

На правах рукописи



Коновалова Светлана Сергеевна

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДОВ
СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОГО И ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО
АНАЛИЗА ПЕРХЛОЗОНА, РИФАБУТИНА И ТЕРИЗИДОНА**

3.4.2. – фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание учёной степени кандидата
фармацевтических наук**

Улан-Удэ – 2026

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель: Илларионова Елена Анатольевна – доктор химических наук, профессор

Официальные оппоненты:

Лубсандоржиева Пунцык-Нима Базыровна – доктор фармацевтических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт общей и экспериментальной биологии» Сибирского отделения Российской академии наук / лаборатория медико-биологических исследований, научный сотрудник

Рандалова Туяна Эрдэмовна – кандидат фармацевтических наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова» Министерства науки и высшего образования РФ / лаборатория инновационной фармацевтики медицинского института, заведующий

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений»

Защита состоится «10» июня 2026 г. в 16⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета 99.0.045.03 при ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН по адресу: 670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке ИМБТ СО РАН и на сайте ИОЭБ СО РАН: <http://igeb.ru>

Автореферат разослан «02» апреля 2026 г.

Учёный секретарь
диссертационного совета
д.б.н, доцент

 Хобракова Валентина Бимбаевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Проблема лекарственно-устойчивого туберкулёза не теряет своей актуальности по всему миру. Меры, направленные на снижение заболеваемости, не имеют должного эффекта в условиях стремительно развивающейся устойчивости микобактерий к существующим препаратам (Денисюк и др., 2022; Рузанов и др., 2021; Мышкова и др., 2020). Данный факт побуждает фармакологов изыскивать новые препараты, обладающие противотуберкулёзным действием, а фтизиатров – подбирать эффективные комбинации из существующих лекарственных средств.

В процессе терапии одновременно могут быть назначены 5 и более препаратов, а общая длительность лечения – превышать 20 месяцев. Введение вместо препаратов стандартной терапии резервных, обладающих большей токсичностью, и их длительный приём значительно повышают риск возникновения негативных последствий для организма, таких как токсический гепатит, нефротоксические реакции, нейропсихологические реакции (Денисюк и др., 2022; Барканова и др., 2021; Мышкова и др., 2020).

Объектами данного исследования стали противотуберкулёзные препараты: рифабутин, перхлозон и теризидон, на данный момент активно применяющиеся для лечения широко и множественно устойчивого туберкулёза. Рифабутин – бактерицидный антибиотик ряда ансамицинов (Цыбанев, Соколова, 1999; Crabol et al., 2016). Перхлозон – противотуберкулёзное средство бактериостатического действия (Яблонский и др., 2015; Старшинова и др., 2014). Теризидон – бактериостатический антибиотик широкого спектра действия (Arbex et al., 2010; Mulubwa, Mugabo, 2019).

Качество лекарственных препаратов является его основополагающей характеристикой. Именно от него зависит эффективность и безопасность препарата. В терапии туберкулёза это особенно важно, так как нарушения режима дозирования вследствие заниженного или завышенного содержания действующего вещества в сочетании с множеством прочих факторов могут стать причиной развития лекарственно-устойчивых форм заболевания, крайне сложно поддающихся лечению (Баденикова, Юшков, 2010; Денисюк и др., 2022; Мышкова и др., 2020).

Методы, используемые для целей фармацевтического анализа, различны. Но все же наибольшую распространённость в современном мире приобрели методы, основанные на физико-химических процессах. Использование спектрофотометрических и хроматографических методов анализа в области контроля качества лекарственных средств с каждым годом становится более широким, что позволяет обеспечить высокую специфичность и чувствительность анализа.

Методы, рекомендованные НД, требуют применения импортного оборудования и стандартных образцов (СО), произведённых по требованиям Американской (USP RS) и Европейской фармакопеи (EP CRS). С учётом того, что субстанции, как и государственные стандартные образцы (ГСО) рифабутина и теризидона, не производятся на территории России, их доступность для российских лабораторий в условиях санкций ограничена. Несмотря на то, что

перхлорзон разработан и производится в России, ГСО на данный препарат также не выпускается. Таким образом, разработка новых и совершенствование существующих методик обнаружения и количественного определения перхлорзона, рифабутина, теризидона с использованием отечественного оборудования и стандартных образцов фирм являются актуальной задачей.

Для целей фармацевтического анализа активно применяются оптические методы. К их преимуществам можно отнести высокую чувствительность и воспроизводимость, простоту выполнения, меньшую токсичность используемых реактивов. Возможность замены необходимых для осуществления определения ГСО на внешние оптические образцы сравнения делает их более доступными и экономически обоснованными.

Сведения о химико-токсикологическом анализе исследуемых лекарственных средств как при противотуберкулёзной терапии, так и в комбинации с препаратами других фармакологических групп в литературных источниках отражены в недостаточной степени. Следовательно, разработка методик выделения, обнаружения и количественной оценки перхлорзона, рифабутина, теризидона из биологических объектов имеет большое значение для химико-токсикологического и судебно-химического анализа исследуемых лекарственных препаратов, а также терапевтического мониторинга.

Кроме того, разработка методик для определения изучаемых препаратов одновременно в различных матрицах (фармацевтические композиции, биологические жидкости) позволит оптимизировать анализ и уменьшить время, затрачиваемое на исследования. Все это подчёркивает актуальность и необходимость проведения масштабных исследований в данной области, направленных на решение обозначенной проблемы.

Степень разработанности темы исследования. Применение в медицинской практике противотуберкулёзных препаратов – значительная область исследований, представленная в российских и зарубежных источниках, однако фармацевтические исследования встречаются реже.

Использование физико-химических методов и их комбинаций с целью фармацевтического анализа наиболее широко представлено для рифабутина и теризидона в иностранных источниках. Основным методом, предлагаемым для контроля качества рифабутина в российской (Рифабутин субстанция, ФС 000184-280911; Фарбутин, ЛСР-0017034109-200919) и зарубежной нормативной документации (Европейская фармакопея, 2022; Британская фармакопея, 2003; Индийская фармакопея, 2022; Фармакопея США, 2024), является ВЭЖХ. В качестве альтернативных описаны методики капиллярного зонного электрофореза (Аншакова и др., 2015), вольтамперометрического титрования (Barzani, 2023), высокоэффективной тонкослойной хроматографии (Avachat, 2010) и фотометрии в видимой области (Kishore, 2010). Для теризидона рекомендованы потенциометрическое титрование (Теризидон субстанция, ЛСР-005929108-280708), варианты спектрального анализа (Локсидон, ЛП-002373-140214; Shirkhedkar et al., 2019; Hemant, 2016; Khairnar, 2016), а также ВЭЖХ (Раделюк, 2010; Gandhi, 2018; Musafili, 2021) и высокоэффективной тонкослойной хроматографии (Bhole, 2018).

