $|r|$ до одиниці, тим менш випадкова спостережувана лінійна залежність [9, 10].

Отже, розраховані числові показники свідчать про те, що виконуються усі вимоги ДФУ щодо параметрів лінійної залежності і лінійність методики підтверджується у всьому обраному діапазоні концентрацій.

Прецизійність

Із трьох наважок досліджуваної речовини готували три розчини, з кожним з яких виконували по три паралельні виміри за аналітичної довжини хвилі (всього 9). Оптичну густину розчину порівняння вимірювали паралельно. Вміст 4-((5-децилтію)-4-метил-4-Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)морфоліну розраховували за формулою (1).

На основі одержаних результатів розраховували середнє значення (\bar{Z} , %), відносне стандартне відхилення (S_z , %) та відносний довірчий інтервал ($\Delta\%$) (табл. 2). Виходячи з наведених у табл. 2 даних, у всіх випадках однобічний довірчий інтервал не перевищує максимально припустиму невизначеність аналізу, тому методика є точною на рівні збіжності [12–15].

Таблиця 2

Визначення прецизійності та правильності методики кількісного визначення

Величини	Критерії (для допусків 90–110%)	Значення та висновок
<i>Прецизійність на рівні збіжності</i>		
Середнє \bar{Z} , %	–	100,9
Відносне стандартне відхилення S_z , %	$\leq 1,69$	0,158 Відповідає
Відносний довірчий інтервал $\Delta\% = t(95\%, 8) \cdot S_z$, %	$\leq 3,20$	0,294 Відповідає
<i>Правильність методом добавок</i>		
Середнє \bar{Z} , %	–	100,1
Відносне стандартне відхилення S_z , %	$\leq 1,69$	0,436 Відповідає
Відносний довірчий інтервал $\Delta\% = t(95\%, 8) \cdot S_z$, %	$\leq 3,20$	0,811 Відповідає
Систематична похибка $\delta_{\text{tot}} = \bar{Z} - 100 $	–	0,100
Критерій незначущості систематичної похибки $\delta_{\text{tot}} \leq \Delta\%/3$	$\leq 0,270$	Відповідає

Правильність. Для встановлення правильності методики було використано метод добавок, у ході якого до трьох рівних проб лікарської форми додавали різні кількості стандартного розчину 4-((5-децилтію)-4-метил-4-Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)морфоліну та аналізували тричі.

Згідно з ДФУ, результати визначень є правильними, якщо вони не обтяжені значущою систематичною похибкою, тобто, справжнє значення величини, що визначається, попадає у встановлений довірчий інтервал. Отже, запропонована методика є правильною, оскільки, як видно з табл. 2, систематична похибка δ_{tot} не перевищує критерій незначущості $\delta_{\text{tot}} \leq \Delta\%/3$, тому методика є правильною [6, 8].

Робасність

Для перевірки робасності методики кількісного визначення вивчали стабільність розчинів у часі. Встановлено, що оптична густина випробовуваних розчинів та розчину порівняння є стійкими упродовж щонайменше 30 хв.

Повна невизначеність аналітичної методики кількісного визначення

Для підтвердження коректності методики у разі відтворювання в іншій лабораторії необхідно дати прогноз повної невизначеності методики. Повна невизначеність результатів аналізу не має перевищувати максимально припустиму невизначеність результатів аналізу (Δ_{As}). Повну невизначеність, що прогнозують, розраховують за формулою [12].

Формула для розрахунку прогнозу повної невизначеності:

$$\Delta_{As} = \sqrt{\Delta_{SP}^2 + \Delta_{FAO}^2}, \quad (2)$$

де Δ_{SP} – невизначеність пробопідготовки;

Δ_{FAO} – прогнозована невизначеність кінцевої аналітичної операції – спектрофотометрії (0,70%).

Прогноз невизначеності пробопідготовки наведено в табл. 3.

