

УДК 615.072

<https://www.doi.org/310.34907/JPQAI.2020.63.56.003>

## КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА «МЕТРОКЕТОКОНАЗОЛЬ»

**А.И. Замараева**, аспирант кафедры химии ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Тюмень, [anyuta.zamaraeva@yandex.ru](mailto:anyuta.zamaraeva@yandex.ru)

**Н.С. Бессонова**, канд. биол. наук, доцент кафедры химии ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Тюмень, [bessonov21@mail.ru](mailto:bessonov21@mail.ru)

**Т.А. Кобелева**, доктор фарм. наук, профессор, заведующий кафедрой химии ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Тюмень, [kobeleva57@yandex.ru](mailto:kobeleva57@yandex.ru), [kobeleva@tyumsmu.ru](mailto:kobeleva@tyumsmu.ru)

**А.И. Сичко**, доктор фарм. наук, профессор кафедры химии ФГБОУ ВО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Тюмень, [sichko@tyumsmu.ru](mailto:sichko@tyumsmu.ru)

Приведены результаты опытов по анализу метронидазола и кетоконазола в новом лекарственном препарате «Метрокетоконазол», изготовленного на титансодержащей основе (гель «Тизоль»). Представлены ультрафиолетовые спектры поглощения этанольных растворов ингредиентов мази. Установлено, что для количественного определения необходимо использовать длины волн 241 нм и 312 нм. Выбраны оптимальные условия и разработан способ анализа соединений в модельной смеси с относительной погрешностью  $\pm 1,47-1,73\%$ . Предложена методика количественного спектрофотометрического определения метронидазола и кетоконазола в исследуемой мягкой лекарственной форме с ошибкой, не превышающей пределов допустимых норм и отклонений.

**Ключевые слова:** кетоконазол, метронидазол, гель «Тизоль», количественный анализ, спектрофотометрия

В настоящее время увеличивается потребность в экстемпоральных мазях в связи с ростом номенклатуры готовых лекарственных средств и развитием заводской фармации [1,8]. Кроме

того, в практике появились новые мазевые малотоксичные основы, обладающие фармакологическими свойствами. К таким основам относится титансодержащий гель «Тизоль». Нами предложена мягкая лекарственная форма, состоящая из 0,1 г метронидазола, 0,1 г кетоконазола и 9,8 г геля «Тизоль», условно названная «Метрокетоконазол». Данный препарат может найти применение как перспективное химиотерапевтическое и противогрибковое средство [6,7]. За счет наличия геля «Тизоль» мазь будет обладать еще и противовоспалительным, местным анальгезирующим, антисептическим и противозудным действием [3,5]. Гель, имеющий отличную внутритканевую проводимость, будет доводить метронидазол и кетоконазол до очага поражения. Поэтому мазь «Метрокетоконазол» представляет интерес для врачей и пациентов. Внедрение новых препаратов в медицинскую практику обязательно должно сопровождаться разработкой способов анализа, позволяющих устанавливать качество их изготовления.

**Целью** исследования является разработка способа количественного определения метронидазола и кетоконазола в мягкой лекарственной форме на титансодержащей основе.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали субстанции метронидазола (Китай, ФС-000349, 2012 г.), кетоконазола (Индия, ФС-000507, 2013 г.), которые по качеству соответствуют нормативной документации. В качестве мазевой основы применяли гель «Тизоль», выпускаемый ООО «Олимп» (ФСП 42-3157-06, г. Екатеринбург). Объект исследования – мягкая лекарственная форма «Метрокетоконазол», содержащая по 1,0% метронидазола и кетоконазола в геле «Тизоль». Экспериментальную работу осуществляли востребованным в фармацевтическом анализе методом спектрофотометрии [2,4] с помощью спектрофотометра отечественного производства СФ-2000 (ООО «ОКБ Спектр», г. Санкт-Петербург) в кварцевых кюветах.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как показали экспериментальные данные, этанольные растворы метронидазола и кетоконазола подчиняются основному закону поглощения, и их ультрафиолетовые спектры (рис. 1) перекрываются ( $\lambda=215-320$  нм). Количественно определять каждый препарат затруднительно, поэтому нами использован известный метод К. Фирордта, применяемый для анализа двухкомпонентных смесей.

