

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

ВРАКІН ВАЛЕНТИН ОЛЕКСІЙОВИЧ

УДК 615.12:615.454.1:615.072:615.357:615.33.62

**РОЗРОБКА ТА ВАЛІДАЦІЯ МЕТОДИК КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
КОМБІНОВАНИХ МАЗЕЙ З ТЕТРАЦИКЛІНОМ ТА ГІДРОКОРТИЗОНОМ**

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

**Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук**

Харків – 2017

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Національному фармацевтичному університеті Міністерства охорони здоров'я України.

Науковий керівник: доктор фармацевтичних наук, професор
ГЕОРГІЯНЦ ВІКТОРІЯ АКОПІВНА
Національний фармацевтичний університет,
завідувач кафедри фармацевтичної хімії

Офіційні опоненти: доктор хімічних наук, професор
СВЄЧНІКОВА ОЛЕНА МИКОЛАЇВНА
Харківський національний педагогічний
університет ім. Г. С. Сковороди,
завідувач кафедри хімії

доктор фармацевтичних наук, професор
ВЕТЮТНЕВА НАТАЛІЯ ОЛЕКСАНДРІВНА
Національна медична академія післядипломної
освіти імені П. Л. Шупика, завідувач кафедри контролю
якості і стандартизації лікарських засобів

Захист відбудеться «30» листопада 2017 р. о 12⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.01 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4).

Автореферат розісланий «30» жовтня 2017 р.

В. о. вченого секретаря
спеціалізованої вченої ради,
професор

О. А. Рубан

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Питанням якості екстемпоральних лікарських засобів на сьогоднішній день в Україні приділяється багато уваги. Про це свідчить введення до другого видання ДФУ підрозділу “Лікарські засоби, виготовлені в аптеках”, який замінив загальну статтю 5.N.1.1. “Екстемпоральні лікарські засоби” і значно розширив її вимоги. Підрозділ містить загальну статтю “Нестерильні лікарські засоби, виготовлені в аптеках”, яка регламентує загальні вимоги до якості препаратів. Крім цього, етапи контролю якості окремих лікарських форм описують відповідні статті (мазі, порошки, супозиторії та пеларії, виготовлені в аптеці). Окрім інших вимог, загальна стаття ДФУ “Лікарські засоби” висуває вимоги до оцінки факторів ризику для якості препаратів аптечного виготовлення, так як вони не підлягають державній реєстрації після виготовлення.

Одним із основних завдань при контролі якості екстемпоральних ліків за даною статтею є вивчення їх стабільності, необхідності дослідження якої також присвячено багато зарубіжних та вітчизняних робіт. ДФУ на сьогоднішній день встановлений досить короткий термін придатності екстемпоральних ліків, який може бути збільшений лише за наявності науково підтвердженої інформації з дослідження стабільності лікарських форм. Особливої актуальності зазначене питання набуває при виготовленні ліків про запас, які часто потребують значно довший термін придатності, ніж регламентується ДФУ.

Мазі аптечного виготовлення займають значне місце в асортименті екстемпоральних ліків. Після нестерильних розчинів вони посідають друге місце за частотою призначення. Особливо популярними є лікарські форми для лікування дерматологічних захворювань, які готуються з використанням мазей промислового виробництва. Перевагами таких лікарських форм є можливість доповнення дії готових препаратів додаванням інших активних фармацевтичних інгредієнтів (АФІ), які значно її розширюють. За рахунок цього з'являється можливість впливати на різні ланки патологічного процесу та підбирати індивідуальний склад препарату, враховуючи особливості перебігу хвороби у кожного окремого пацієнта. Однак при приготуванні таких лікарських форм постає питання контролю їх якості та збереження стабільності, оскільки вже готова лікарська форма в процесі обробки піддається додатковому механічному впливу та дії факторів навколишнього середовища. Тому необхідним є дослідження впливу процесу технологічного опрацювання готового препарату промислового виробництва, що слугує проміжним продуктом в екстемпоральному препараті, на його структурно-механічні властивості, вивчення збереження кількісного вмісту та його відповідності допустимим межах відхилення для активних інгредієнтів протягом визначеного періоду та оцінка мікробіологічної чистоти за вимогами ДФУ. Дані дослідження є актуальними, оскільки на сьогоднішній день в інформаційному полі кількість наукових публікацій вкрай обмежена.

Оскільки серед мазей аптечного виготовлення часто зустрічаються препарати для лікування дерматологічних захворювань з антибіотиками та кортикостероїдами,

актуальним є розробка методик їх якісного і кількісного аналізу та вивчення стабільності.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Робота є частиною наукових досліджень, що проводяться співробітниками Національного фармацевтичного університету в напрямку стандартизації екстемпоральних лікарських засобів і розробки, валідації та стандартизації методик контролю якості лікарських засобів. Дисертація виконана у відповідності до плану науково-дослідних робіт НФаУ за темою “Розробка та валідація методів контролю якості лікарських засобів аптечного і промислового виробництва” (№№ державної реєстрації 0108U000376 та 0114U000949) та ПК “Фармація” МОЗ України та НАМН України.

Мета і завдання дослідження. Метою роботи було вивчення показників якості комбінованих мазей аптечного виготовлення з гідрокортизону бутиратом та тетрацикліну гідрохлоридом, встановлення їх відповідності вимогам ДФУ, розробка методик аналізу діючих компонентів мазі, а також визначення мікробіологічної чистоти мазей, їх стабільності та відповідності реологічних параметрів.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

- Проаналізувати асортимент мазей, які готуються в аптеках Закарпатської, Волинської, Харківської і Сумської областей та обрати для експериментальних досліджень мазі, що найчастіше зустрічаються в аптечній практиці;
- Експериментальним шляхом обрати схеми виділення компонентів мазі та їх розділення з можливістю подальшого проведення їх кількісного визначення, або розробити методики визначення при сумісній присутності компонентів;
- Провести валідацію розроблених методик та визначити можливість їх використання у контролі якості досліджуваних мазей в умовах аптек та лабораторій з аналізу якості;
- Дослідити мікробіологічну чистоту мазей відповідно до вимог ДФУ;
- Провести вивчення реологічних параметрів мазей для оцінки збереження їх споживчих властивостей;
- Провести вивчення стабільності мазей з метою встановлення їх терміну придатності.

Об'єкт дослідження – забезпечення та контроль якості комбінованих мазей аптечного виготовлення, що містять гідрокортизону бутират та тетрацикліну гідрохлорид.

Предмет дослідження – вплив на якість мазей промислового виробництва введення інших АФІ; оцінка зміни споживчих властивостей мазей в процесі технологічного опрацювання готового препарату промислового виробництва, що слугує проміжним продуктом в екстемпоральному препараті та термінів зберігання мазей; методики ідентифікації та кількісного аналізу гідрокортизону бутирату, прокаїну гідрохлориду, нітрофуралу, сульфаніламід, тетрацикліну гідрохлориду; встановлення відповідності якості мазей обраного складу вимогам ДФУ.

Методи дослідження. Для проведення ідентифікації компонентів використовували метод ТШХ та хімічні реакції; кількісне визначення АФІ мазей проводили методами спектрофотометрії в УФ та видимій областях та титриметрії (методом “Визначення амінного азоту у сполуках, що містять первинну ароматичну аміногрупу”). Оцінку мікробіологічної чистоти мазей проводили методами глибинного і двошарового висівання. Вивчення реологічних параметрів зразків мазей проводили з використанням ротаційного віскозиметра. Обробку результатів експериментальних досліджень здійснювали статистичними методами обробки результатів хімічного експерименту. Процедуру валідації аналітичних методик здійснювали за вимогами ДФУ. При обробці даних використовували стандартний пакет програм Microsoft Office.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше проведений аналіз якості екстемпоральних мазей, виготовлених з використанням мазей гідрокортизонової 1 % та тетрациклінової 3 % промислового виробництва.

Розроблені та валідовані методики кількісного визначення гідрокортизону бутирату, тетрацикліну гідрохлориду та прокаїну гідрохлориду в досліджуваних комбінованих мазях екстемпорального виготовлення методом абсорбційної спектрофотометрії в УФ та видимій областях спектра. Верифіковані методики кількісного визначення прокаїну гідрохлориду, сульфаніламиду та нітрофуралу.

Вперше здійснена оцінка мікробіологічної чистоти зразків комбінованих мазей аптечного виготовлення протягом місяця (для мазі, виготовленої з використанням мазі гідрокортизонової) та 6 місяців (для мазі, виготовленої з використанням мазі тетрациклінової) при їх зберіганні при температурі 5 ± 3 °C.

Вперше проведений аналіз реологічних параметрів досліджуваних мазей протягом 30 днів. Оцінено ступінь впливу введення інших АФІ на структурно-механічні властивості мазей промислового виробництва, які слугували проміжним продуктом в екстемпоральному препараті за зміною величини структурної в'язкості мазей.

Уперше вивчено стабільність комбінованої мазі, виготовленої з використанням мазі тетрациклінової 3 % за довгостроковими та прискореними випробуваннями стабільності. За довгостроковими випробуваннями проведена оцінка стабільності мазі, виготовленої з використанням мазі гідрокортизонової 1 %. Встановлені рекомендовані терміни придатності мазей.

Новизна досліджень підтверджена поданими двома заявками на патент України на корисну модель (спосіб спектрофотометричного визначення тетрацикліну гідрохлориду в складі комбінованих екстемпоральних лікарських форм: заявка на патент України на корисну модель № u 201704361 від 03.05.2017 та спосіб спектрофотометричного визначення гідрокортизону бутирату в комбінованій мазі аптечного виготовлення в присутності нітрофуралу та прокаїну гідрохлориду: заявка на патент України на корисну модель № u 2017 07297 від 11.07.2017).