Методики оценки качества перхлозона приведены только в отечественной нормативной документации, рекомендующей спектрофотометрию с использованием удельного показателя поглощения для субстанции (Перхлозон субстанция, НД 001704-011117) и ВЭЖХ для лекарственной формы

Описанные методики значительно отличаются подходами к пробоподготовке, используемыми приборами, детекторами и реактивами, требуют стандартных образцов, часто отсутствующих или не имеющих аналогов в российском реестре ГСО.

Сведений в области химико-токсикологического анализа по всем исследуемым препаратам недостаточно. Встречаются разрозненные данные об обнаружении в биологическом материале (плазма крови человека) перхлозона (Карлина, 2017; Раменская и др., 2015; Власов и др., 2011; Раменская и др., 2014), рифабутин (Winchester et al., 2015; Gray et al., 2019; Bravo et al., 2020) и теризидон (Mulubwa, 2018), а также в плазме крови и органах крыс (Косман, 2020; Кузнецова, 2015; Карлина и др., 2013; Gaspara et al., 2008). Однако данные систематических химико-токсикологических исследований, в том числе использование для этих целей других биологических объектов, в литературе не представлены.

Таким образом, целесообразно провести комплексные исследования перхлозона, рифабутин и теризидон для оптимизации методик фармацевтического и химико-токсикологического анализа. Исходя из всего вышесказанного, нами были сформулированы цель и задачи диссертационной работы.

Цель. Оптимизировать оптические и хроматографические методы, применяемые для фармацевтического и химико-токсикологического анализа препаратов противотуберкулезного действия – перхлозона, рифабутин и теризидон.

Задачи исследования:

1. Обосновать применение внешних оптических образцов сравнения (ВООС) для спектрофотометрического определения содержания перхлозона, рифабутин, теризидон в субстанциях и ЛФ. Сформировать унифицированные методики данного варианта контроля качества исследуемых ЛС и подготовить проекты изменений ФСП для анализируемых объектов.

2. Определить условия идентификации и оценки содержания действующего вещества в ЛФ, содержащих перхлозон, рифабутин, теризидон для хроматографа российского производства «Милихром А-02». Разработать проекты изменений ФСП применения новых методик для количественного определения. Провести сравнительную оценку результатов, получаемых с использованием разработанных методик хроматографии и спектрофотометрии.

3. Разработать условия разделения и методики идентификации перхлозона, рифабутин, теризидон, сочетаемых с ЛС для терапии сопутствующих заболеваний в извлечениях из матриц биологического происхождения методами ТСХ и ВЭЖХ.

4. Выявить влияние различных параметров на выделение перхлозона, рифабутин, теризидон из водных растворов.

5. Разработать оптимальную методику выделения перхлозона, рифабутина, теризидона из объектов анализа биологической природы, а также методики их обнаружения и количественного определения в извлечениях методами ТСХ и ВЭЖХ.

Научная новизна работы. Экспериментально изучены и научно обоснованы условия спектрального определения перхлозона, рифабутина и теризидона (значение показателя рН среды, растворитель, аналитическая длина волны, оптимальная концентрация, ВООС) в субстанциях и лекарственных формах с применением оптических образцов сравнения.

Изучены особенности и разработаны унифицированные методики хроматографического определения исследуемых веществ в лекарственных формах с применением жидкостного микроколоночного хроматографа с УФ-детектором российского производства «МилиХром А-02» (условия разделения: колонка 2 x 75 мм, заполненная сорбентом ProntoSIL-120-5 C18 AQ, подвижная фаза: смесь аммония ацетата раствора 0,02 М (рН 6,5) и ацетонитрила в соотношении 30:70 и 85:15 для перхлозона и рифабутина соответственно, смесь 0,1 % раствора трифторуксусной кислоты в воде и 0,1 % раствора трифторуксусной кислоты в ацетонитриле в соотношении 75:25 для теризидона, режим изократический, скорость потока 150 мкл/мин, температура колонки 35 °С).

Исследована вариативность степени изолирования перхлозона, рифабутина и теризидона под действием разных условий (органический растворитель, показатель рН среды, время и кратность экстракции) и разработаны оптимальные методики извлечения их из водных растворов и биообъектов мочи, слюны, плазмы крови, печени и лёгких методом жидкостно-жидкостной экстракции (ЖЖЭ). Экспериментально установлено, что перхлозон наиболее эффективно изолируется этилацетатом при рН=10,0 в течение 3 минут, трехкратно; рифабутин – дихлорметаном при рН=2,0 в присутствии натрия хлорида насыщенного в течение 3 минут, однократно; теризидон – этилацетатом при рН=3,0 в присутствии натрия сульфата насыщенного в течение 5 минут, однократно.

Впервые изучена хроматографическая подвижность исследуемых противотуберкулёзных лекарственных средств и препаратов сопутствующей терапии в различных системах растворителей, выбрана система растворителей состава диоксан – хлороформ – ацетон – 25 % раствор аммиака (40:40:6:3), позволяющая обеспечить разделение перхлозона, рифабутина и теризидона в комбинациях с фтивазидом, пипразинамидом, линезолидом, левофлоксацином, анальгином, абакавиром, протионамидом, амитриптиллином, диазепамом, аминазином, фенобарбиталом и циннаризином методом хроматографии в тонком слое сорбента.

Разработаны условия разделения и идентификации перхлозона, рифабутина и теризидона в сочетании с другими противотуберкулёзными противомикробными, антиретровирусными, психотропными, седативными и обезболивающими средствами в извлечениях из биообъектов мочи, слюны, плазмы крови, печени и лёгких методом ВЭЖХ на отечественном хроматографе

«МилиХром А-02» (условия разделения: колонка 2 x 75 мм, заполненная сорбентом ProntoSIL-120-5-C18 AQ, подвижная фаза: смесь элюэтов: А – водного раствора перхлората лития 0,2 М и Б – ацетонитрила, линейный градиентный режим элюирования, 3800 мкл от 20 до 60 % Б. Скорость подачи подвижной фазы 150 мкл/мин, температура колонки 35 °С).