Таблиця 3

Прогноз невизначеності пробопідготовки методики визначення вмісту 4-((5-(децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)морфоліну у 7%-й мазі

Операція пробопідготовки	Параметр розрахункової формули	Невизначеність, %
<i>Досліджуваний розчин</i>		
1) Взяття наважки мазі	m_0	0,2 мг/300 мг · 100% = 0,067
2) Доведення до об'єму в мірній колбі ємністю 50 мл	50	0,17
3) Взяття аліквоти розведення напівфабрикату-розчину піпеткою на 2 мл	2	0,57
Доведення до об'єму в мірній колбі ємністю 10 мл	10	0,50
<i>Розчин порівняння</i>		
1) Взяття наважки СЗ 4-((5-(децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)морфоліну	m_0	0,2 мг/21 мг · 100% = 0,95
2) Доведення до об'єму в мірній колбі ємністю 50 мл	50	0,17
3) Взяття аліквоти розведення розчину піпеткою на 2 мл	2	0,57
4) Доведення до об'єму в мірній колбі ємністю 10 мл	10	0,50
$\Delta_{SP} = \sqrt{0,067^2 + 0,17^2 + 0,57^2 + 0,50^2 + 0,95^2 + 0,17^2 + 0,57^2 + 0,50^2} = 1,45 \%$		



Рис. 3. Розподілення невизначеності пробопідготовки за операціями для кількісного визначення 4-((5-(децилтію)-4-метил-4-Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)морфоліну у 7%-й мазі

Із діаграми (рис. 3) видно, що найбільш вагому невизначеність в пробопідготовку вносять операції 5 – взяття наважки стандартного зразка 4-((5-(децилтію)-4-метил-4-Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)морфоліну, а також 3 (7) та 4 (8) – взяття аліквоти піпетками на 2,00 мл та доведення до об'єму в мірних колбах ємністю 10,00 мл. Таке розподілення невизначеності пробопідготовки є цілком характерним для кількісного визначення лікарських засобів.

Отже, відтворення розробленої методики в інших лабораторіях є можливим, тому що прогнозована повна невизначеність аналізу (1,61%) не перевищує максимально допустиму невизначеність методики (3,20%) [9, 12].

Висновок

Розроблено нову чутливу, економічну та просту у виконанні спектрофотометричну методику кількісного визначення 4-((5-(децилтію)-4-метил-4-Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)морфоліну в м'якому лікарському засобі для зовнішнього застосування (7%-й мазі) за власним поглинанням. За основними валідаційними характеристиками (лінійність, прецизійність, правильність та робастність) запропонована методика валідна та відповідає вимогам Державної фармакопеї України. Також, згідно з прогнозованою повною невизначеністю аналізу, методика буде відтворюваною та коректною й в інших лабораторіях також.

Автори статті щиро дякують Збройним силам України та редакції наукового журналу за можливість здійснювати і публікувати свої дослідження.