Практичне значення отриманих результатів. Розроблені методики ідентифікації та кількісного аналізу компонентів досліджуваних комбінованих мазей можуть бути включені до технологічної інструкції по їх виробництву (виготовленню) в умовах аптек, а також використані при розробці монографій на досліджувані лікарські форми для ДФУ. Результати мікробіологічних та

реологічних досліджень свідчать про можливість збільшення термінів придатності лікарських форм. Це підтверджено також результатами вивчення хімічної стабільності препаратів.

За результатами проведених експериментальних досліджень з вивчення стабільності комбінованих мазей збільшено термін їх придатності з 10 днів до 20-ти денного терміну зберігання (для мазі, виготовленої з використанням мазі гідрокортизонової 1 %) та до 30-ти днів (для мазі, виготовленої з використанням мазі тетрациклінової 3 %).

Окремі результати дисертаційної роботи впроваджені в навчальний процес та наукову діяльність кафедри фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького; кафедри фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету; кафедри контролю якості і стандартизації лікарських засобів НМАПО імені П. Л. Шупика; кафедри якості, стандартизації та сертифікації ліків ПКСФ НФаУ; кафедри фармації Івано-Франківського національного медичного університету та в практичну діяльність виробничих аптек та територіальних Державних служб України з лікарських засобів та контролю за наркотиками у Волинській, Харківській та Сумській областях.

Особистий внесок здобувача. Безпосередньо автором здійснено:

- патентний пошук, аналіз літератури стосовно існуючих методів ідентифікації та кількісного аналізу гідрокортизону, гідрокортизону ацетату та бутирату, а також тетрацикліну гідрохлориду;
- аналіз рецептури аптек Закарпатської, Волинської, Харківської і Сумської областей та участь у виборі об'єктів дослідження;
- пробопідготовку при проведенні досліджень по визначенню кількісного вмісту компонентів мазей;
- ідентифікацію, кількісне визначення активних інгредієнтів мазей при розробці методик, а також при вивченні стабільності мазей;
- статистичну обробку отриманих експериментальних даних та аналіз розрахованих валідаційних характеристик методик.

Наукові роботи опубліковані у співавторстві з Георгіянц В. А., Савченко Л. П., Матерієнко А. С., Безрук І. В., Кухтенко Г. П., Грудько В. О., Крутських Т. В., Яковенко В. К., Умінською К. А., Valogun H., Okoye O. J., Rihah R. M. N.

Співавторами наукових праць є науковий керівник та науковці, спільно з якими проведені дослідження.

Апробація результатів дисертації. Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня: Всеукраїнська науково-практична конференція студентів та молодих вчених «Актуальні питання створення нових лікарських засобів» (Харків, 19-20 квітня 2012); VI науково-практична конференція з міжнародною участю «Управління якістю в фармації» (Харків, 17 квітня 2013); науково-практична конференція «Здоров'я людини у сучасному світі: питання медичної науки та практики» (Одеса, 20-21 червня 2014); Міжнародна науково-практична конференція «Аналітична хімія у фармації» (Харків, 19-20 березня 2015); 44-th Conference «Drug Synthesis and Analysis», (Brno, Czech Republic, 2-4 Sept. 2015); II Міжнародна науково-практична інтернет-

конференція «Аналітична хімія у фармації» (Харків, 17 березня 2016); I науково-практична інтернет-конференція з міжнародною участю «Фармацевтична наука та практика: проблеми, досягнення, перспективи розвитку» (Харків, 24-25 березня 2016); XXIII International Scientific And Practical Conference Of Young Scientific And Student «Topical issues of new drugs development» (Kharkiv, 21 April 2016); VIII Національний з'їзд фармацевтів України «Фармація XXI століття: тенденції та перспективи» (Харків, 13-16 вересня 2016); XVI-я Международная конференция студентов и молодых ученых и I Форума молодежных научных обществ «Студенческая медицинская наука XXI века и I Форума молодежных научных обществ» (Витебск, 2-3 ноября 2016); XXIII International Scientific and Practical Conference of Young Scientific and Student «Topical issues of new drugs development» (Kharkiv, 20 April 2017); Хист, Всеукраїнський журнал молодих вчених (Чернівці, 5-7 квітня 2017); Міжнародна науково-практична конференція «Сучасний вимір медичної науки та практики» (Дніпро, 12-13 травня 2017); XI науково-практична конференція «Управління якістю в фармації» (Харків, 19 травня 2017).

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи опублікована 21 наукова робота, у тому числі 5 статей у наукових фахових виданнях, з яких 1 стаття в іноземному виданні, та 16 тез доповідей на міжнародних науково-практичних конференціях.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 172 сторінках машинописного тексту, складається зі вступу, 4 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та 2 додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 147 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 41 таблицею та 32 рисунками. Список використаних джерел містить 146 найменувань, з них 49 кирилицею та 97 латиницею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Розділ 1. Огляд методик кількісного визначення гідрокортизону та тетрацикліну гідрохлориду. Підходи до стандартизації ліків аптечного виготовлення (Огляд літератури). В розділі описані можливості застосування препаратів з гідрокортизоном та тетрацикліну гідрохлоридом в медичній практиці, а також існуючі методики їх кількісного визначення в складі лікарських форм та біологічних рідин. Проведений аналіз показав, що найчастіше для їх аналізу використовуються хроматографічні методи, які не можуть бути відтворені в умовах аптеки. Проведене узагальнення сучасних вимог ДФУ та Наказу МОЗ України № 812 від 17.10.2012 р. до контролю якості мазей аптечного виготовлення. Здійснене їх порівняння з вимогами Керівництва для аптечних працівників Фармакопеї США. Зроблено висновок про актуальність вивчення показників якості мазей аптечного виготовлення та встановлення їх відповідності вимогам ДФУ з подальшим дослідженням стабільності лікарських форм.

Розділ 2. Вибір об'єктів дослідження та характеристика методів аналізу. Група препаратів для лікування дерматологічних захворювань на ринку лікарських засобів (ЛЗ) України включає препарати з антибактеріальними речовинами та кортикостероїдами. Проведений аналіз асортименту готових ЛЗ для лікування

дерматологічних захворювань за даними Компендіуму-онлайн за двома групами: D06 “Антибіотики та хіміотерапевтичні препарати для використання в дерматології” та D07 “Кортикостероїди для застосування в дерматології” показав, що більшість препаратів промислового виробництва для лікування дерматологічних захворювань є монокомпонентними (рис. 1). Крім того, на ринку монокомпонентних ЛЗ переважають препарати зарубіжного виробництва (рис. 2), як і у групі комбінованих ліків.

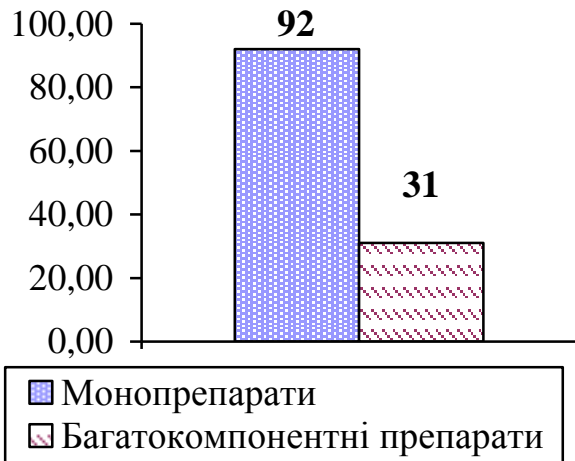


Рис. 1 Діаграма розподілу препаратів за кількістю діючих речовин

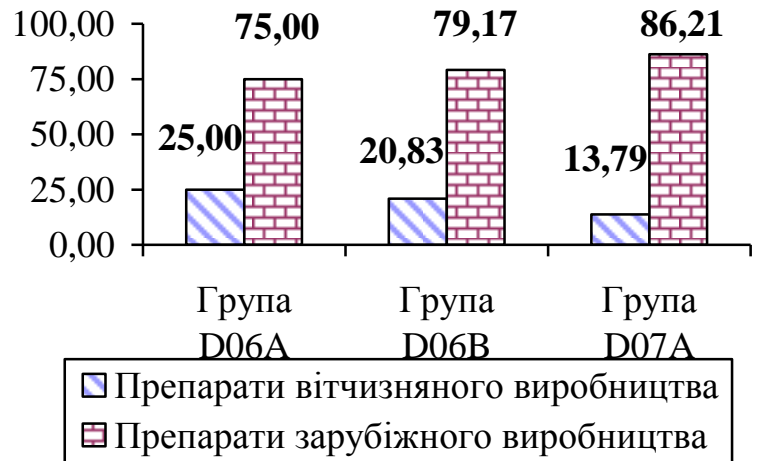


Рис. 2 Розподіл монопрепаратів по групах за виробниками (у %)

Найпоширенішими комбінаціями діючих речовин в таких ЛЗ є антибіотики з анестетиками, протизапальними компонентами, сульфаніламидами та антибактеріальними речовинами. Кортикостероїди ж часто поєднують з кислотою саліциловою, антибактеріальними та антипротозойними речовинами. Крім цього, зустрічаються комбінації антибіотиків з кортикостероїдами (Полькортолон, Бетадерм, Флуцинар N, Тридерм, Целестодерм В з гентаміцином та ін.).

Однак, не завжди поєднання та співвідношення компонентів у готових препаратах забезпечує необхідний терапевтичний ефект. Дуже часто при лікуванні захворювань шкіри дерматологи призначають ЛЗ, виготовлені в умовах аптеки.

Проведений аналіз асортименту екстемпоральних мазей в аптеках Закарпатської, Волинської, Харківської і Сумської областей виявив велику кількість прописів, які готуються з використанням мазей промислового виробництва. Найчастіше використовуються мазі Синафлан, Клотримазол, Фторокорт, Преднізолон, Гідрокортизон, Тетрациклін. Їх склад доповнюють додаванням вітамінів, антибактеріальних речовин та анестетиків. Найчастіше в аптечній практиці зустрічаються екстемпоральні мазі, виготовлені з використанням мазі гідрокортизонової 1 % та тетрациклінової 3 % промислового виробництва, дві з яких і були обрані для проведення подальших досліджень.