По данному методу составляется система уравнений при толщине рабочего слоя 1 см. Оптическая плотность в смеси двух исследуемых соединений записывается уравнениями:

$$A(\lambda_1) = \varepsilon_1(\lambda_1) \cdot C_1 + \varepsilon_2(\lambda_1) \cdot C_2,$$

$$A(\lambda_2) = \varepsilon_1(\lambda_2) \cdot C_1 + \varepsilon_2(\lambda_2) \cdot C_2,$$

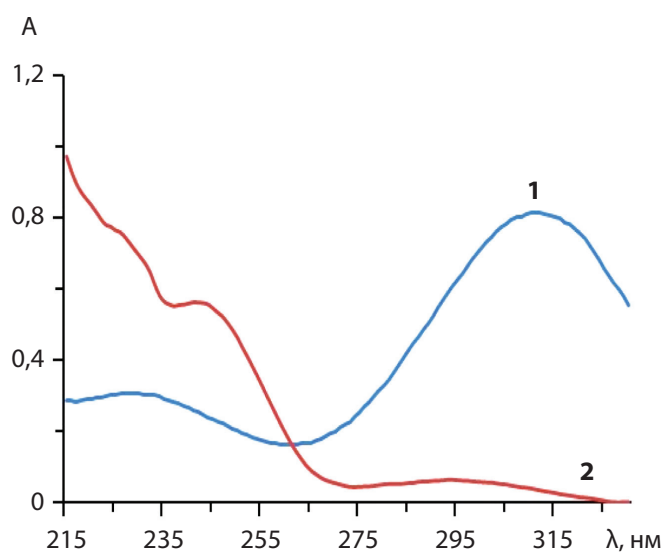
где  $C_1$  и  $C_2$  – концентрации компонентов, моль/л;  $\varepsilon_1(\lambda_1)$ ,  $\varepsilon_1(\lambda_2)$ ,  $\varepsilon_2(\lambda_1)$ ,  $\varepsilon_2(\lambda_2)$  – молярные показатели поглощения при длинах волн  $\lambda_1$  и  $\lambda_2$ .

Из системы уравнений находили концентрацию каждого компонента в смеси по формулам:

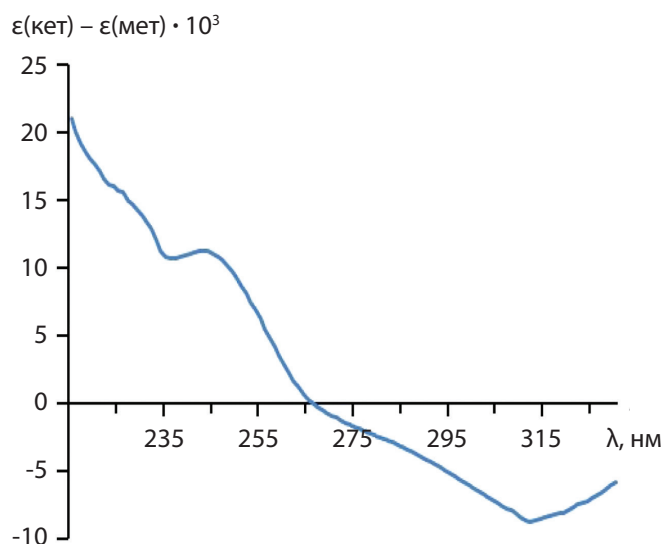
$$C_1 = \frac{\varepsilon_2(\lambda_2) \cdot A(\lambda_1) - \varepsilon_2(\lambda_1) \cdot A(\lambda_2)}{\varepsilon_1(\lambda_1) \cdot \varepsilon_2(\lambda_2) - \varepsilon_1(\lambda_2) \cdot \varepsilon_2(\lambda_1)},$$

$$C_2 = \frac{\varepsilon_1(\lambda_1) \cdot A(\lambda_2) - \varepsilon_1(\lambda_2) \cdot A(\lambda_1)}{\varepsilon_1(\lambda_1) \cdot \varepsilon_2(\lambda_2) - \varepsilon_1(\lambda_2) \cdot \varepsilon_2(\lambda_1)},$$