Практическая значимость. По результатам исследований разработаны и предложены 8 методик количественного определения перхлорона, рифабутина и теризидона СФ методом в субстанциях и лекарственных формах с применением калия дихромата, калия феррицианида, фенолфталеина в качестве оптических образцов сравнения; 3 методики количественного определения перхлорона, рифабутина и теризидона в лекарственных формах методом ВЭЖХ; 3 методики экстракции перхлорона, рифабутина и теризидона из модельных смесей биологических объектов с помощью ЖЖЭ; методики установления совместного присутствия перхлорона, рифабутина и теризидона с фтивазидом, пипразинамидом, линезолидом, левофлоксацином, протионамидом, абакавиром, амитриптилином, аминазином, фенобарбиталом, циннаризином, анальгином в извлечениях из биологических объектов методами ТСХ и ВЭЖХ.

Степень внедрения. Разработанные методики апробированы и внедрены в практику работы судебно-химического отделения ГБУЗ «Иркутское областное бюро судебно-медицинской экспертизы» (г. Иркутск), в учебный процесс кафедры фармацевтической и токсикологической химии ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ. Получено 15 актов апробации и внедрения результатов данной работы. Получен патент РФ на изобретения «Способ определения в моче, слюне и плазме крови лекарственных веществ». Предложены проекты изменения ФСП на указанные лекарственные средства.

Положения, выносимые на защиту:

– Обоснование параметров контроля качества и формирование методик оценки содержания перхлорона, рифабутина и теризидона методами спектрофотометрии с использованием ВООС и ВЭЖХ, и их валидация;

– Данные об особенностях изолирования и методики экстракции перхлорона, рифабутина и теризидона из растворов с учётом влияния природы извлекающего агента, значения показателя рН среды, присутствия электролита, времени контакта и кратности обработки извлекающим агентом, а также из модельных образцов биологических объектов;

– Результаты изучения хроматографической подвижности, условий разделения и идентификации перхлорона, рифабутина и теризидона в комбинированных сочетаниях с препаратами сопутствующей терапии в извлечениях из биологических объектов методами ТСХ и ВЭЖХ.

Личный вклад автора. Автором лично выполнены все этапы работы, охватывающие подбор и критический анализ литературных источников по теме исследования, сформулированы цели и задачи, планирование и осуществление эксперимента, обобщение полученных данных и их статистическая обработка, разработка, валидация методик. Автором сформированы обобщённые выводы,

которые были отражены в статьях и доложены на конференциях. Оформлены диссертация и автореферат, представленные к защите.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Научные положения диссертационной работы соответствуют паспорту специальности 3.4.2 – «фармацевтическая химия, фармакогнозия». Результаты проведённых исследований соответствуют пунктам 2, 3, 4 паспорта специальности.

Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук. Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ ИГМУ по проблеме «Совершенствование системы фармацевтической помощи, методов получения, анализа и стандартизации лекарственных средств растительного и синтетического происхождения» № 123021600223-0 и соответствует направлению проблемной комиссии по фармации и фармакологии.

Апробация работы. Основные результаты диссертации были доложены и обсуждены на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Инновационные технологии в фармации» (Иркутск, 2021, 2022, 2024 гг.), Всероссийской студенческой научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы фармацевтических и естественных наук» (Иркутск, 2021, 2022, 2023 гг.); XVII Международной (XXVI Всероссийской), Пироговской научной медицинской конференции студентов и молодых учёных (Москва 2022, 2024 гг.), VI Дальневосточном медицинском молодёжном форуме (Хабаровск, 2022, 2024 гг.), Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых учёных с международным участием «Природные соединения и здоровье человека» (Иркутск, 2023 г.), Международном молодёжном форуме, посвящённом 85-летию СтГМУ «Неделя науки-2023» (Ставрополь, 2023 г.), 91-й Всероссийской Байкальской научно-практической конференции молодых учёных и студентов с международным участием «Наука, как искусство» (Иркутск, 2024 г.) и Всероссийском инновационном форуме с международным участием «Фармация: шаг в будущее» (Тюмень, 2024 г.).

Публикации. Основные результаты проведённых исследований отражены в 18 научных трудах, из них 3 статьи в ведущих изданиях, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ, и 1 патент РФ на изобретение.

Структура и объем диссертации. Материалы диссертационной работы изложены на 163 страницах компьютерного текста, содержат 59 таблиц и 40 рисунков. Работа включает введение, обзор литературы (глава 1), 3 главы экспериментальной части, общие выводы и список литературных источников, включающий 99 наименований, из них – 67 отечественных и 32 зарубежных. В приложениях представлены материалы по внедрению и апробации разработанных методик.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объекты и методы исследования

Для разработки методик идентификации, разделения и количественного определения были использованы субстанции перхлорона, рифабутин и теризидона, лекарственные формы их содержащие: таблетки, покрытые оболочкой Перхлорон по 0,2 и 0,4 г; капсулы Фарбутин по 0,15 г; капсулы Локсидон по 0,15, 0,25 и 0,3 г, а также таблетки левофлоксацина, покрытые оболочкой по 0,5 г; таблетки линезолида, покрытые оболочкой по 0,2 г; таблетки амитриптилина по 0,025 г; таблетки фенобарбитала по 0,1 г; таблетки абакавира 0,6 г; таблетки метамизола натрия по 0,5 г; таблетки фтивазиды по 0,5 г; таблетки аминазина по 0,025 г; таблетки диазепамы по 0,005 г; таблетки пиразинамида по 0,5 г; таблетки протионамида по 0,25 г, отвечающие требованиям НД.

Применяемые реактивы и органические растворители, а также исследуемые образцы сравнения отвечали требованиям ГОСТов и подвергались дополнительной очистке по ранее разработанным методикам при необходимости.