*Rp.: Nitrofurali 0,02
Procaini hydrochloridi 0,1
Ung. Hydrocortisoni 1 % - 10,0
M. D. S.*

*Rp.: Sulfanilamidi 1,0
Procaini hydrochloridi 0,5
Sulfuris 0,5
Ung. Tetracyclini 3 % - 15,0
M. D. S.*

Використання при виготовленні ЛЗ в аптеці препаратів промислового виробництва дозволене Наказом МОЗ України № 812 від 17.10.2012 р. “Про затвердження Правил виробництва (виготовлення) та контролю якості лікарських засобів в аптеках”. Такі лікарські форми мають переваги завдяки оптимально підбраному складу основи, меншій похибці виготовлення препарату за рахунок зменшення кількості операцій дозування компонентів лікарської форми. Однак, при цьому постає питання ступеня впливу додаткової обробки на якість мазі промислового виробництва та стабільність кінцевого препарату, що обумовлює необхідність проведення додаткових досліджень з вивчення даного питання.

Вимоги до якості мазей аптечного виготовлення містять статті ДФУ “Нестерильні ЛЗ, виготовлені в аптеках” та “М’які ЛЗ, виготовлені в аптеках”. Поряд з іншими вимогами до якості в першій статті вказано, що екстемпоральні ЛЗ повинні витримувати випробування на мікробіологічну чистоту, а загальна стаття ДФУ “Лікарські засоби” підкреслює необхідність проведення випробувань стабільності екстемпоральних препаратів. Тому, крім розробки та валідації методик аналізу діючих речовин обраних мазей, нами була оцінена їх мікробіологічна чистота, реологічні параметри та хімічна стабільність.

Оцінку мікробіологічної чистоти мазей проводили за вимогами статті ДФУ 2.6.12 “Мікробіологічна чистота нестерильних ЛЗ: визначення числа мікроорганізмів” методами двошарового (для обох мазей) і глибинного висівання (для мазі, виготовленої з використанням мазі гідрокортизонової 1 %). Виготовлені зразки мазей зберігали при температурі 5 ± 3 °С. Мікробіологічну чистоту визначали відразу після приготування, а також через 30 днів зберігання (для мазі з гідрокортизону бутиратом). Мікробіологічну чистоту мазі з тетрацикліну гідрохлоридом визначали протягом шести місяців (через кожні 30 днів зберігання).

Реологічні властивості зразків мазей визначали протягом місяця за допомогою ротаційного віскозиметра “Rheolab QC” (Anton Paar, Австрія) з коаксіальними циліндрами C-CC27/SS при температурі $20 \pm 0,5$ °С. Термостатування зразків здійснювали за допомогою термостату MLM U15°.

Розділ 3. Дослідження показників якості екстемпоральної мазі з гідрокортизоном. Аналіз мазі був розпочатий з вибору специфічних реакцій ідентифікації її діючих компонентів. Оскільки нітрофурал заважає визначенню гідрокортизону бутирату за реакцією з сірчаною кислотою концентрованою, так як забарвлює аналітичний розчин в жовтий колір, для виділення гідрокортизону бутирату була обрана оптимальна схема екстракції з основи мазі за допомогою реакції на неомілювані речовини (за статтею 2.5.7 “Неомілювані речовини” ДФУ). Після вилучення ідентифікацію гідрокортизону бутирату проводили за реакцією з кислотою сірчаною концентрованою та спостерігали появу інтенсивного помаранчево-жовтого забарвлення із зеленою флуоресценцією особливо інтенсивною при перегляді в УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм. Можливість виділення гідрокортизону бутирату доведена методом ТШХ за появою плям стандартного розчину гідрокортизону бутирату та отриманого витягу з мазі.

Для розробки методики кількісного визначення гідрокортизону бутирату було необхідно розробити таку схему пробопідготовки, яка б дозволила провести його визначення методом прямої спектрофотометрії. На початку досліджень вилучення

гідрокортизону бутирату з мазі проводили за допомогою етанолу 96 % (за рекомендаціями Японської Фармакопеї). Спектр отриманого розчину (рис. 3) свідчить, що використання етанолу є не ефективним для екстрагування гідрокортизону бутирату з мазі та його кількісного визначення, оскільки в цьому випадку максимум поглинання на спектрі (241 нм) є близьким до максимумів поглинання прокаїну гідрохлориду (222 та 290 нм), який також розчиняється в етанолі. Після цього розглянута можливість виділення гідрокортизону бутирату за модифікованою реакцією на неомилювані речовини з подальшим його визначенням за реакцією з сірчаною кислотою (рис. 4). Отримані результати довели неможливість використання такого підходу, про що свідчать спектри поглинання розчинів прокаїну гідрохлориду (максимуми поглинання 244 та 274 нм) та нітрофуралу (максимуми поглинання 238 та 326 нм) після додавання до кожного з них розчину сірчаної кислоти.

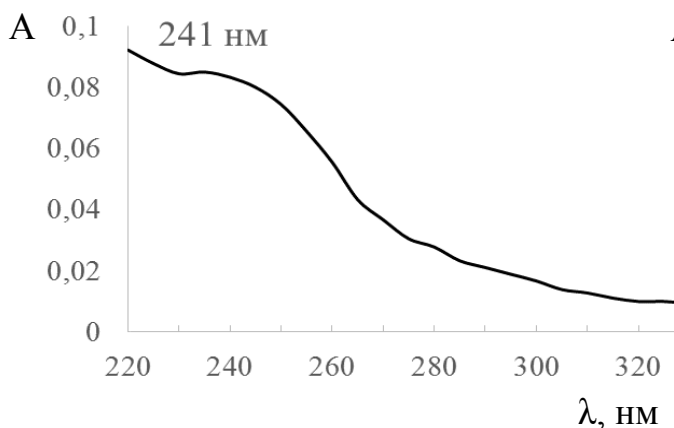


Рис. 3 Спектр поглинання етанольного витягу з досліджуваної мазі

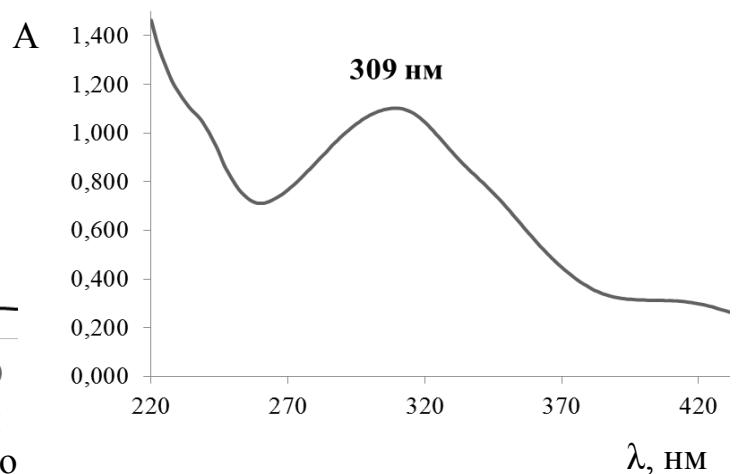


Рис. 4 Спектр поглинання екстракту мазі після реакції з кислотою сірчаною

У подальшому була вивчена можливість екстракції гідрокортизону бутирату з основи мазі за допомогою етилацетату з подальшим визначенням за реакцією з сірчаною кислотою. За таких умов відбувалось накладання двох максимумів поглинання, що також унеможливило використання такого ходу екстракції в аналізі.

Оскільки з використанням описаних підходів не вдалось досягти повного розділення компонентів, було вирішено розробити методику, яка б дозволяла провести кількісне визначення гідрокортизону бутирату в присутності нітрофуралу та прокаїну гідрохлориду з використанням дериватизації. Для цього були обрані реакції, які б супроводжувались утворенням окисненого продукту, максимум поглинання якого знаходився б в інших межах, ніж максимуми поглинання нітрофуралу та прокаїну гідрохлориду. З цією метою була використана реакція гідрокортизону бутирату з 0,5 % розчином заліза (III) хлориду та 0,5 % розчином калію гексаціаноферату (III) в присутності 2 М розчину сірчаної кислоти з нагріванням отриманого кінцевого розчину на водяній бані при 70 °С протягом 30 хвилин. Вивчення параметрів лінійності методики (табл. 1) показали можливість її використання для кількісного визначення гідрокортизону бутирату в субстанції.

Результати дослідження лінійності методики кількісного визначення гідрокортизону бутирату за реакцією з розчинами заліза (III) хлориду та калію гексаціаноферату (III)

<i>Валідаційні характеристики</i>	<i>Отримане значення</i>
b	1,02 ($\Delta_b=0,02$)
a	3,64
Критерій статистичної незначущості a ($a \leq t(95\%, n-2) \times S_a$)	
3,64 \geq 1,85	
S_0	0,60
Вимоги до S_0 $S_0 \leq \frac{\Delta_{As}(\%)}{t(95\%, n-2)} = 1.55$	
r	0,9990
Критичне значення коефіцієнта кореляції (min r): $R_c \geq 0,9898$	

З метою перевірки можливості використання реакції для аналізу мазі з гідрокортизону бутиратом, прокаїну гідрохлоридом та нітрофуралом були виготовлені модельні суміші з нітрофуралом та прокаїну гідрохлоридом, до кожної з яких додавали 0,5 % розчин заліза (III) хлориду та 0,5 % розчин калію гексаціаноферату (III). Реакцію проводили в присутності 2 М розчину сірчаної кислоти з нагріванням отриманого кінцевого розчину на водяній бані при 70 °С протягом 30 хвилин. Дослідження спектру поглинання показали наявність максимуму при 456 нм та довели, що нітрофурал та прокаїну гідрохлорид заважають проведенню кількісного визначення гідрокортизону бутирату в мазі за даною методикою.