При разработке способа количественного спектрофотометрического анализа метронидазола и кетоконазола в мази осуществляли выбор оптимальных длин волн и расчет молярных показателей поглощения. Для этого строили кривую зависимости  $\varepsilon(\text{кет}) - \varepsilon(\text{мет})$  от длины волны (рис. 2). Экстремум на кривой наблюдается при длине волны 243 нм, который находится вблизи максимального поглощения кетоконазола ( $\lambda=241$  нм) в этанольном растворе. Кроме того, на кривой резко выражен минимум при длине волны 312 нм, который аналогичен второму максимуму поглощения метронидазола. Полученные результаты дают основание брать за оптимальные длины волн значения 241 нм и 312 нм.



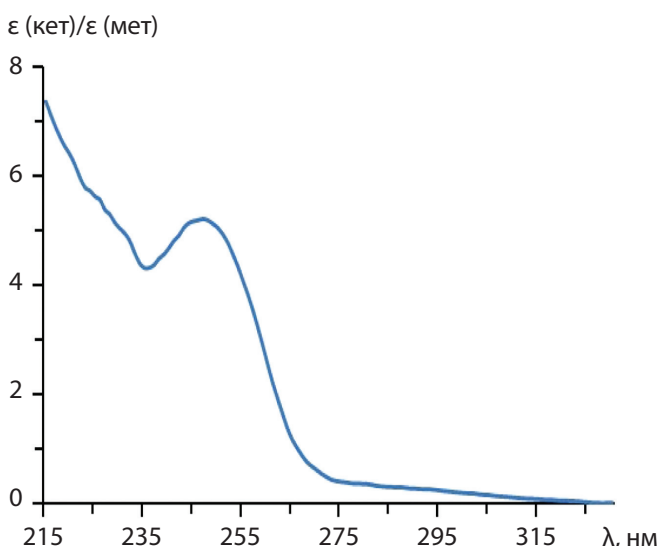
**РИС. 1.** Кривые зависимости поглощения метронидазола (1 –  $C=1,0 \cdot 10^{-4}$  моль/л) и кетоконазола (2 –  $C=3,0 \cdot 10^{-4}$  моль/л) в этаноле от длины волны



**РИС. 2.** Кривая зависимости  $\epsilon(\text{кет}) - \epsilon(\text{мет})$  от  $\lambda$ , нм

В подтверждение приведенных данных строили кривую зависимости  $\epsilon(\text{кет})/\epsilon(\text{мет})$  от длины волны, на которой имеется максимум при  $\lambda=243$  нм (рис. 3). Поэтому за аналитические длины волн для спектрофотометрического анализа метронидазола и кетоконазола в смеси нами приняты  $\lambda=241$  нм и  $\lambda=312$  нм, соответствующие максимумам в спектрах поглощения лекарственных препаратов.

Количественное определение ингредиентов мягкой лекарственной формы спектрофотометрическим методом проводили при выбранных длинах волн. Для этого обозначили молярные концентрации кетоконазола через  $C_1$ , молярные показатели поглощения –  $\epsilon_1(241)$ ,  $\epsilon_1(312)$ , а метронидазола –  $C_2$ ,  $\epsilon_2(241)$ ,  $\epsilon_2(312)$ . Систему уравнений К. Фирордта и расчет концентраций выразили в следующем виде:



**РИС. 3.** Кривая зависимости  $\epsilon(\text{кет})/\epsilon(\text{мет})$  от  $\lambda$ , нм

$$A(241) = \epsilon_1(241) \cdot C_1 + \epsilon_2(241) \cdot C_2,$$

$$A(312) = \epsilon_1(312) \cdot C_1 + \epsilon_2(312) \cdot C_2,$$

$$C = \frac{\epsilon_2(312) \cdot A(241) - \epsilon_2(241) \cdot A(312)}{\epsilon_1(241) \cdot \epsilon_2(312) - \epsilon_1(312) \cdot \epsilon_2(241)},$$

$$C = \frac{\epsilon_1(241) \cdot A(312) - \epsilon_1(312) \cdot A(241)}{\epsilon_1(241) \cdot \epsilon_2(312) - \epsilon_1(312) \cdot \epsilon_2(241)}.$$

Рассчитанные показатели поглощения лекарственных средств при аналитических длинах волн приведены в табл. 1.

Для разработки способа спектрофотометрического анализа компонентов в мази готовили модельную смесь, содержащую по 1,0% метронидазола и кетоконазола в этиловом спирте. Анализ проводили следующим способом: вносили 1 мл модельной смеси

Таблица 1

**ДААННЫЕ РАСЧЕТА МОЛЯРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПОГЛОЩЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ**

Лекарственное средство	C, моль/л	A (241нм)	ε (241нм)	A (312нм)	ε (312нм)
Кетоконазол	$4,0 \cdot 10^{-5}$	0,563	14075	0,033	825
Метронидазол	$1,0 \cdot 10^{-4}$	0,259	2590	0,813	8130

в мерную колбу вместимостью 50 мл и этанолом доводили объем жидкости в колбе до метки. Далее к 2 мл полученной смеси добавляли этанол до общего объема 25 мл и измеряли оптические плотности при длинах волн 241 нм и 312 нм с помощью спектрофотометра в кювете с толщиной рабочего слоя 1 см. Раствором сравнения являлся этанол. По приведенным выше формулам и полученным значениям оптических плотностей рассчитывали концентрацию кетоконазола ( $C_1$ ), метронидазола ( $C_2$ ) и находили массовую долю и массу лекарственных средств в модельной смеси:

$$m(\text{лек.сред}) = \frac{C(\text{лек.сред}) \cdot M(\text{лек.сред}) \cdot V(\text{общ}) \cdot V_2 \cdot V_3}{V \cdot V_1 \cdot 1000},$$

где  $W(\text{лек.сред})$  – массовая доля лекарственного средства, %;  $m(\text{лек.сред})$  – масса лекарственного средства, г;  $C(\text{лек.сред})$  – концентрация лекарственного средства, моль/л;  $M(\text{лек.сред})$  – молярная масса метронидазола (171,16 г/моль) и кетоконазола (521,43 г/моль);  $V(\text{общ})$  – объем мерной колбы, 50 мл;  $V$  – объем

смеси, взятой на анализ, 1 мл;  $V_1, V_2$  – фактор разбавления, 2 мл и 25 мл соответственно;  $V_3$  – общий объем смеси, 10 мл;  $a$  (лек.сред) – навеска лекарственного средства, г.

Для достоверности опытных данных провели восемь параллельных определений, полученные результаты статистически обработали (табл. 2). Результаты исследований показали, что относительная погрешность анализа кетоконазола и метронидазола предлагаемым спектрофотометрическим способом составляет  $\pm 1,47\%$  и  $1,73\%$  соответственно.

Как показали опытные данные, этанольные растворы кетоконазола практически не поглощают свет при длине волны 312 нм при концентрациях меньших, чем  $4,0 \cdot 10^{-5}$  моль/л. Это дает основание количественно определять метронидазол в присутствии кетоконазола, и анализ двухкомпонентной смеси упрощается. Поэтому предлагаемую выше систему уравнений выразили при  $\epsilon_1(312) = 0$  в следующем виде:

$$A(241) = \epsilon_1(241) \cdot C_1 + \epsilon_2(241) \cdot C_2,$$

$$A(312) = \epsilon_2(312) \cdot C_2.$$

Таблица 2

**РЕЗУЛЬТАТЫ СТАТИСТИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ ДАННЫХ АНАЛИЗА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ В МОДЕЛЬНОЙ СМЕСИ**