Методы, использованные в работе: спектроскопия в УФ - области, экстракция жидкость – жидкостная, электрохимические (рН - метрия), титриметрические, хроматографические (тонкослойная и высокоэффективная жидкостная хроматографии) и статистические. Для расчёта достоверности были использованы критерии Стьюдента и Фишера. Рассчитанное значение критериев сравнивали с граничным. Различия статистически значимы при доверительной вероятности $p < 0,05$. Обработку экспериментальных данных выполняли с использованием программы «Microsoft Excel for Windows 10».

Измерение оптической плотности растворов и регистрацию УФ-спектров осуществляли на спектрофотометре СФ-2000 (ЗАО «ОКБ СПЕКТР», г. Санкт-Петербург). Исследование проводилось в кварцевых кюветах с толщиной рабочего слоя 1 см на фоне растворителя. Показатель величины рН контролировался универсальным иономером ИТ-1101 (ООО «Измерительная техника», г. Москва).

Исследования методом ТСХ выполняли, используя готовые пластинки «Сорбфил». Детекцию веществ на хроматограммах проводили, используя УФ-осветитель (длина волны 254 нм). Хроматографические (ВЭЖХ) исследования проводили с использованием микроколоночного жидкостного хроматографа «Милихром А-02» (ЗАО «ЭкоНова», г. Новосибирск) с ультрафиолетовым спектрофотометрическим детектором. Были разработаны следующие хроматографические условия: хроматографическая колонка (75×2 мм), заполненная полимерным сорбентом ProntoSIL-120-5-C18 AQ с размером частиц 5 мкм («Bischoff Analysentechnik und Gerate GmbH», Германия). Термостатирование хроматографической колонки – 35⁰С. Дополнительно использовали шприцы Гамильтон объёмом 50 и 100 мкл с иглой 22/51/2 (Hamilton bonaduz AG, Швейцария), рН-метр «Анион 4100» (Россия, г. Новосибирск), центрифугу «Eppendorf» 13200 об/мин (Германия), ультразвуковую ванну «Bandelin SONOREX» (Германия).

Разработка методик спектрофотометрического определения перхлозона, рифабутина и теризидона в субстанциях и лекарственных формах

Основой для разработки методики спектрофотометрического определения исследуемых препаратов стало изучение их оптических свойств в области 200-400 нм и диапазоне значений рН 1-13, выбор оптимального растворителя, обеспечивающего стабильность оптических параметров, и концентрация раствора.

Подбор внешних оптических образцов сравнения осуществляли с учётом аналитической длины волны исследуемого лекарственного вещества, оптимальной области поглощения образца сравнения и оптимального растворителя (табл. 1). В качестве внешних оптических образцов сравнения предложены вещества неорганической и органической природы: калия хромат (ГОСТ 4459-75), калия феррицианид (ГОСТ 4206-75) и фенолфталеин (ГОСТ 5850-72). Данные вещества широко применяются в аналитической практике в качестве реактивов, выпускаются химической промышленностью квалификации «х.ч.» и «ч.д.а.», доступны и дешёвы.

Для всех исследуемых препаратов оптимальным растворителем является раствор 0,1 М хлористоводородной кислоты. Схожими оптическими свойствами с рифабутином обладает фенолфталеин, его оптимальный интервал поглощения составляет 268-282 нм, в который входит аналитическая длина волны рифабутин 279 нм. Калия дихромат характеризуется двумя полосами поглощения. В оптимальный интервал более длинноволнового максимума, составляющий 341-359 нм, входит аналитическая длина волны перхлозона 346 нм. В оптимальный интервал более коротковолнового максимума калия дихромата, составляющий 247-267 нм, входит аналитическая длина волны теризидона 264 нм, также входящая в оптимальный интервал наиболее коротковолнового максимума калия феррицианида 255-267 нм. Эти соединения были использованы как внешние оптические образцы сравнения для количественной оценки исследуемых веществ в субстанциях и лекарственных формах.

Соответствие оптических свойств исследуемых ЛВ и внешних оптических образцов сравнения представлено на рисунке 1 на примере УФ-спектров поглощения перхлозона и калия дихромата.

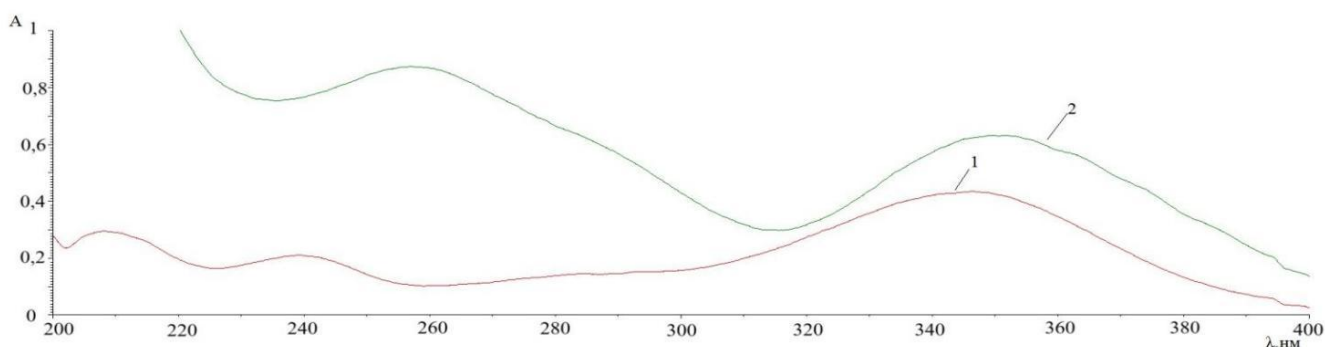


Рисунок 1 – УФ-спектры поглощения растворов перхлозона 0,005% (1) и калия дихромата 0,003% (2)

Из рис. 1 видно, что полосы поглощения исследуемого вещества и образца сравнения в области аналитической длины волны сходны, но различаются по интенсивности поглощения, в связи с чем вводится коэффициент пересчёта.

Условия спектрофотометрического определения перхлорона, рифабутина и теризидона с применением внешних оптических образцов сравнения объединены в таблице 1.