Після цього було вирішено спробувати використати реакцію гідрокортизону бутирату з фенілгіdraзином, яка і була в подальшому обрана для кількісного визначення речовини в досліджуваній мазі. Гідрокортизону бутират вступає в реакцію з фенілгіdraзином з утворенням фенілгіdraзону за рахунок наявності кето-групи у положенні 3. Виходячи із структури прокаїну гідрохлориду та нітрофуралу, вони не будуть вступати в дану реакцію. Для підвищення стабільності забарвлення аналітичного розчину до нього додавали кислоту оцтову льодяну. Спектр продукту реакції характеризується максимумом поглинання з $\lambda=412$ нм (рис. 5). Оскільки мазь виготовлена з використанням гідрокортизонової мазі 1 % промислового виробництва кількісний склад основи якої достовірно невідомий та зважаючи на забарвлення розчину, зумовлене наявністю в ньому нітрофуралу, при розробці методики було вирішено для досліджуваного та стандартного розчинів виготовити розчини порівняння без додавання фенілгіdraзину. За рахунок цього при проведенні кількісного визначення можна було враховувати лише забарвлення, обумовлене утворенням саме фенілгіdraзону гідрокортизону бутирату.

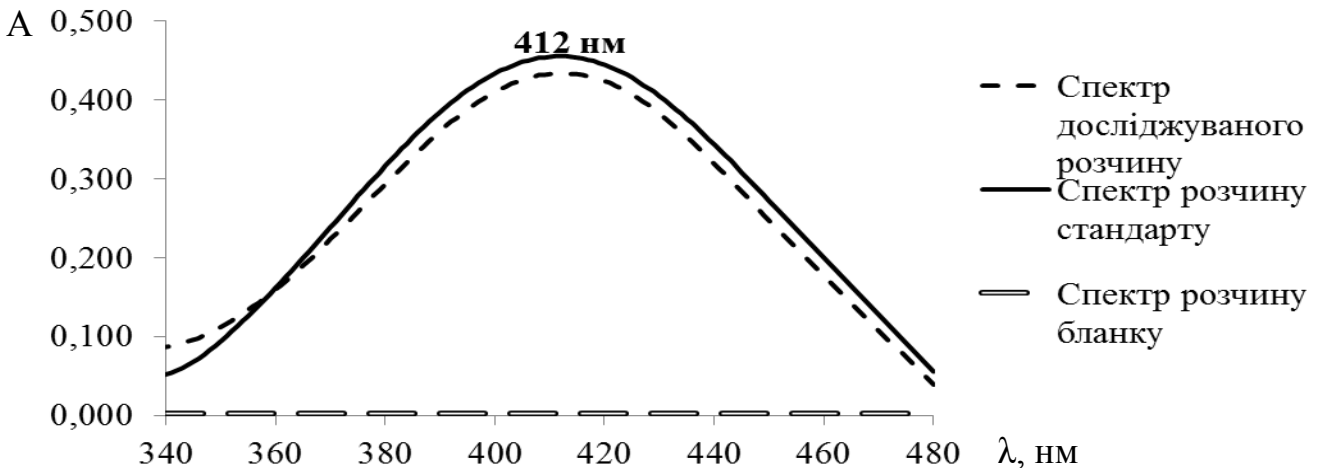


Рис. 5 Спектри поглинання розчину фенілгідрозону гідрокортизону бутирату, стандартного розчину та розчину blank

При проведенні вимірювань встановлено, що оптична густина продукту змінюється з часом, набуваючи максимального значення через 30 хвилин. Була розрахована відносна систематична похибка методики, обумовлена допоміжними речовинами: $\delta_{\text{noise}} = A_{\text{blank}}/A_{\text{st}} \times 100 = 0,41\%$. Отримане значення є незначущим в порівнянні з максимально допустимою відносною систематичною похибкою $0,41\% \leq \max \delta \leq 1,02\%$, що підтверджує специфічність методики.

При валідації методики були визначені параметри лінійності в діапазоні концентрацій 80-120% з кроком 5% (табл. 2).

Таблиця 2

Результати дослідження параметрів лінійної залежності методики кількісного визначення гідрокортизону бутирату методом абсорбційної спектрофотометрії у видимій області

Валідаційні характеристики	Отримане значення
b	1,01 ($\Delta_b = 0,01$)
a	0,16
Критерій статистичної незначущості a $0,16 \leq 1,37$	
S_0	0,44
Вимоги до залишкового стандартного відхилення $S_0 \leq \frac{\Delta_{As}(\%) }{t(95\%, n-2)} = 1,55$	
r	0,9995
Критичне значення коефіцієнта кореляції (min r): $R_c \geq 0,9898$	
$S_Y, \%$	13,16

Із отриманих даних видно, що кутовий коефіцієнт b близький до 1, виконуються вимоги до статистичної невизначеності вільного члена лінійної залежності a. Залишкове стандартне відхилення не перевищує довірчий інтервал, виконуються вимоги до коефіцієнта кореляції.

Оцінку правильності методики проводили за показником систематичної похибки δ (табл. 3). Критерій її статистичної невизначеності не виконується, але виконується критерій практичної невизначеності, що відповідає вимогам. Виконуються вимоги до прецизійності методики, оскільки Δ_Z значно менше Δ_{As} .

Таблиця 3

Результати дослідження прецизійності та правильності методики кількісного визначення гідрокортизону бутирату

<i>Валідаційна характеристика</i>	<i>Отримане значення</i>
\bar{Z}	100,99
S_Z	0,077
Δ_Z	0,13
Критерій одnobічного довірчого інтервалу $\Delta_Z \leq \Delta_{As}$ (0,13 ≤ 3,20)	
δ	0,99
Критерій статистичної невизначеності $\delta, \% \leq 0,025$	
Критерій практичної невизначеності $\delta, \% \leq 0,32 \times \Delta_{As} = 1,02$	

Кількісне визначення прокаїну гідрохлориду в мазі проводили за реакцією діазотування з наступним азосполученням після екстракції прокаїну гідрохлориду водою з основи мазі при нагріванні на водяній бані. До отриманого витягу з основи мазі додавали 0,001 М розчин натрію нітриту, 0,1 М розчин хлористоводневої кислоти та витримували 1 хв. Потім додавали 0,2 % розчин сульфамінової кислоти 1 % розчин β -нафтолу та 1 М розчин натрію гідроксиду.

Отриманий продукт характеризувався максимумом поглинання при 513 нм. Результати кількісного визначення прокаїну гідрохлориду в мазі (табл. 4) свідчать про відтворюваність методики та можливість її використання в аналізі.

Таблиця 4

Результати верифікації методики кількісного визначення прокаїну гідрохлориду

<i>Валідаційний параметр</i>	<i>Значення</i>
Середнє значення, Z, %	100,55
Відносне стандартне відхилення, $S_z\%$	0,45
Відносний довірчий інтервал, $\Delta_{as}\% = t(95, 8) \times S_z\%$	0,84
Критичне значення для прецизійності результатів, $\Delta_{as}\%$	3,20
Систематична похибка δ	0,55
Критерій статистичної невизначеності систематичної похибки, %	0,28
Критерій практичної невизначеності систематичної похибки, %	1,02

Для кількісного визначення нітрофуралу використовували метод абсорбційної спектрофотометрії у видимій області за реакцією з 1 М розчином натрію гідроксиду після виділення його з основи мазі, розчиненої в етері, за допомогою ізотонічного розчину натрію хлориду. Одержаний продукт має максимум поглинання при 440 нм.

Результати дослідження мікробіологічної чистоти мазі свідчать про її відповідність вимогам статті 5.1.4. “Мікробіологічна чистота нестерильних лікарських засобів та субстанцій для фармацевтичного застосування” ДФУ. В обох зразках мазі відсутні бактерії *Ps. aeruginosa* та *St. aureus*, кількість аеробних мікроорганізмів (ТАМС) та дріжджових і плісневих грибів (ТУМС) знаходиться у межах до 10 КУО/г.

Для оцінки впливу механічної обробки на структурно-механічні властивості мазі гідрокортизонової 1 % було здійснено визначення реологічних параметрів екстемпоральної мазі. Встановлено, що введення до складу мазі субстанцій нітрофуралу та прокаїну гідрохлориду зменшує її структурну в'язкість на 9,3 % при градієнті швидкості зсуву Dr $0,01 \text{ c}^{-1}$ та на 13,8 % при Dr 350 c^{-1} (табл. 5). Таке зниження структурної в'язкості не спричиняє істотного впливу на споживчі властивості мазі.

Таблиця 5

Показники структурної в'язкості досліджуваних мазей в залежності від градієнту швидкості зсуву ($n=5$)

Назва зразків	Структурна в'язкість (Па·с) мазей в залежності від градієнту швидкості зсуву Dr , c^{-1}							
	0,01	41,2	92,7	144	196	247	299	350
Nitrofurali 0,02 Procaini h/ch 0,1 Ung. Hydrocortisoni 1 % - 10,0	3210	8,25	4,37	3,22	2,50	2,11	1,79	1,50
Мазь гідрокортизонова 1 % промислового виробництва	3540	8,60	4,85	3,63	2,85	2,37	2,00	1,74

Крім цього, проведене дослідження змін реологічних параметрів мазі протягом місяця (на 10, 20 та 30 день зберігання). Отримані результати свідчать про відсутність негативних змін у структурно-механічних властивостях мазі, що доводить збереження її споживчих властивостей (рис. 7).