№ п/п	Найдено				Метрологические характеристики	
	Кетоконазол		Метронидазол			
	C, моль/л	W, %	C, моль/л	W, %		
1	$3,02 \cdot 10^{-5}$	98,42	$9,53 \cdot 10^{-5}$	101,95	Кетоконазол $\bar{w} = 100,54\%$ $S = 1,766$ $S_{\bar{w}} = 0,624$ $\epsilon_a = 1,48$ $A = \pm 1,47\%$ $\Delta = \bar{w} \pm \epsilon a =$ $= 100,54 \pm 1,48\%$	Метронидазол $\bar{w} = 100,26\%$ $S = 2,065$ $S_{\bar{w}} = 0,730$ $\epsilon_a = 1,73$ $A = \pm 1,73\%$ $\Delta = \bar{w} \pm \epsilon a =$ $= 100,26 \pm 1,73\%$
2	$3,13 \cdot 10^{-5}$	102,00	$9,19 \cdot 10^{-5}$	98,33		
3	$3,11 \cdot 10^{-5}$	101,35	$9,57 \cdot 10^{-5}$	102,41		
4	$3,02 \cdot 10^{-5}$	98,42	$9,19 \cdot 10^{-5}$	99,33		
5	$3,12 \cdot 10^{-5}$	101,68	$9,53 \cdot 10^{-5}$	101,95		
6	$3,13 \cdot 10^{-5}$	102,00	$9,19 \cdot 10^{-5}$	98,33		
7	$3,02 \cdot 10^{-5}$	98,42	$9,19 \cdot 10^{-5}$	98,33		
8	$3,13 \cdot 10^{-5}$	102,00	$9,57 \cdot 10^{-5}$	102,41		

Таблица 3

**ДАННЫЕ АНАЛИЗА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ В МОДЕЛЬНОЙ СМЕСИ**

A(241)	A(312)	Концентрация, моль/л		m <sub>1</sub> (кет), г	m <sub>2</sub> (мет), г
		C <sub>1</sub> (кет)	C <sub>2</sub> (мет)		
<b>Метод Фирордта</b>					
0,68	0,80	3,08 · 10 <sup>-5</sup>	9,53 · 10 <sup>-5</sup>	0,1004	0,1019
0,70	0,80	3,22 · 10 <sup>-5</sup>	9,51 · 10 <sup>-5</sup>	0,1049	0,1017
0,70	0,85	3,11 · 10 <sup>-5</sup>	10,14 · 10 <sup>-5</sup>	0,1014	0,1085
0,69	0,80	3,15 · 10 <sup>-5</sup>	9,52 · 10 <sup>-5</sup>	0,1027	0,1018
0,70	0,84	3,13 · 10 <sup>-5</sup>	10,01 · 10 <sup>-5</sup>	0,1020	0,1071
<b>Упрощенный метод Фирордта</b>					
0,70	0,82	3,12 · 10 <sup>-5</sup>	10,09 · 10 <sup>-5</sup>	0,1017	0,1079
0,68	0,80	3,02 · 10 <sup>-5</sup>	9,84 · 10 <sup>-5</sup>	0,0984	0,1053
0,72	0,82	3,26 · 10 <sup>-5</sup>	10,09 · 10 <sup>-5</sup>	0,1062	0,1079
0,70	0,80	3,16 · 10 <sup>-5</sup>	9,84 · 10 <sup>-5</sup>	0,1030	0,1092
0,71	0,83	3,17 · 10 <sup>-5</sup>	10,21 · 10 <sup>-5</sup>	0,1033	0,1053