Таблица 1 – Условия спектрофотометрического определения перхлорона, рифабутина и теризидона

Исследуемый препарат	Максимум поглощения, оптимальный растворитель	Оптический образец сравнения	Максимум поглощения, оптимальный растворитель	Интервал оптимальной области поглощения, нм
Перхлозон	346 нм; 0,1М НСl	K ₂ Cr ₂ O ₇	350 нм; 0,1М НСl	341-359
Теризидон	264 нм; 0,1М НСl		257 нм; 0,1М НСl	247-267
Теризидон	264 нм; 0,1М НСl	K ₃ (Fe(CN) ₆)	275 нм; 0,1М НСl	255-267
Рифабутин	279 нм; 0,1М НСl	Фенолфталеин	275 нм; 0,1М НСl	268-282

Полученные данные легли в основу разработки унифицированных методик количественной оценки исследуемых препаратов с применением внешних оптических образцов сравнения в субстанциях и готовых лекарственных формах. Результаты представлены в таблицах 2 и 3.

Таблица 2 – Результаты количественной оценки исследуемых препаратов в субстанции

Исследуемый препарат	Образец сравнения	\bar{x} , %	Метрологические характеристики (n=30, P=95%)
Перхлозон, 98,5-100,5 %	K ₂ Cr ₂ O ₇	99,94	S ² =2,29; S=1,514; S \bar{x} =0,27; Δx =0,564; E,%=0,56; Sr=0,015
	PCO	100,60	S ² =2,35; S=1,531; S \bar{x} =1,17; Δx =0,565; E,%=0,56; Sr=0,015
Рифабутин, 96-102 %	Фенолфталеин	100,36	S ² =2,73; S=1,65; S \bar{x} =0,302; Δx =0,616; E,%=0,61; Sr=0,016
	PCO	99,77	S ² =3,57; S=1,89; S \bar{x} =0,345; Δx =0,704; E,%=0,70; Sr=0,019
Теризидон, 96-102 %	K ₂ Cr ₂ O ₇	99,42	S ² =3,486; S=1,867; S \bar{x} =0,34; Δx =0,697; E,%=0,70; Sr=0,019
	K ₃ (Fe(CN) ₆)	99,59	S ² =2,608; S=1,615; S \bar{x} =0,295; Δx =0,603; E,%=0,61; Sr=0,016
	PCO	99,53	S ² =5,445; S=2,334; S \bar{x} =0,426; Δx =0,869; E,%=0,87; Sr=0,023

Результаты количественного определения в субстанциях и лекарственных формах, полученные при использовании внешних оптических образцов сравнения и PCO, сопоставимы. Относительная погрешность определений не превышает 0,87 % для субстанций и 1,7 % для готовых лекарственных форм.

Таблица 3 – Результаты количественной оценки исследуемых препаратов в лекарственных формах

Исследуемый препарат	Образец сравнения	\bar{x} , г	Метрологические характеристики (n=30, P=95%)
Перхлорзон, таблетки, покрытые оболочкой 0,2 г	K ₂ Cr ₂ O ₇	0,2019	S ² =3,98·10 ⁻⁵ ; S=0,00631; S \bar{x} =0,00478; Δx=0,0023; E,%=1,15; Sr=0,0313
	PCO	0,2018	S ² =3,80·10 ⁻⁵ ; S=0,00616; S \bar{x} =0,00112; Δx=0,0023; E,%=1,13; Sr=0,0305
Перхлорзон, таблетки, покрытые оболочкой 0,4 г	K ₂ Cr ₂ O ₇	0,4020	S ² =2,25·10 ⁻⁴ ; S=0,015; S \bar{x} =0,00274; Δx=0,0056; E,%=1,39; Sr=0,037
	PCO	0,4010	S ² =2,25·10 ⁻⁴ ; S=0,016; S \bar{x} =0,00286; Δx=0,0058; E,%=1,46; Sr=0,039
Фарбутин, капсулы 0,15 г	Фенолфталеин	0,1508	S ² =3,14·10 ⁻⁵ ; S=0,0056; S \bar{x} =0,00102; Δx=0,0021; E,%=1,38; Sr=0,0037
	PCO	0,1515	S ² =4,27·10 ⁻⁵ ; S=0,0065; S \bar{x} =0,00119; Δx=0,0024; E,%=1,61; S=0,0043
Локсидон, капсулы 0,15 г	K ₂ Cr ₂ O ₇	0,1513	S ² =4,01·10 ⁻⁵ ; S=0,0063; S \bar{x} =0,00115; Δx=0,0024; E,%=1,56; Sr=0,0042
	K ₃ (Fe(CN) ₆)	0,1516	S ² =2,88·10 ⁻⁵ ; S=0,0054; S \bar{x} =0,00098; Δx=0,0020; E,%=1,32; Sr=0,0035
	PCO	0,1513	S ² =4,66·10 ⁻⁵ ; S=0,0068; S \bar{x} =0,0012; Δx=0,0025; E,%=1,68; Sr=0,0045
Локсидон, капсулы 0,25 г	K ₂ Cr ₂ O ₇	0,2504	S ² =1,23·10 ⁻⁵ ; S=0,0110; S \bar{x} =0,00203; Δx=0,0041; E,%=1,65; Sr=0,0443
	K ₃ (Fe(CN) ₆)	0,2505	S ² =1,15·10 ⁻⁵ ; S=0,0107; S \bar{x} =0,00195; Δx=0,0039; E,%=1,59; Sr=0,0427
	PCO	0,2503	S ² =1,27·10 ⁻⁵ ; S=0,0113; S \bar{x} =0,00206; Δx=0,0042; E,%=1,68; Sr=0,0452
Локсидон, капсулы 0,3 г	K ₂ Cr ₂ O ₇	0,3002	S ² =1,85·10 ⁻⁴ ; S=0,0136; S \bar{x} =0,00249; Δx=0,0045; E,%=1,69; Sr=0,0453
	K ₃ (Fe(CN) ₆)	0,3004	S ² =1,73·10 ⁻⁴ ; S=0,0132; S \bar{x} =0,00240; Δx=0,0049; E,%=1,63; Sr=0,0438
	PCO	0,3005	S ² =1,85·10 ⁻⁴ ; S=0,0137; S \bar{x} =0,00250; Δx=0,0051; E,%=1,70; Sr=0,0457

Была проведена валидационная оценка разработанных методик спектрофотометрического определения исследуемых препаратов в субстанциях и лекарственных формах (табл. 4).