Проведене вивчення стабільності мазі протягом місяця. Отримані результати доводять відповідність вимогам ДФУ (відхилення у кількості активних інгредієнтів ± 10 %) показників кількісного вмісту гідрокортизону бутирату та прокаїну гідрохлориду протягом 30 днів, а нітрофуралу – протягом 20 днів. Таким чином, рекомендований термін зберігання мазі збільшений до 20 днів при температурі $5 \pm 3 \text{ }^{\circ}\text{C}$ та відносній вологості 60-65 %.

Розділ 4. Дослідження показників якості екстемпоральної мазі з тетрацикліну гідрохлоридом. На початку дослідження екстемпоральної мазі, виготовленої з використанням мазі тетрациклінової 3 % промислового виробництва були обрані специфічні реакції ідентифікації кожного компонента (тетрацикліну гідрохлориду, прокаїну гідрохлориду та сульфаніламиду).

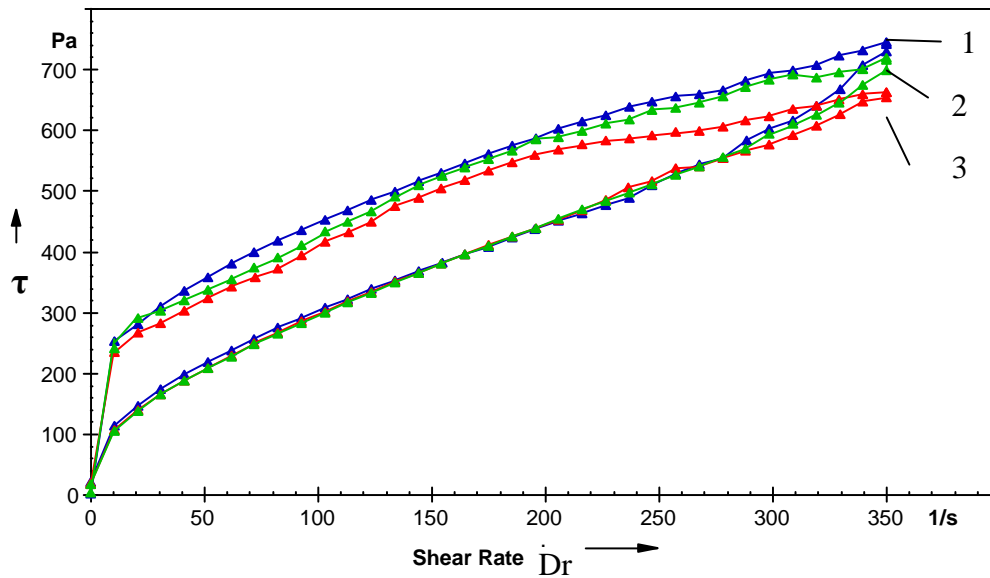


Рис. 7 Реограми плинущ мазі аптечного виготовлення протягом місяця: 1 – через 10 днів після приготування; 2 – через 20 днів після приготування; 3 – через 30 днів після приготування

Для розробки методики кількісного визначення тетрацикліну гідрохлориду в комбінованій мазі методом абсорбційної спектрофотометрії в УФ-області у присутності прокаїну гідрохлориду та сульфаніламідів вивчені його спектри у воді Р, етанолі Р, 0,1 М НСІ, 0,1 М NaOH, метанолі Р та фосфатному буферному розчині (рН=4,5). Експериментальним шляхом встановлено, що виділення тетрацикліну гідрохлориду з мазі краще проводити фосфатним буферним розчином (рН=4,5) після розчинення наважки мазі у гексані. Для аналізу мазі була використана концентрація тетрацикліну гідрохлориду $2,6 \times 10^{-5}$ г/мл.

Специфічність методики підтверджена аналізом спектрів поглинання компонентів мазі в суміші та окремо кожного з них у фосфатному буферному розчині з рН 4,5 (рис. 8).

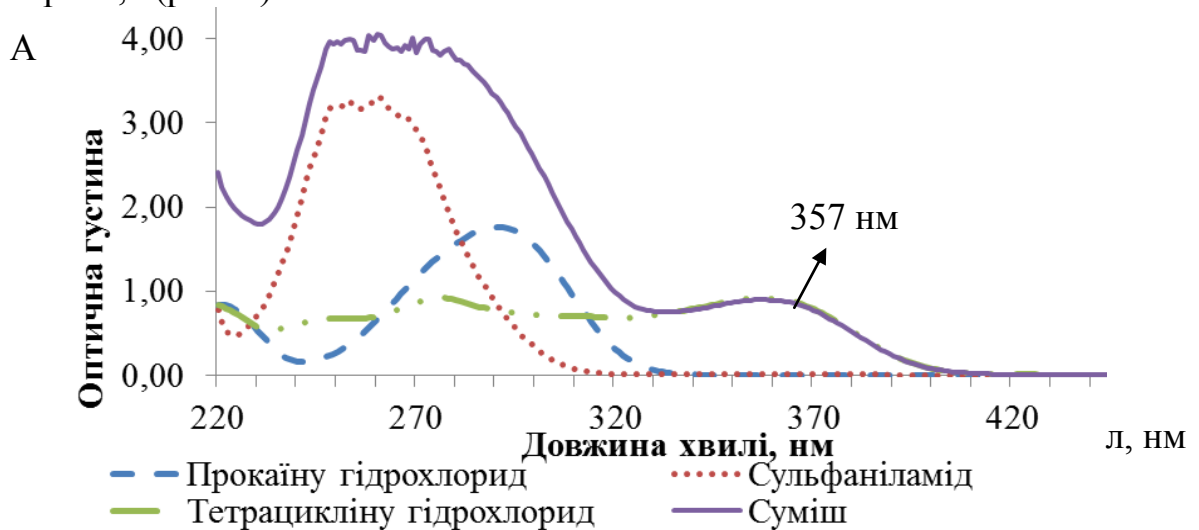


Рис. 8 Спектри поглинання розчинів сульфаніламідів ($4,8 \times 10^{-5}$ г/мл), прокаїну гідрохлориду ($2,4 \times 10^{-5}$ г/мл), тетрацикліну гідрохлориду ($2,4 \times 10^{-5}$ г/мл) та їх суміші в фосфатному буферному розчині з рН 4,5

Статистична обробка результатів кількісного визначення тетрацикліну гідрохлориду у комбінованій мазі методом прямої спектрофотометрії свідчить про можливість її використання у аналізі (відносна похибка методики склала 0,81 %). Вивчені валідаційні параметри методики за результатами, одержаними після аналізу мазі у двох лабораторіях (табл. 6).

Таблиця 6

Параметри лінійності, правильності та прецизійності досліджуваної методики

Валідаційний параметр	Значення	
	Лаб. №1	Лаб. №2
<i>Лінійність</i>		
Кутовий коефіцієнт лінійної залежності, b	0,99 ($\Delta_b=0,03$)	0,99 ($\Delta_b=0,01$)
Вільний член лінійної залежності, a	0,017	0,16
Критерій для a	$\leq 3,40$	$\leq 1,19$
S_a	1,44	0,5012
Коефіцієнт кореляції методики	0,9993	0,9999
Критерій лінійного коефіцієнту кореляції, R_c	$\geq 0,9924$	
Залишкове стандартне відхилення, S_o	0,55	0,19
Критерій залишкового стандартного відхилення	$\leq 1,67$	
Стандартне відхилення, s_y	13,69	13,69
<i>Правильність і прецизійність</i>		
Середнє значення, $Z, \%$	99,19	99,25
Відносне стандартне відхилення, $S_z, \%$	0,51	0,18
Відносний довірчий інтервал, $\Delta_z, \%$	0,94	0,34
Критичне значення для збіжності результатів, $\Delta_{as}, \%$	3,20	
Систематична похибка, δ	0,81	0,75
Критерій статистичної невизначеності систематичної похибки, $\delta, \%$	0,31	0,11
Критерій практичної невизначеності систематичної похибки, $\delta, \%$	1,02	

Дані табл. 6 свідчать, що вимоги до параметрів лінійної залежності виконуються для результатів, отриманих в обох лабораторіях. Систематична похибка перевищує критерій статистичної невизначеності, але при цьому виконуються вимоги до її практичної невизначеності. Результати вивчення прецизійності, отримані в обох лабораторіях задовольняють вимогам. Вони характеризуються досить низьким значенням відносного стандартного відхилення, величина довірчого інтервалу не перевищує максимально припустиму невизначеність.

Отримані дані вивчення відтворюваності методики свідчать про те, що вона може бути коректно відтворена в інших лабораторіях. Виконуються вимоги до величини відносного довірчого інтервалу: $\Delta_{x,r}, \% = 0,67 \leq 3,20$ та міжлабораторної систематичної похибки (табл. 7).

**Результати вивчення відтворюваності спектрофотометричної методики
кількісного визначення тетрацикліну гідрохлориду**

<i>№ модельного розчину</i>	<i>Лаб.№1</i>	<i>Лаб.№2</i>
Середнє значення, Z_i , %	99,19	99,25
Об'єднане середнє значення, Z_{intra} , %	99,22	
Відносне стандартне відхилення, S_{intra} , %	0,51	0,18
Об'єднане відносне стандартне відхилення, SD_{intra} , %	0,38	
Міжлабораторна систематична похибка, δ , %	0,78	
Довірчий інтервал одиничного значення $\Delta_{x,r}$, %	$\pm 0,67$	
Довірчий інтервал середнього значення $\Delta_{x,r}$, %	$\pm 0,31$	

Дослідження можливостей розділення прокаїну гідрохлориду та сульфаніламідів в процесі аналізу не дало позитивних результатів. Тому для кількісного визначення прокаїну гідрохлориду була розроблена методика визначення методом екстракційної фотометрії.