Молярные концентрации лекарственных препаратов рассчитывали по формулам:

$$C_1 = \frac{A(241) - \epsilon_2(241) \cdot C_2}{\epsilon_1(241)},$$

$$C_2 = \frac{A(312)}{\epsilon_2(312)}.$$

Массы объектов исследования, найденные в модельной смеси, приведены в табл. 3. По результатам параллельных опытов установлено, что содержание кетоконазола (m<sub>1</sub>), рассчитанное по методу Фирордта и упрощенной системе уравнений, находится в пределах 0,0984–0,1062 г, метронидазола (m<sub>2</sub>) – 0,1017–0,1092 г, что соответствует допустимым отклонениям в массе отдельных доз, представленным в приказе МЗ РФ от 26.10.2015 №751н «Об утверждении правил изготовления и отпуска лекарственных препаратов для медицинского применения аптечными организациями, индивидуальными предпринимателями,

имеющими лицензию на фармацевтическую деятельность».

Описанный выше способ анализа нами предложено применять для количественного определения лекарственных средств в мази, изготовленной на основе геля «Тизоль». Методика: в стеклянный химический стаканчик помещают навеску мази около 0,1 г (точная масса), добавляют 25 мл 95%-го раствора этанола, смесь перемешивают и фильтруют через бумажный складчатый фильтр. После чего к 4 мл фильтрата прибавляют этанол до получения общего объема 10 мл и измеряют оптическую плотность раствора при длинах волн 241 нм и 312 нм по отношению к раствору сравнения (этанольная вытяжка геля «Тизоль», приготовленная аналогичным способом). По значениям оптических плотностей и молярных показателей поглощения (табл. 1) рассчитывают молярные концентрации лекарственных препаратов по приведенным выше формулам. Содержание метронидазола и кетоконазола в мягкой лекарственной форме находят по формуле:

**ДАННЫЕ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА  
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ В МАЗИ**

Взято		Найдено				Допустимые нормы	
m(мази), г	m(тиз), г	C <sub>1</sub> (кет), моль/л	C <sub>2</sub> (мет), моль/л	m <sub>1</sub> (кет), г	m <sub>2</sub> (мет), г	г	%
<b>Метод Фирордта</b>							
0,1039	0,1033	3,11 · 10 <sup>-5</sup>	10,14 · 10 <sup>-5</sup>	0,0975	0,1044	0,085– 0,115	±15,0
0,1039	0,1033	3,18 · 10 <sup>-5</sup>	9,76 · 10 <sup>-5</sup>	0,997	0,1005		
0,1039	0,1033	3,32 · 10 <sup>-5</sup>	19,75 · 10 <sup>-5</sup>	0,1041	0,1004		
0,1039	0,1033	3,23 · 10 <sup>-5</sup>	9,88 · 10 <sup>-5</sup>	0,1013	0,1017		
<b>Упрощенный метод Фирордта</b>							
0,1042	0,1033	3,12 · 10 <sup>-5</sup>	10,09 · 10 <sup>-5</sup>	0,0976	0,1036	0,085– 0,115	±15,0
0,1042	0,1033	3,26 · 10 <sup>-5</sup>	10,09 · 10 <sup>-5</sup>	0,1020	0,1036		
0,1042	0,1033	3,09 · 10 <sup>-5</sup>	10,21 · 10 <sup>-5</sup>	0,0966	0,1048		
0,1042	0,1033	3,19 · 10 <sup>-5</sup>	10,09 · 10 <sup>-5</sup>	0,0998	0,1036		

$$m(\text{лек.сред}) = \frac{C(\text{лек.сред}) \cdot M(\text{лек.сред}) \cdot V(\text{общ}) \cdot V_2 \cdot P}{10^3 \cdot a(\text{мази}) \cdot V_1}$$

где V(общ) – объем этанола, в котором растворена навеска мази, 25 мл; a (мази) – навеска лекарственной формы, г; V<sub>1</sub>, V<sub>2</sub> – фактор разбавления, 4 мл и 10 мл соответственно; P – масса лекарственной формы, 10 г.

Ошибка анализа изучаемых лекарственных средств в мази (табл. 4) независимо от способа расчета находится в пределах допустимых норм в граммах и отклонений в процентах, предусмотренных нормативной документацией.