Таблица 4 – Результаты валидационной оценки методики спектрофотометрического определения перхлорзона

Валидационные параметры	Экспериментальные значения	Допустимые значения
Специфичность	Специфична	Стандартный образец перхлорзона
Сходимость	RSD =1,59%; t _{выч} =1,94; (t _{табл} =2,04), n=30	RSD < 2%; t _{выч} ≤ t _{табл} ;
Воспроизводимость	RSD =2,21%; t _{выч} =1,79 (t _{табл} =2,04), n=30	RSD < 3%; t _{выч} ≤ t _{табл}
Линейность	y= 76,936x - 0,0135; r = 0,999	r ≥ 0,999
Аналитическая область методики	2 - 10 мкг/мл	Интервал концентраций

Результаты, представленные в таблице 4 на примере перхлозона, свидетельствуют о пригодности предложенных методик.

Оптимизация условий количественного определения перхлозона, рифабутина и теризидона методом ВЭЖХ с использованием микроколоночного хроматографа «Милихром А-02»

Разработаны методики количественного определения перхлозона, рифабутина и теризидона в лекарственных формах методом ВЭЖХ. Исследования проводили на отечественном микроколоночном жидкостном хроматографе «Милихром А-02». Для анализа выбран обращенно-фазовый вариант хроматографии.

Оптимальные условия хроматографирования: колонка ProntoSIL-120-5-C18 AQ; система растворителей для перхлозона и рифабутина – смесь аммония ацетата раствора 0,02 М (рН 6,5) и ацетонитрила в соотношении 30:70 и 85:15 соответственно, для теризидона – смесь 0,1% раствора трифторуксусной кислоты в воде и 0,1% раствора трифторуксусной кислоты в ацетонитриле в соотношении 75:25. Скорость потока 150 мкл/мин в изократическом режиме, температура колонки 35 °С.

Объёмы удерживания перхлозона, рифабутина и теризидона составляют 698 мкл, 902 мкл и 865 мкл соответственно.

Результаты количественного определения исследуемых препаратов в лекарственных формах различных дозировок методом ВЭЖХ приведены в таблице 5.

Таблица 5 – Результаты количественного определения исследуемых препаратов в лекарственной форме методом ВЭЖХ

ГЛФ	Содержание, г	Серия	\bar{X} , г	Метрологические характеристики (n=10, P=95%)
Фарбутин, капсулы	0,1500 (д.б. 0,1350-0,1650)	191118	0,1503	$S^2=6,23 \cdot 10^{-6}$; $S=0,0025$; $S\bar{x}=0,0166$; $\Delta x=0,0018$; $E, \%=1,18$; $Sr=0,0019$
Перхлозон, таблетки, покрытые оболочкой	0,2000 (д.б. 0,1900-0,2100)	41220	0,2009	$S^2=1,12 \cdot 10^{-5}$; $S=0,0033$; $S\bar{x}=0,0167$; $\Delta x=0,0024$; $E, \%=1,19$; $Sr=0,0025$
	0,4000 (д.б. 0,3800-0,4200)	31220	0,4036	$S^2=3,73 \cdot 10^{-5}$; $S=0,0061$; $S\bar{x}=0,0151$; $\Delta x=0,0044$; $E, \%=1,08$; $Sr=0,0048$
Локсидон, капсулы	0,1500 (д.б. 0,1350-0,1650)	10422	0,1499	$S^2=4,54 \cdot 10^{-6}$; $S=0,0021$; $S\bar{x}=0,014$; $\Delta x=0,0015$; $E, \%=1,02$; $Sr=0,0015$
	0,2500 (д.б. 0,2250-0,2750)	30422	0,2501	$S^2=1,33 \cdot 10^{-5}$; $S=0,0037$; $S\bar{x}=0,0146$; $\Delta x=0,0026$; $E, \%=1,04$; $Sr=0,0024$
	0,3000 (д.б. 0,2700-0,3300)	260219	0,3024	$S^2=3,25 \cdot 10^{-5}$; $S=0,0057$; $S\bar{x}=0,0189$; $\Delta x=0,0041$; $E, \%=1,34$; $Sr=0,0044$

Осуществлена оценка правильности предложенных методик на примере модельных смесей лекарственных форм перхлозона, рифабутина и теризидона с тремя уровнями концентраций (от 80 до 120 %) от заявленного количества в лекарственной форме.

В таблице 6 приведена валидационная оценка разработанных методик количественного определения перхлозона, рифабутина и теризидона по показателям: пригодность хроматографической системы (эффективность колонки, коэффициент асимметрии пика), прецизионность (сходимость, воспроизводимость), линейность результатов, стабильность раствора. Представленные данные (табл. 6) свидетельствуют о пригодности предложенных методик.

Таблица 6 – Результаты валидационной оценки методик количественного определения исследуемых препаратов в лекарственной форме методом ВЭЖХ

Критерии валидности	Допустимые значения	Полученные результаты		
		Перхлозон	Рифабутин	Теризидон
Эффективность колонки	Не менее 2000 т.т.	6630	3716	2548
Коэффициент асимметрии пика	Не более 1,5	1,11	0,9	1,0
Специфичность	-	Специфична	Специфична	Специфична
Сходимость	RSD ≤ 2,0 %	1,51	1,32	1,72
Воспроизводимость	RSD ≤ 2,0 %	1,94	1,89	1,97
Правильность	$t_{\text{выч}} < t_{\text{табл}}$ ($t_{\text{табл}} = 2,26$)	1,86	1,10	1,57
Линейность	$r \geq 0,990$	$r = 0,998$	$r = 0,999$	$r = 0,996$
Стабильность	Индивидуальна	В течение суток	В течение суток	В течение суток

Разработанные методики количественной оценки перхлозона, рифабутина и теризидона в лекарственных формах методом ВЭЖХ с УФ-детекцией на хроматографе отечественного производства «Милихром А-02» характеризуются селективностью, экспрессностью и правильностью. Кроме того, такие вспомогательные вещества, как целлюлоза, кремния диоксид коллоидный, магния стеарат и другие, которые обычно присутствуют в препаратах, не мешают определению.

Проведена сравнительная оценка результатов определения количества перхлозона, рифабутина и теризидона в лекарственных формах, полученных методами ВЭЖХ и спектрофотометрии с использованием внешних оптических образцов сравнения, которая показала, что результаты, полученные с использованием разработанных методик, близкие. Разработанные методики рекомендованы для включения в НД на исследуемые лекарственные формы как альтернативные.