В якості можливих реагентів для утворення забарвлених комплексів були розглянуті декілька індикаторів: метиловий оранжевий, метиловий червоний та тропеолін 00. Найкращі результати були отримані при використанні метилового оранжевого. Розроблений метод базується на утворенні асоціату прокаїну гідрохлориду з метиловим оранжевим з його подальшою екстракцією. В процесі вивчення різних підходів до пробопідготовки було встановлено, що найкращим екстрагентом для отриманого асоціату є хлороформ. Для відпрацювання методики був приготовлений розчин субстанції прокаїну гідрохлориду в концентрації 0,5 мг/мл, до якого додавали 9 % розчин натрію гідрокарбонату та розчин метилового оранжевого. Отриманий асоціат жовтого кольору екстрагували хлороформом (максимум поглинання 421 нм). Оскільки розчин тетрацикліну гідрохлориду також забарвлений у жовтий колір і поглинає світло у видимій області, було вирішено змінити колір отриманого асоціату шляхом додавання спиртового розчину сірчаної кислоти. За рахунок цього колір розчину змінився з жовтого на рожевий, а максимум поглинання змістився до довжини хвилі 522 нм, яка може бути використана для кількісного визначення прокаїну гідрохлориду.

Для виключення можливості впливу інших компонентів на точність проведення кількісного визначення прокаїну гідрохлориду, був вивчений характер спектрів інших двох компонентів мазі (рис. 9).

Одержане значення відносної похибки методики при статистичному аналізі результатів ($\delta=1,10$ %) свідчить про можливість її використання в аналізі. Вивчені параметри лінійності методики. Кутовий коефіцієнт лінійної залежності ($b=0,99$) незначно відрізняється від одиниці, виконуються вимоги до вільного члену лінійної залежності ($a=0,18 \leq 1,63$), залишкового стандартного відхилення ($S_0=0,55 \leq 1,69$) та до параметрів правильності і прецизійності ($\Delta_x, \% = 0,94 \leq 3,20$; $\delta = 0,81 \leq 1,02$).

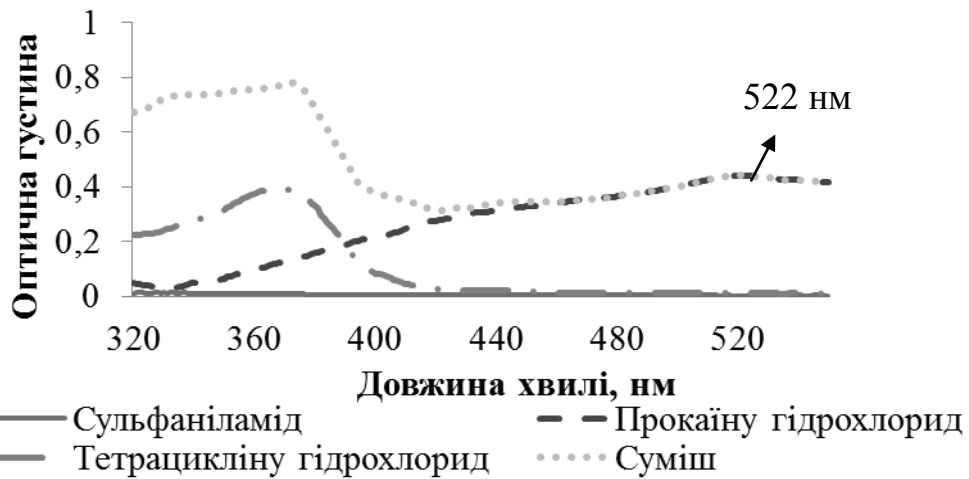


Рис. 9 Абсорбційні спектри поглинання розчинів сульфаніламід (2×10^{-4}), прокаїну гідрохлориду (1×10^{-4}), тетрацикліну гідрохлориду (1×10^{-4}) та їх суміші в інтервалі 320–550 нм

Для кількісного визначення сульфаніламід застосована методика “Визначення амінного азоту у сполуках, що містять первинну ароматичну аміногрупу” за ДФУ. Для проведення аналізу наважку мазі розчиняли в гексані, додавали воду, кислоту хлористоводневу розведену та калію бромід. В процесі аналізу визначали суму прокаїну гідрохлориду та сульфаніламід, вміст сульфаніламід розраховували з врахуванням кількості 0,1 М розчину натрію нітриту, витраченого на титрування прокаїну гідрохлориду. Вивчені метрологічні характеристики методики. Отримане значення відносної похибки аналізу (1,39 %) дозволяє рекомендувати її використання для визначення кількісного вмісту сульфаніламід в досліджуваній мазі.

Після цього обраними методами проводили аналіз мікробіологічної чистоти мазі відразу після приготування, а також через 30, 60, 90, 120, 150 і 180 днів зберігання при температурі 5 ± 3 °C (табл. 8). Отримані результати свідчать про те, що як свіжовиготовлені, так і протягом всього періоду зберігання 180 діб в умовах холодильника (5 ± 3 °C) зразки мазі для місцевого застосування відповідають вимогам ДФУ за показником «мікробіологічна чистота».

Таблиця 8

Результати дослідження зразків мазей за показником «мікробіологічна чистота» (n=1)

Метод двошарового висівання		Мікроорганізми	
Кількість КУО/г		<i>St. aureus</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>
ТАМС	ТУМС		
Свіжовиготовлений зразок			
до 10	до 10	-	-
Зберігання 30 діб			
10	до 10	-	-
Зберігання 60 діб			
20	до 10	-	-
Зберігання 90 діб			

20	до 10	-	-
Зберігання 120 діб			
40	до 10	-	-
Зберігання 150 діб			
40	до 10	-	-
Зберігання 180 діб			
40	до 10	-	-

Для оцінки ступеня зміни споживчих властивостей мазі протягом місяця були вивчені її реологічні параметри на 10, 20 та 30 день зберігання при температурі 5 ± 3 °С (рис. 10). Отримані реограми свідчать про близькість структурно-механічних властивостей всіх зразків мазі.

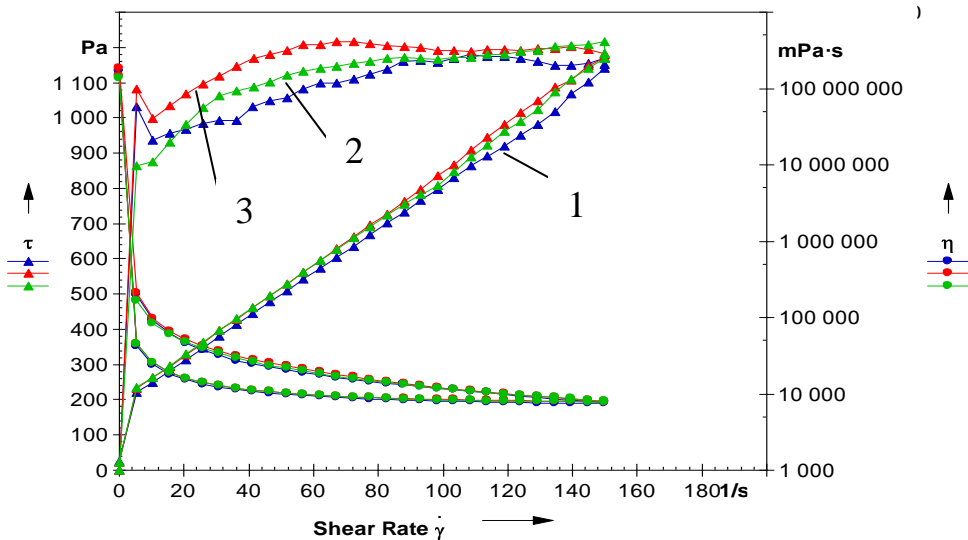


Рис. 10. Реограми плинуну мазі з тетрацикліном: 1 – через 10 днів після приготування; 2 – через 20 днів після приготування; 3 – через 30 днів після приготування

Проведене вивчення стабільності мазі двома способами (довгострокові випробування стабільності при температурі 5 ± 3 °С та відносній вологості 60-65 %; прискорені випробування стабільності при температурі 25-27 °С та відносній вологості 60-65 %).

Отримані дані випробувань стабільності (табл. 9) свідчать, що кількісний вміст компонентів залишається стабільним протягом 30 днів при проведенні досліджень обома методами. Таким чином, визначений попередній термін зберігання мазі – 30 днів.

Таблиця 9

Результати дослідження стабільності мазі (n=3)

Назва субстанції	Фактичний вміст	10 днів зберігання		20 днів зберігання		30 днів зберігання	
		Знай-дено, г	Відхи-лення, %	Знай-дено, г	Відхи-лення, %	Знай-дено, г	Відхи-лення, %
<u>Довгострокові випробування стабільності</u>							
Тетрацикліну гідрохлорид	0,43	0,43	-	0,43	-	0,43	-

Прокаїну гідрохлорид	0,50	0,50	-	0,49	2,00	0,49	2,00
Сульфаніламід	1,00	0,99	1,00	0,99	1,00	0,99	1,00
<u>Прискорені випробування стабільності</u>							
Тетрацикліну гідрохлорид	0,40	0,39	2,50	0,39	2,50	0,38	5,00
Прокаїну гідрохлорид	0,51	0,51	-	0,50	1,96	0,50	1,96
Сульфаніламід	1,01	1,01	-	1,00	1,00	0,99	1,98

ВИСНОВКИ

В дисертаційній роботі здійснена розробка та валідація методик кількісного визначення активних інгредієнтів комбінованих мазей аптечного виготовлення (гідрокортизону бутирату, тетрацикліну гідрохлориду, прокаїну гідрохлориду), а також вивчення мікробіологічної чистоти мазей, їх хімічної стабільності та оцінка ступеня зміни реологічних параметрів в процесі зберігання.

1. Аналіз асортименту екстемпоральних мазей в аптеках ряду областей України показав, що часто їх виготовлення проводять на основі препаратів промислового виробництва, зокрема мазі тетрациклінової та гідрокортизонової.