**ВЫВОДЫ**

В результате изучения оптических свойств этанольных растворов метронидазола и кетоконазола установлено, что их спектры поглощения перекрываются.

Определены оптимальные условия проведения анализа и выбраны аналитические длины волн 241 нм и 312 нм для количественного спектрофотометрического определения лекарственных средств в прописи с использованием приема К. Фирордта.

Проведены исследования по анализу модельной смеси и разработан способ, позволяющий количественно определять изучаемые соединения с относительной ошибкой ±1,47–1,73%.

Предложена методика спектрофотометрического анализа метронидазола и кетоконазола в мягкой лекарственной форме на титансодержащей основе с ошибкой, не превышающей нормативные отклонения.

Разработанный способ анализа метронидазола и кетоконазола в мягкой лекарственной форме «Метрокетоконазол» может быть рекомендован для включения в нормативную документацию по установлению качества изготовления мази.



## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Аюпова Г.В. Современные аспекты разработки и совершенствования состава и технологии лекарственных форм // Медицинский вестник Башкортостана. 2016. – №11 (5). – С. 87–90.
2. Беликов В.Г. Анализ лекарственных веществ фотометрическими методами. Опыт работы отечественных специалистов // Российский химический журнал. 2002. – №46 (4). – С. 52–56.
3. Дьячкова Л.В. Изучение структурно-механических свойств мазевых основ // Вестник фармации. 2012. – №3. – С. 23–28.
4. Евстафьева Т.Г., Бессонова Н.С., Кобелева Т.А., Сичко А.И. Применение спектрофотометрии в анализе нового лекарственного препарата «Метатетразоль» // Здоровье и образование в XXI веке. 2018. – №20 (12). – С. 55–59.
5. Евстафьева Т.Г., Бачева Н.Н., Бессонова Н.С., Кобелева Т.А., Сичко А.И. Применение спектрофотометрического анализа для установления осмотической и транскутанной активности новых лекарственных форм «Метамиозоль» и «Фенилбутазоль» // Медицинская наука и образование Урала. 2018. – №19 (3). – С. 56–62.
6. Махотина М.В., Петров А.Ю. Сравнительный анализ технологий экстемпорального изготовления мазей на основе Тизоля // Фундаментальная наука и технологии – перспективные разработки: материалы XIV международной научно-практической конференции. – North Charleston, USA, 2018. – 2. – Рр. 96–98.
7. Насыбулина Н.М. Создание лекарственных форм противовоспалительных и антимикотических средств на основе липосом для наружного применения // Здоровье – основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения. 2010. – №5 (1). – С. 370.
8. Сабиржан Р.Р., Егорова С.Н. Антчное изготовление лекарственных форм для лечебно-профилактических учреждений: изучение современной номенклатуры // Научные ведомости Белгородского государственного университета. 2012. – №18/2 (10). – С. 31–35.

## SPECTROPHOTOMETRIC ANALYSIS OF A NEW DRUG «METROKETOCONAZOLE»

**A.I. Zamaraeva, N.S. Bessonova, T.A. Kobeleva, A.I. Sichko**

*Tyumen State Medical University, Tyumen, Russia*

*The results of experiments on the analysis of metronidazole and ketoconazole in a new drug «Metroketoconazole» made on a titanium-containing basis («Tizol» gel) are presented. Ultraviolet absorption spectra of ethanol solutions of ointment ingredients are presented. It is established that for quantitative determination it is necessary to use the wavelengths of 241 nm and 312 nm. Optimal conditions were selected and a method was developed for analyzing compounds in a model mixture with a relative error of  $\pm 1.47$ – $1.73\%$ . A method for quantitative spectrophotometric determination of metronidazole and ketoconazole in the studied soft dosage form with an error not exceeding the limits of permissible norms and deviations is proposed.*

**Keywords:** ketoconazole, metronidazole, «Tizol» gel, quantitative analysis, spectrophotometry