Список використаної літератури

1. Парченко В. В., Панасенко О. І., Книш Є. Г. та ін. Протівірусна активність солей 2-[5-(фуран-2-іл)-4-*R*-1,2,4-триазол-3-ілтіо]ацетатних кислот // Фармац. журн. – 2008. – № 6. – С. 79–85.
2. Данільченко Д. М., Парченко В. В., Панасенко О. І., Книш Є. Г. Протівомлявальна дія алкіл похідних 5-(фуран-2-іл, 2-метилфуран-3-іл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-іонів // Фармац. журн. – 2016. – № 2. – С. 92–97.
3. Бігдан О. А. Актопротекторна активність деяких похідних 5-(тіофен-3-ілметил)-*R*₁-1,2,4-триазол-3-тіолу // Фармац. журн. – 2020. – Т. 75, № 3. – С. 80–85. <https://doi.org/10.32352/0367-3057.3.20.08>
4. Оглобліна М. В., Бушуєва І. В., Парченко В. В. Сучасні підходи щодо вивчення протимікробної та протигрибкової активності нових похідних 1,2,4-триазолу // Фармац. журн. – 2022. – Т. 77, № 3. – С. 94–102. <https://doi.org/10.32352/0367-3057.3.22>
5. Парченко В. В. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості похідних 1,2,4-триазол-3-тіону, які містять ядро фурану. Дис. ... канд. фарм. наук. – К., 2006. – 207 с.
6. Парченко В. В. Синтез, перетворення, фізико-хімічні та біологічні властивості в ряду 5-фурил-заміщених 1,2,4-триазол-3-іонів. Дис. ... д-ра фарм. наук. – Запоріжжя, 2014. – 361 с.
7. Фармацевтична енциклопедія. – Режим доступу: <https://www.pharmacypedia.com.ua/article/1300/mazi>
8. Булатов М. И., Калинин И. П. Практическое руководство по фотометрическим методам анализа. 5-е изд. – Л.: Химия. – 1986. – 432 с.
9. Державна фармакопея України: в 3 т. 2-е вид. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – Харків: ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. – Т. 1. – 1128 с.
10. Державна фармакопея України: в 3 т. 2-е вид. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – Харків: ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. – Т. 3. – 732 с.
11. Державна фармакопея України / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». – 2001. – 556 с.
12. Державна фармакопея України / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». – 2008. – 620 с.
13. Державна фармакопея України / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». – 2009. – 280 с.
14. Державна фармакопея України / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». – 2011. – 540 с.
15. Гризодуб А. И. Стандартизованные процедуры валидации методик контроля качества лекарственных средств. – Харьков: ГП «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств», 2016. – 396 с.
16. Гризодуб А. И., Зволнская Н. Н., Архипова Н. Н. и др. Воспроизводимость фармакопейных спектрофотометрических методик количественного определения лекарственных средств в разных лабораториях // Фармаком. – 2004. – № 2. – С. 20–34.
17. Гризодуб А. И. Валидация спектрофотометрических методик количественного анализа лекарственных средств в соответствии с требованиями ГФУ // Фармаком. – 2002. – № 3. – С. 42–50.
18. Гризодуб А. И., Леонтьев Д. А., Денисенко Н. Н., Подпрудников Ю. В. Стандартизованная процедура валидации методик количественного анализа лекарственных средств методом стандарта // Фармаком. – 2004. – № 3. – С. 3–17.
19. Borisenko N. M., Bushueva I. V., Parchenko V. V. et al. Anti-Inflammatory, Antiviral Veterinary Medicine with Immuno-Modulating Activity // Res. J. Pharm. Tech. – 2019. – V. 12, N 11. – P. 5455–5459. <https://doi.org/10.5958/0974-360X.2019.00909.0>
20. Klosova K. G., Bushueva I. V., Parchenko V. V. et al. Trifuzol Suppositories Usage Results On The Course Of Endometrial Inflammatory Processes In Cows // Res. J. Pharm. Biol. Chem. Sci. – 2019. – V. 10, N 1. – P. 1215–1223.
21. Klosova K. G., Miedviedieva K. P., Vasiuk S. O., Bushueva I. V. Spectrophotometric determination of a substance trifuzol suppository // Current Issues of Pharmaceutical and Medical Science and Practice. – 2020. – V. 1, N 32. – P. 46–50. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2020.1.198123>
22. Bushueva I. V., Klyosova K. G., Parchenko V. V. et al. Influence of the Carrier type and Surfactants on the Trifuzole Emission from Veterinary Intrauterine Suppositories // Res. J. Pharm. Tech. – 2020. – V. 13, N 11. – P. 5407–5410. <https://doi.org/10.5958/0974-360X.2020.00945>

23. Agrawal O. D., Telang N. B. Development and Validation of UV Spectrophotometric Method for Estimation of Benfotiamine in Bulk and Dosage Form // Asian J. Pharm. Analysis. – 2016. – V. 6, N 3. – P. 133–137. <https://doi.org/10.5958/2231-5675.2016.00020.X>

24. Thorat D. B. Methods Development and Validation of Cefprozil by UV-Vis Spectrophotometry // Asian J. Pharm. Analysis. – 2021. – V. 11, N 2. – P. 70–72. <https://doi.org/10.52711/2231-5675.2021.00013>

References

1. Parchenko V. V., Panasenko O. I., Knysh Ye. H. *ta in*. Protyvirusna aktyvnist solei 2-[5-(furan-2-il)-4-R-1,2,4-tryazol-3-iltio]atsetatnykh kyslot // Farmats. zhurn. – 2008. – № 6. – S. 79–85.