Разработка условий изолирования перхлозона, рифабутина и теризидона из биологического материала

Исследовано влияние на экстракцию перхлозона, рифабутина и теризидона таких параметров, как природа органического растворителя, значение рН среды, присутствие электролита, время и кратность экстракции.

Экспериментально определено, что перхлозон наиболее эффективно изолируется этилацетатом при рН 10,0; рифабутин – дихлорметаном при рН 2,0; теризидон – этилацетатом при рН 3,0. Наличие электролита не влияет на экстракцию перхлозона, оказывает небольшое усиливающее действие на экстракцию рифабутина и значительно увеличивает выход теризидона. Изменение времени экстракции от 3 до 5 и 7 минут не влияет на выход перхлозона и рифабутина, однако увеличивает выход теризидона при экстракции в течение 5 минут. Увеличение кратности до 3-х оказало существенный эффект в случае выхода перхлозона и не повлияло на выход рифабутина и теризидона. Данные условия объединены в таблице 7 и позволяют обнаружить 83,5 % перхлозона, 98,8 % рифабутина и 78,8 % теризидона.

Таблица 7 – Оптимальные условия изолирования исследуемых лекарственных средств

Исследуемый препарат	Растворитель	рН среды	Электролит	Время экстракции (мин)	Кратность экстракции
Перхлозон	Этилацетат	10,0	-	3	3
Рифабутин	Дихлорметан	2,0	NaCl (насыщ)	3	1
Теризидон	Этилацетат	3,0	(NH ₄) ₂ SO ₄ (насыщ)	5	1

Разработанные методики были использованы для изолирования перхлозона, рифабутина и теризидона из модельных матриц биологического происхождения: биожидкостей мочи, слюны и плазмы крови, а также органов печени и лёгких. Результаты извлечения на примере перхлозона представлены в таблицах 8, 9.

Таблица 8 – Результаты извлечения перхлозона из биологических жидкостей

Объект	Внесено, г/мл	Найдено, %	Метрологические характеристики (n=6, P=0,95)
Моча	0,005	79,52	S ² =10,06; S =3,17; S \bar{x} =2,36; Sr=0,039; Δx =3,33; E,%=4,18
	0,01	75,05	S ² =8,47; S =2,91; S \bar{x} =2,25; Sr=0,039; Δx =3,06; E,%=4,07
	0,02	73,45	S ² =13,22; S =3,64; S \bar{x} =2,48; Sr=0,049; Δx =3,82; E,%=5,19
Слюна	0,0005	66,25	S ² =6,51; S =2,55; S \bar{x} =1,58; Sr=0,039; Δx =2,68; E,%=4,04
	0,00275	66,02	S ² =11,04; S =3,32; S \bar{x} =2,85; Sr=0,050; Δx =3,49; E,%=5,28
	0,0055	64,7	S ² =12,97; S =3,60; S \bar{x} =2,89; Sr=0,048; Δx =3,78; E,%=5,06
Плазма крови	0,0005	68,03	S ² =9,81; S =3,13; S \bar{x} =2,04; Sr=0,046; Δx =3,29; E,%=4,83
	0,003	66,08	S ² =11,75; S =3,43; S \bar{x} =2,59; Sr=0,052; Δx =3,59; E,%=5,44
	0,006	65,5	S ² =10,99; S =3,32; S \bar{x} =2,57; Sr=0,051; Δx =3,48; E,%=5,31

Как видно из таблицы 8, количество перхлозона, выделенное из биоматрицы плазмы крови, составило 65,50-68,08 %, из биоматрицы мочи – 73,45-79,52 %, из биоматрицы слюны – 64,70-66,25 %. Относительная ошибка определения не превышает 5,31%.

Извлечение изучаемых ЛС из биоматриц тканей органов осуществлялось тремя различными модифицированными методами: А.А. Васильевой, В.Ф. Крамаренко и Стаса-Отто, которые наиболее часто используются в химико-токсикологическом анализе. Суть модификации заключалась в комбинировании классического способа настаивания биоматериала с экстракцией в наиболее подходящих условиях для конкретного препарата.

Таблица 9 – Результаты извлечения перхлорона из биоматриц органов

Объект	Внесено, г/мл	Найдено, %	Метрологические характеристики (n=6, P=0,95)
Печень	А.А. Васильевой		
	0,005	48,0	$S^2=4,49$; $S=2,12$; $S\bar{x}=0,87$; $Sr=0,044$; $\Delta x=2,25$; $E, \%=4,64$
	0,01	51,8	$S^2=2,92$; $S=1,71$; $S\bar{x}=0,69$; $Sr=0,033$; $\Delta x=1,79$; $E, \%=3,46$
	0,02	49,1	$S^2=3,69$; $S=1,92$; $S\bar{x}=0,79$; $Sr=0,039$; $\Delta x=2,02$; $E, \%=4,11$
	В.Ф. Крамаренко		
	0,005	48,8	$S^2=3,41$; $S=1,85$; $S\bar{x}=0,75$; $Sr=0,038$; $\Delta x=1,94$; $E, \%=3,97$
	0,01	43,6	$S^2=5,98$; $S=2,44$; $S\bar{x}=0,99$; $Sr=0,055$; $\Delta x=2,57$; $E, \%=4,74$
	0,02	42,2	$S^2=2,26$; $S=1,51$; $S\bar{x}=0,61$; $Sr=0,039$; $\Delta x=1,58$; $E, \%=3,74$
	Стаса-Отто		
	0,005	44,1	$S^2=3,93$; $S=1,98$; $S\bar{x}=0,81$; $Sr=0,045$; $\Delta x=2,08$; $E, \%=4,71$
	0,01	42,4	$S^2=3,38$; $S=1,84$; $S\bar{x}=0,75$; $Sr=0,043$; $\Delta x=1,93$; $E, \%=4,56$
	0,02	43,6	$S^2=4,04$; $S=2,01$; $S\bar{x}=0,82$; $Sr=0,046$; $\Delta x=2,11$; $E, \%=4,84$
Лёгкие	А.А. Васильевой		
	0,005	61,1	$S^2=4,82$; $S=2,20$; $S\bar{x}=0,89$; $Sr=0,036$; $\Delta x=2,30$; $E, \%=3,77$
	0,01	56,4	$S^2=2,25$; $S=1,50$; $S\bar{x}=0,61$; $Sr=0,027$; $\Delta x=1,57$; $E, \%=2,79$
	0,02	50,1	$S^2=3,49$; $S=1,87$; $S\bar{x}=0,76$; $Sr=0,037$; $\Delta x=1,96$; $E, \%=3,92$
	В.Ф. Крамаренко		
	0,005	48,7	$S^2=2,98$; $S=1,73$; $S\bar{x}=0,71$; $Sr=0,034$; $\Delta x=1,81$; $E, \%=3,72$
	0,01	46,2	$S^2=1,43$; $S=1,19$; $S\bar{x}=0,49$; $Sr=0,026$; $\Delta x=1,26$; $E, \%=2,72$
	0,02	40,4	$S^2=0,93$; $S=0,96$; $S\bar{x}=0,39$; $Sr=0,024$; $\Delta x=1,01$; $E, \%=2,50$
	Стаса-Отто		
	0,005	61,1	$S^2=3,77$; $S=1,93$; $S\bar{x}=0,79$; $Sr=0,034$; $\Delta x=2,04$; $E, \%=3,57$
	0,01	56,4	$S^2=3,58$; $S=1,89$; $S\bar{x}=0,77$; $Sr=0,034$; $\Delta x=1,99$; $E, \%=3,60$
	0,02	50,1	$S^2=3,17$; $S=1,78$; $S\bar{x}=0,73$; $Sr=0,034$; $\Delta x=1,87$; $E, \%=3,54$