2. В процесі дослідження комбінованої мазі з гідрокортизоном рекомендована схема екстракції гідрокортизону бутирату, прокаїну гідрохлориду та нітрофуралу з мажевої основи з наступним вибором оптимальних методик якісного аналізу компонентів. Верифіковані методики кількісного визначення прокаїну гідрохлориду та нітрофуралу в мазі (методом абсорбційної спектрофотометрії у видимій області спектру).

3. Розроблена та валідована методика кількісного визначення гідрокортизону бутирату в мазі у присутності прокаїну гідрохлориду та нітрофуралу методом абсорбційної спектрофотометрії у видимій області за реакцією з фенілгідразинном. Отримані валідаційні характеристики свідчать про можливість використання методики в аналізі в умовах аптеки. Систематична похибка методики склала 0,99 % ($0,99 \leq 1,02$), залишкове стандартне відхилення ($0,44 \leq 1,55$), коефіцієнт кореляції r ($0,9995 \geq 0,9898$). Отримане середнє значення вмісту гідрокортизону бутирату (100,82 %) свідчить про відтворюваність методики.

4. Підбрано оптимальну схему екстракції тетрацикліну гідрохлориду, прокаїну гідрохлориду та сульфаніламіду в іншій комбінованій мазі, виготовленій з використанням мазі тетрациклінової. Обрано реакції ідентифікації компонентів та верифікована методика кількісного визначення сульфаніламіду (методом “Визначення амінного азоту у сполуках, що містять первинну ароматичну аміногрупу”).

5. Розроблена та валідована методика кількісного визначення тетрацикліну гідрохлориду методом абсорбційної спектрофотометрії в УФ області після його екстракції з мазі фосфатним буферним розчином (рН 4,5). Отримані валідаційні характеристики методики свідчать про можливість її

використання для аналізу мазі в умовах аптеки: об'єднане середнє значення ($Z_{\text{intra}}, \%=99,22$), об'єднане відносне стандартне відхилення ($SD_{\text{intra}}, \%=0,38$), величина довірчого інтервалу одиничного значення ($\Delta_{x,r}, \%=0,67 \leq 3,20$), міжлабораторна систематична похибка ($\delta=0,78 < 1,02$).

6. Розроблена методика кількісного визначення прокаїну гідрохлориду в мазі, виготовленій з використанням мазі тетрациклінової промислового виробництва методом екстракційної спектрофотометрії за утворенням асоціату з метиловим оранжевим у присутності спиртового розчину сірчаної кислоти. Значення систематичної похибки методики відповідає вимогам ($\delta=0,54 < 1,02$), відносний довірчий інтервал ($\Delta_z=0,51 \leq 3,20$).

7. Проведена оцінка мікробіологічної чистоти комбінованих мазей (протягом місяця для мазі, виготовленої на основі мазі гідрокортизонової 1 % та протягом 6 місяців для мазі, виготовленої на основі мазі тетрациклінової 3 %) та ступеня збереження їх структурно-механічних властивостей протягом 30 днів. Доведено відповідність отриманих результатів встановленим параметрам.

8. За розробленими методиками проведена оцінка хімічної стабільності мазей протягом місяця. Встановлено, що кількісний вміст гідрокортизону бутирату та прокаїну гідрохлориду залишається стабільним протягом 30 днів, а нітрофуралу – 20 днів. Таким чином, встановлений рекомендований термін зберігання мазі, виготовленої з використанням мазі гідрокортизонової 1 % – 20 днів при температурі 5 ± 3 °С. Кількісний вміст діючих компонентів іншої комбінованої мазі залишається стабільним протягом 30 днів, що свідчить про можливість встановлення рекомендованого попереднього терміну придатності мазі – 30 днів при температурі 5 ± 3 °С.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Визначення ступеня зміни реологічних параметрів екстемпоральної мазі з гідрокортизону бутиратом у процесі зберігання / Л. П. Савченко, В. О. Вракін, Г. П. Кухтенко, В. А. Георгіянц. *Фармацевтичний часопис*. 2014. № 1. С. 85-88 (*Особистий внесок – брав участь в узагальненні і обробці результатів та підготовці статті*).

2. Дослідження реологічних властивостей комбінованої екстемпоральної мазі з гідрокортизону бутиратом / Л. П. Савченко, В. О. Вракін, Г. П. Кухтенко, В. А. Георгіянц. *Фармацевтичний журнал*. 2014. № 1. С. 44-48 (*Особистий внесок – брав участь в узагальненні і обробці результатів та підготовці статті*).

3. Вракін В. О., Савченко Л. П., Георгіянц В. А. Вибір методик ідентифікації компонентів екстемпоральної мазі. *Зб. наук. праць співробіт. НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2015. Вип. 24, кн. 5. С. 300-305 (*Особистий внесок – брав участь в плануванні та проведенні експерименту, узагальненні результатів та підготовці статті*).

4. Development and validation of tetracycline hydrochloride assay procedure by spectrophotometry in compounded ointment / I. Bezruk, V. Vraikin, L. Savchenko, A. Materiienko, V. Georgiyants. *Scripta Scientifica Pharmaceutica*. 2017. Vol. 4, № 1. P. 33-

38 (Особистий внесок – брав участь в узагальненні і обробці результатів та підготовці статті).

5. Розробка методик кількісного визначення прокаїну гідрохлориду та сульфаніламід у складі багатокомпонентної екстемпоральної мазі / І. В. Безрук, В. О. Вракін, Л. П. Савченко, А. С. Матерієнко., В. А. Георгіянц. *Scientific Journal «Science Rise: Pharmaceutical Science»*. 2017. Т. 7, № 3. С. 43-47 (Особистий внесок – брав участь в узагальненні і обробці результатів та підготовці статті).

6. Савченко Л. П., Вракін В. О., Георгіянц В. А. Контроль якості комбінованих мазей аптечного виготовлення. *Актуальні питання створення нових лікарських засобів*: мат. Всеукраїнської науково-практичної конференції студентів та молодих вчених, Харків, 19-20 квітня 2012 р. Харків, Вид-во НФаУ, 2012. С. 158.

7. Порівняння фармакопейних підходів до контролю якості мазей аптечного виготовлення / Л. П. Савченко, В. А. Георгіянц, К. А. Умінська, В. О. Вракін. *Управління якістю в фармацевтиці*: мат. VI науково-практичної конференції з міжнародною участю, Харків, 17 квітня 2013 р. Харків, Вид-во НФаУ, 2013. С. 114.

8. Савченко Л. П., Вракін В. А., Георгіянц В. А. Разработка методики качественного анализа гидрокортизона бутирата в составе комбинированной экстемпоральной мази. *Здоров'я людини у сучасному світі: питання медичної науки та практики*: мат. науково-практичної конференції, Одеса, 20-21 червня 2014 р. Одеса, ГО «Південна фундація медицини», 2014. С. 9-11.

9. Сучасні підходи до контролю якості м'яких лікарських форм аптечного виготовлення / Л. П. Савченко, К. А. Умінська, В. О. Вракін, В. А. Георгіянц. *Аналітична хімія у фармацевтиці*: мат. міжнародної науково-практичної конференції, Харків, 19-20 березня 2015 р. Харків, 2015. С. 73-75.

10. Savchenko L., Vraikin V., Georgiyants V. Development of the hydrocortisone butyrate qualitative determination method. *44-th Conference Drug Synthesis and Analysis*, Brno, Czech Republic, 2-4 Sept. 2015. Ces. slov. Farm., Issue 6, 2015. P. 275.

11. Вракін В. О., Савченко Л. П., Георгіянц В. А. Розробка методики кількісного визначення гідрокортизону бутирату в екстемпоральній мазі з новокаїном та фурациліном. *Аналітична хімія у фармацевтиці*: мат. II Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, Харків, 17 березня 2016 р. Харків, 2016. С. 92-93.

12. Контроль мікробіологічної чистоти мазей аптечного виготовлення як гарантія їх безпеки та якості / Л. П. Савченко, К. А. Умінська, В. О. Вракін, В. А. Георгіянц, О. П. Стрілець *Фармацевтична наука та практика*: проблеми, досягнення, перспективи розвитку: мат. I науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю, Харків, 24-25 березня 2016 р. Харків, 2016. С. 169-170.

13. Vraikin V. O., Savchenko L. P., Georgiyants V. A. Development of method for nitrofuril quantitative determination in compounding ointment. *Topical issues of new drugs development: Abstracts of XXIII International Scientific And Practical Conference Of Young Scientists And Student*, Kharkiv, 21 April 2016. In 2 vol., Vol. 1, Kharkiv, Publishing Office NUPh, 2016. P. 223.

14. Розробка спектрофотометричної методики кількісного визначення тетрацикліну у складі екстемпоральної мазі / І. В. Безрук, В. О. Вракін, А. С. Матерієнко, В. А. Георгіянц. *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи*: мат.

VIII Національного з'їзду фармацевтів України, Харків, 13-16 вересня 2016 р. У 2 т., Т. 1., Харків, Вид-во НФаУ, 2016. С. 166.

15. Екстемпоральні мазі: аналіз якості за сучасними вимогами / Л. П. Савченко, К. А. Умінська, В. О. Вракін, В. А. Георгіянц *Фармація ХХІ століття: тенденції та перспективи*: мат. VIII Національного з'їзду фармацевтів України, Харків, 13-16 вересня 2016 р. У 2 т., Т. 1., Харків, Вид-во НФаУ, 2016. С. 210.

16. Разработка спектрофотометрической методики количественного определения тетрациклина гидрохлорида в экстемпоральной мази / И. В. Безрук, В. А. Вракин, А. С. Материенко, В. А. Георгианц. *Студенческая медицинская наука ХХІ века и I Форума молодежи научных обществ*: мат. XVI-й международной конференции студентов и молодых ученых и I Форума молодежи научных обществ, Витебск, 2-3 ноября 2016 г. Витебск, ВГМУ, 2016. С. 573-574.