2. Danilchenko D. M., Parchenko V. V., Panasenko O. I., Knysh Ye. H. Protyvtomliuvalna diia alkil pokhidnykh 5-(furan-2-il, 2-metylfuran-3-il)-4-amino-1,2,4-tryazol-3-tioniv // Farmats. zhurn. – 2016. – № 2. – S. 92–97.

3. Bihdan O. A. Aktoprotektorna aktyvnist deiakykh pokhidnykh 5-(tiofen-3-ilmetyl)-R1-1,2,4-tryazol-3-tiolu // Farmats. zhurn. – 2020. – T. 75, № 3. – S. 80–85. <https://doi.org/10.32352/0367-3057.3.20.08>

4. Ohloblina M. V., Bushuieva I. V., Parchenko V. V. Suchasni pidkhody shchodo vyvchennia protymikrobnoi ta protyhrybkovoi aktyvnosti novykh pokhidnykh 1,2,4-tryazolu // Farmats. zhurn. – 2022. – T. 77, № 3. – S. 94–102. <https://doi.org/10.32352/0367-3057.3.22>

5. Parchenko V. V. Syntez, fizyko-khimichni ta biolohichni vlastyvoli pokhidnykh 1,2,4-triazol-3-tionu, yaki mistiat yadro furanu. Dys. ... kand. farm. nauk. – K., 2006. – 207 s.

6. Parchenko V. V. Syntez, peretvorennia, fizyko-khimichni ta biolohichni vlastyvoli v riadu 5-furylzamishchenykh 1,2,4-triazol-3-tioniv. Dys. ... d-ra farm. nauk. – Zaporizhzhia, 2014. – 361 s.

7. Farmatsevtychna entsyklopediia. – Rezhym dostupu: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/1300/mazi>

8. Bulatov M. Y., Kalynkyn Y. P. Praktycheskoe rukovodstvo po fotometrycheskym metodam analiza. 5-e yzd. – L.: Khymia. – 1986. – 432 s.

9. Derzhavna farmakopeia Ukrainy: v 3 t. 2-e vyd. / DP «Ukrainskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv». – Kharkiv: DP «Ukrainskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv», 2015. – T. 1. – 1128 s.

10. Derzhavna farmakopeia Ukrainy: v 3 t. 2-e vyd. / DP «Ukrainskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv». – Kharkiv: DP «Ukrainskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv», 2014. – T. 3. – 732 s.

11. Derzhavna farmakopeia Ukrainy / DP «Naukovo-ekspertnyi farmakopeinyi tsentr». – 2001. – 556 s.

12. Derzhavna farmakopeia Ukrainy / DP «Naukovo-ekspertnyi farmakopeinyi tsentr». – 2008. – 620 s.

13. Derzhavna farmakopeia Ukrainy / DP «Naukovo-ekspertnyi farmakopeinyi tsentr». – 2009. – 280 s.

14. Derzhavna farmakopeia Ukrainy / DP «Naukovo-ekspertnyi farmakopeinyi tsentr». – 2011. – 540 s.

15. Grizodub A. I. Standartizovannye procedury validacii metodik kontrolya kachestva lekarstvennykh sredstv. – Harkov: GP «Ukrainskij nauchnyj farmakopeinyj centr kachestva lekarstvennykh sredstv», 2016. – 396 s.

16. Grizodub A. I., Zvolinskaya N. N., Arhipova N. N. *i dr.* Vosproizvodimost farmakopeinykh spektrofotometrycheskikh metodik kolichestvennogo opredeleniya lekarstvennykh sredstv v raznykh laboratoriyah // Farmakom. – 2004. – № 2. – S. 20–34.

17. Grizodub A. I. Validaciya spektrofotometrycheskikh metodik kolichestvennogo analiza lekarstvennykh sredstv v sootvetstvii s trebovaniyami GFU // Farmakom. – 2002. – № 3. – S. 42–50.

18. Grizodub A. I., Leontev D. A., Denisenko N. N., Podpruzhnikov Yu. V. Standartizovannaya procedura validacii metodik kolichestvennogo analiza lekarstvennykh sredstv metodom standarta // Farmakom. – 2004. – № 3. – S. 3–17.