17. Development of the analytical methods for sulfanilamide as part of extemporaneous ointment / H. Balogun, I. V. Bezruk, V. O. Vraikin, A. S. Materiienko, L. O. Petrushova, V. A. Georgiyants. *Topical issues of new drugs development: Abstracts of XXIV International Scientific and Practical Conference Of Young Scientists And Student*, Kharkiv, 20 April 2017. In 2 vol., Vol. 1., Kharkiv, Publishing Office NUPh, 2017. P. 153.

18. Development of quantification methods for procaine hydrochloride in combine extemporaneous ointment / O. J. Okoye, I. V. Bezruk, V. O. Vraikin, A. S. Materiienko, L. O. Petrushova, V. A. Georgiyants. *Topical issues of new drugs development: Abstracts of XXIV International Scientific And Practical Conference Of Young Scientists And Student*, Kharkiv, 20 April 2017. In 2 vol., Vol. 1., Kharkiv, Publishing Office NUPh, 2017. P. 189-190.

19. Безрук І. В., Матерієнко А. С., Вракін В. О. Валідація спектрофотометричної методики визначення тетрацикліну гідрохлориду в складі екстемпоральної мазі. *Хист, Всеукраїнський журнал молодих вчених*: мат. IV міжнародного медико-фармацевтичного конгресу студентів і молодих вчених, Випуск 19. Чернівці, 5-7 квітня. Чернівці, БДМУ, 2017. С. 493.

20. Stability evaluation of extemporal ointment / I. V. Bezruk, R. M. N. Rihah, V. O. Vraikin, L. P. Savchenko, A. S. Materiienko, V. A. Georgiyants. *Сучасний вимір медичної науки та практики*: збірник мат. міжнародної науково-практичної конференції, Дніпро, 12-13 травня 2017 р. Дніпро, Організація наукових медичних досліджень «Salutem», 2017. С. 97-99.

21. Development of the quality control methods for analysis of combined extemporaneous ointment / I. V. Bezruk, V. O. Vraikin, L. P. Savchenko, A. S. Materiienko, V. A. Georgiyants. *Управління якістю в фармації*: мат. XI науково-практичної конференції, Харків, 19 травня 2017 р. Харків, Вид-во НФаУ, 2017. С. 8-9.

АНОТАЦІЯ

Вракін В.О. Розробка та валідація методик контролю якості комбінованих мазей з тетрацикліном та гідрокортизоном. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 «Фармацевтична хімія та фармакогнозія». – Національний фармацевтичний університет, МОЗ України, Харків, 2017.

Дисертація присвячена розробці та валідації методик кількісного визначення активних інгредієнтів комбінованих екстемпоральних мазей, виготовлених з використанням мазі гідрокортизонової 1 % та мазі тетрациклінової 3 % промислового виробництва.

В дисертаційній роботі вперше розроблені та валідовані методики кількісного визначення гідрокортизону бутирату, тетрацикліну гідрохлориду, прокаїну гідрохлориду. Верифіковані методики кількісного визначення прокаїну гідрохлориду, сульфаніламідру та нітрофуралу. Вперше проведені оцінка мікробіологічної чистоти досліджуваних мазей та вивчення їх реологічних параметрів. Оцінений вплив механічної обробки мазей в процесі приготування на збереження стабільності їх структурно-механічних властивостей. Шляхом вивчення реологічних параметрів мазей доведено збереження їх споживчих властивостей в процесі зберігання. З використанням розроблених та верифікованих методик кількісного визначення компонентів оцінена хімічна стабільність досліджуваних мазей та визначені рекомендовані терміни зберігання.

Ключові слова: екстемпоральна рецептура, м'які лікарські форми, контроль якості, гідрокортизону бутират, тетрацикліну гідрохлорид.

АННОТАЦІЯ

Вракин В.А. Разработка и валидация методик контроля качества комбинированных мазей, которые содержат тетрациклин и гидрокортизон. – Квалификационный научный труд на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 15.00.02 «Фармацевтическая химия и фармакогнозия». – Национальный фармацевтический университет, МЗ Украины, Харьков, 2017.

Диссертация посвящена разработке и валидации методик количественного определения активных ингредиентов комбинированных экстемпоральных мазей, приготовленных с использованием мази гидрокортизоновой 1 % и мази тетрациклиновой 3 % промышленного производства.

В процессе анализа комбинированной мази с гидрокортизоном была проведена разработка методики его количественного определения. Для этого проанализированы несколько способов выделения гидрокортизона бутирата из мази: с помощью этанола 96 % (по рекомендации Фармакопеи Японии), по методике на неомыляемые вещества и с помощью этилацетата с последующим определением по реакции с кислотой серной. Но полученные результаты проведения анализа с использованием данных подходов к экстракции показали невозможность их использования в количественном определении гидрокортизона бутирата. После этого было решено использовать возможность образования окрашенных продуктов после взаимодействия гидрокортизона бутирата с растворами железа (III) хлорида и калия гексацианоферрата (III). Данная методика показала хорошие результаты линейности при определении количественного содержания гидрокортизона бутирата в субстанции, но при исследовании специфичности методики от нее

пришлось отказаться. Разработку методики количественного определения гидрокортизона бутирата проводили по его реакции с фенилгидразином за счет наличия в молекуле гидрокортизона бутирата кето-группы в положении 3. Полученные результаты валидации методики позволяют рекомендовать ее для анализа исследуемой мази. Количественное определение прокаина гидрохлорида в исследуемой экстемпоральной мази проводили методом абсорбционной спектрофотометрии в видимой области по образованию азокрасителя (максимум поглощения 513 нм). Нитрофурал определяли методом абсорбционной спектрофотометрии в видимой области (максимум поглощения 440 нм). Доказана возможность использования методик в анализе комбинированной мази.

Определена микробиологическая чистота мази на протяжении месяца. Доказано соответствие требованиям статьи 5.1.4. “Микробиологическая чистота нестерильных лекарственных средств и субстанций для фармацевтического применения” ГФУ. Кроме этого, изучены реологические показатели мази. Доказано, что добавление субстанций прокаина гидрохлорида и нитрофурала оказывает незначительное влияние на структурно-механические свойства мази, которые сохраняют свою устойчивость в течении месяца. По результатам изучения химической стабильности мази установлен рекомендуемый срок ее годности на протяжении двадцати дней при хранении при температуре 5 ± 3 °С.

В процессе анализа комбинированной экстемпоральной мази, приготовленной с использованием мази тетрациклиновой 3 % промышленного производства осуществлена разработка методики количественного определения тетрациклина гидрохлорида после его выделения фосфатным буферным раствором. Изучены валидационные параметры методики по результатам исследований, полученным в двух лабораториях. Результаты изучения линейности, правильности, прецизионности и воспроизводимости методики свидетельствуют о возможности ее использования в анализе мази.

Для количественного определения прокаина гидрохлорида был разработан метод спектрофотометрии. При его разработке изучена возможность образования окрашенных комплексов прокаина гидрохлорида с метиловым красным, тропеолином 00 и метиловым оранжевым. Наилучшие результаты были получены при использовании метилового оранжевого. Образующийся комплекс рекомендовано извлекать хлороформом. Поскольку присутствие тетрациклина гидрохлорида обуславливает окрашивание исследуемого раствора в желтый цвет, решено было проводить определение в присутствии спиртового раствора серной кислоты. Ее добавление позволяет изменить окраску на розовую и перенести максимум поглощения до 522 нм. Результаты статистической обработки и валидации полученных результатов свидетельствуют о возможности использования методики для количественного определения прокаина гидрохлорида в исследуемой мази. Количественное определение сульфаниламида предложено проводить методом “Определение аминного азота в соединениях, которые содержат первичную ароматическую аминогруппу” с учетом объема титранта (натрия нитрита), израсходованного на титрование прокаина гидрохлорида.

Изучена микробиологическая чистота мази на протяжении шести месяцев. Общее число жизнеспособных аэробных микроорганизмов (ТАМС) на

протяжении 180 дней хранения составило 40 КОЕ/г, общее число жизнеспособных дрожжевых и плесневых грибов (ТУМС) составило до 10 КОЕ/г. По результатам изучения реологических параметров установлено сохранение потребительских свойств мази на протяжении месяца. Изучена химическая стабильности мази методами долгосрочных и ускоренных испытаний стабильности. Доказано сохранение количественного содержания действующих компонентов мази и установлен предварительный срок годности мази – 30 дней при температуре 5 ± 3 °C

Ключевые слова: экстемпоральная рецептура, мягкие лекарственные формы, контроль качества, гидрокортизона бутират, тетрациклина гидрохлорид.

SUMMARY

Vrakin V. O. Development and validation of quality control methods for combined ointments with tetracycline and hydrocortisone. – Qualification scientific work with the manuscript copyright.

The thesis for a candidate degree in pharmaceutical science in speciality 15.00.02 «Pharmaceutical chemistry and pharmacognosy». – National University of Pharmacy, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2017.

The dissertation is devoted to the development and validation of quantitative determination methods of combined extemporal ointments active ingredients, made with using of hydrocortisone 1% ointment and tetracycline 3% ointment industrial production.

In the dissertation work methods of hydrocortisone butyrate, tetracycline hydrochloride, procaine hydrochloride quantitative determination developed and validated for the first time. Methods for procaine hydrochloride, sulfanilamide and nitrofurural quantitative determination were verifying. An estimation of microbiological purity of the studied ointments and studying of their rheological parameters has conducted for the first time. The influence of ointments mechanical processing during the process of preparation on the stability of their structural and mechanical properties has estimated. The preservation of their consumer properties in the process of storage has been prove by studying the rheological parameters of the ointments. Using the developed and verified methods of the components quantitative determination, the chemical stability of the studied ointments has evaluated and the recommended storage periods have determined.

Key words: compounding preparations, semisolid dosage forms, quality control, hydrocortisone butyrate, tetracycline hydrochloride.