19. Borisenko N. M., Bushuieva I. V., Parchenko V. V. *et al.* Anti-Inflammatory, Antiviral Veterinary Medicine with Immuno-Modulating Activity // Res. J. Pharm. Tech. – 2019. – V. 12, N 11. – P. 5455–5459. <https://doi.org/10.5958/0974-360X.2019.00909.0>

20. Klosova K. G., Bushuieva I. V., Parchenko V. V. *et al.* Trifuzol Suppositories Usage Results On The Course Of Endometrial Inflammatory Processes In Cows // Res. J. Pharm. Biol. Chem. Sci. – 2019. – V. 10, N 1. – P. 1215–1223.

21. Klosova K. G., Miedviedieva K. P., Vasiuk S. O., Bushuieva I. V. Spectrophotometric determination of a substance trifuzol suppository // Current Issues of Pharmaceutical and Medical Science and Practice. – 2020. – V. 1, N 32. – P. 46–50. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2020.1.198123>

22. *Bushuieva I. V., Klyosova K. G., Parchenko V. V. et al.* Influence of the Carrier type and Surfactants on the Trifuzole Emission from Veterinary Intrauterine Suppositories // *Res. J. Pharm. Tech.* – 2020. – V. 13, N 11. – P. 5407–5410. <https://doi.org/10.5958/0974-360X.2020.00945>

23. *Agrawal O. D., Telang N. B.* Development and Validation of UV Spectrophotometric Method for Estimation of Benfotiamine in Bulk and Dosage Form // *Asian J. Pharm. Analysis.* – 2016. – V. 6, N 3. – P. 133–137. <https://doi.org/10.5958/2231-5675.2016.00020.X>

24. *Thorat D. B.* Methods Development and Validation of Cefprozil by UV-Vis Spectrophotometry // *Asian J. Pharm. Analysis.* – 2021. – V. 11, N 2. – P. 70–72. <https://doi.org/10.52711/2231-5675.2021.00013>

Надійшла до редакції 10 квітня 2023 р.

Прийнято до друку 21 квітня 2023 р.

К. В. Хоменко ¹ (<https://orcid.org/0000-0001-8612-2268>),
К. П. Медведєва ² (<https://orcid.org/0000-0001-7260-5728>),
І. В. Бушуєва ² (<https://orcid.org/0000-0002-5336-3900>),
С. О. Васюк ² (<https://orcid.org/0000-0002-1569-9374>),
Ж. М. Полова ¹ (<http://orcid.org/0000-0001-8997-4634>)

¹ Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ

² Запорізький державний медико-фармацевтичний університет

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ 4-((5-(ДЕЦИЛТІО)-4-МЕТИЛ-4-Н-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ІЛ)МЕТИЛ)МОРФОЛІНУ В М'ЯКІЙ ЛІКАРСЬКІЙ ФОРМІ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНИМ МЕТОДОМ

Ключові слова: спектрофотометрія, валідаційні характеристики, лікарська форма, мазь, 4-((5-(децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)морфолін

АНОТАЦІЯ

Синтетичні біологічно активні сполуки є активними фармацевтичними інгредієнтами різних лікарських препаратів, які широко використовують як у гуманній, так і у ветеринарній медицині. Актуальним на сьогодні залишаються питання створення нових ефективних протимікробних та протигрибкових ліків. Цей факт має аргументоване пояснення у зв'язку зі збільшенням інфекційних захворювань мікробної та грибової етіології та постійно зростаючою резистентністю мікроорганізмів та грибів до різних лікарських препаратів.

Формат подальшого дослідження складався зі створення та спектрофотометричного дослідження лікарської форми – мазі.

Метою роботи стало розроблення та валідація нової спектрофотометричної методики кількісного визначення 4-((5-(децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)морфоліну у 7%-й мазі за власним поглинанням.

На етапі розроблення методики кількісного визначення розчинник підбирали, керуючись даними щодо розчинності діючої речовини. Відповідно до наданих даних, 4-((5-(децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)морфолін є нерозчинним у воді, але розчиняється в етанолі, метанолі, ізопропанолі, діоксані, диметилсульфоксиді. Етанол було обрано як найбільш доступний та менш токсичний розчинник для розроблення цієї методики. 4-((5-(децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)морфолін, розчинений в етанолі, вводять у мазеву основу у вигляді розчину.

Кількісний вміст визначуваних речовин, які підлягають хімічному контролю, в м'яких лікарських засобах має бути від 90% до 110% від номінального вмісту. Виходячи з цього, можна визначити максимально припустиму невизначеність аналізу, що становить 3,20.

У ході процедури було визначено основні валідаційні характеристики – лінійність, прецизійність, правильність, робасність.

Таким чином, розроблено нову чутливу, економічну та просту у виконанні спектрофотометричну методику кількісного визначення 4-((5-(децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил)морфоліну в м'якому лікарському засобі для зовнішнього застосування (7%-й мазі) за власним поглинанням. За основними валідаційними характеристиками (лінійність, прецизійність, правильність та робасність) запропонована методика валідна та відповідає вимогам Державної фармакопеї України.

K. V. Khomenko ¹ (<https://orcid.org/0000-0001-8612-2268>),
K. P. Medvedeva ² (<https://orcid.org/0000-0001-7260-5728>),
I. V. Bushueva ² (<https://orcid.org/0000-0002-5336-3900>),
S. A. Vasyuk ² (<https://orcid.org/0000-0002-1569-9374>),
Zh. M. Polova ¹ (<http://orcid.org/0000-0001-8997-4634>)

¹ *Bogomolets National Medical University, Kyiv*

² *Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University*

QUANTITATIVE DETERMINATION OF 4-((5-(DECYLTHIO)-4-METHYL-4-H-1,2,4-TRIAZOL-3-YL)METHYL)MORPHOLINE IN THE SOFT MEDICINAL FORM BY SPECTROPHOTOMETRIC METHOD

Key words: spectrophotometry, validation characteristics, dosage form, ointment, 4-((5-(decylthio)-4-methyl-4-H-1,2,4-triazol-3-yl)methyl)morpholine

ABSTRACT

Synthetic biologically active compounds are the active pharmaceutical ingredients of various dosage forms that are widely used in both human and veterinary medicine. Nowadays the development of new effective antimicrobial and antifungal drugs remains a actual problem. This fact has a reasoned explanation in connection with the increase in infectious diseases of microbial and fungal etiology and the ever-growing resistance of microorganisms and fungi to various drugs.

The aim of this research was to develop and validate a new spectrophotometric method for the quantitative determination of 4-((5-(decylthio)-4-methyl-4-H-1,2,4-triazol-3-yl)methyl)morpholine in 7% ointment by intrinsic absorption.

At the stage of development of the quantitative determination method, the solvent was selected based on the solubility of the active substance. According to the data provided, 4-((5-(decylthio)-4-methyl-4-H-1,2,4-triazol-3-yl)methyl)morpholine is insoluble in water, but soluble in ethanol, methanol, isopropanol, dioxane, and dimethyl sulfoxide. Ethanol was chosen as the most accessible and less toxic solvent for the development of this method. Studied 4-((5-(decylthio)-4-methyl-4-H-1,2,4-triazol-3-yl)methyl)morpholine dissolved in ethanol is introduced into the ointment base as a solution.

The quantitative content of substances subject to chemical control in soft dosage forms should be between 90% and 110% of the nominal content. On this basis, the maximum permitted analytical uncertainty can be determined, which is 3.20.

During the procedure the main validation characteristics were determined, such as: linearity, precision, accuracy and robustness.

Thus, a new sensitive, economical and easy-to-use spectrophotometric method for the quantitative determination of 4-((5-(decylthio)-4-methyl-4-H-1,2,4-triazol-3-yl)methyl)morpholine in a soft dosage form for external use (7% ointment) by the intrinsic absorption method was developed. According to the main validation characteristics (linearity, precision, accuracy and robustness), the proposed method is valid and meets the requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine.

*Електронна адреса для листування з авторами: valery999@ukr.net
(Бушуєва І. В.)*