Как видно из таблицы 9, методом Васильевой степень извлечения перхлорона из тканей печени составила – 48,0-51,8 %, из лёгких – 50,1-61,1 %; методом Крамаренко – 42,2-48,8%, из лёгких – 40,4-48,7 %; методом Стаса-Отто – 41,1-43,6 %, из лёгких – 50,1-61,1 %. Относительная ошибка определения не превышает 4,84%.

Идентификация противотуберкулёзных ЛС при совместном присутствии с препаратами других фармакологических групп методами хроматографии при комбинированном отравлении

Туберкулёз, поражая многие системы организма, редко встречается как единственная патология у больного. Присоединение сопутствующих заболеваний вынуждает расширять терапию, вводя препараты,

корректирующие данные состояния, что обуславливает необходимость методик, позволяющих идентифицировать препараты при совместном присутствии.

Для выбора условий разделения методом ТСХ была определена хроматографическая подвижность исследуемых веществ в общих системах растворителей, наиболее часто применяемых в химико-токсикологическом анализе на этапе скрининга. Наиболее подходящей является система диоксан – хлороформ – ацетон – 25% раствор аммиака в объёмном соотношении 47,5:45:5:2,5. Анализ значений ΔR_f между зонами показал, что разделение перхлозона, рифабутина, теризидона и других лекарственных веществ идёт недостаточно чётко: наблюдается размытие зон адсорбции, а также наличие «хвостов» у многих веществ. В связи с этим возникла необходимость разработки частных систем хроматографирования, позволяющих отделить перхлозон, рифабутин и теризидон от фтивазида, пиразинамида, линезолида, левофлоксацина, анальгина, абакавира, протионамида, амитриптиллина, диазепамы, аминазина, фенобарбитала и циннаризина. Было изучено влияние органических растворителей различной полярности, основности и кислотности на хроматографическую подвижность исследуемых соединений. Варьирование соотношением компонентов позволило установить максимально эффективную систему растворителей диоксан – хлороформ – ацетон – 25 % раствор аммиака (40:40:6:3). Разработанную методику в дальнейшем использовали для анализа комбинированных сочетаний после извлечения их из модельных образцов биологических объектов.

В таблице 10 представлены результаты хроматографирования перхлозона, рифабутина и теризидона при комбинированных отравлениях с ЛС других фармакологических групп после извлечения их из модельных образцов биологических жидкостей.

Таблица 10 – Результаты разделения комбинаций исследуемых препаратов и ЛС других фармакологических групп извлечённых из модельных образцов биологических жидкостей методом ТСХ

Сочетания ЛС	Значения R_f	Сочетания ЛС	Значения R_f	Сочетания ЛС	Значения R_f
Извлечения из мочи		Извлечения из слюны		Извлечения из плазмы крови	
Перхлозон	0,38 ± 0,01	Перхлозон	0,38 ± 0,01	Перхлозон	0,38 ± 0,01
Фтивазид	0,11 ± 0,01	Фтивазид	0,11 ± 0,01	Фтивазид	0,11 ± 0,01
Пиразинамид	0,44 ± 0,01	Пиразинамид	0,44 ± 0,01	Пиразинамид	0,44 ± 0,01
Амитриптиллин	0,76 ± 0,01	Амитриптиллин	0,76 ± 0,01	Амитриптиллин	0,76 ± 0,01
Циннаризин	0,84 ± 0,01	Циннаризин	0,84 ± 0,01	Циннаризин	0,84 ± 0,01

Высокая чувствительность и селективность хроматографических методов делает их важным инструментом для идентификации родственных химических соединений, а также их продуктов гидролиза или метаболитов. В отличие от других аналитических методов, ВЭЖХ позволяет проводить исследования самых разнообразных образцов с минимальными ограничениями по их физико-химическим свойствам.

Для анализа комбинаций исследуемых препаратов и ЛС других фармакологических групп выбраны следующие условия: обращенно-фазовая хроматография с колонкой 2 x 75 мм, заполненной сорбентом ProntoSIL-120-5-S18 AQ, с использованием в качестве подвижной фазы смеси элюэтов: А – водного раствора перхлората лития 0,2 М и Б – ацетонитрила в линейном градиентном режиме элюирования, 3800 мкл от 20 % Б до 60 % Б. Скорость подачи подвижной фазы 150 мкл/мин, термостатирование 35 °С.

Результаты хроматографического определения перхлорона, рифабутина, теризидона и других лекарственных веществ после извлечения их из биоматриц представлены в таблице 11.

Таблица 11 – Результаты хроматографического анализа исследуемых соединений в предложенных условиях

Исследуемый препарат	Средний объем удерживания, V_R , мкл	Метрологические характеристики (n=6, P=95%)
Абакавир	391,2	$S_{\bar{x}}=0,37$; $\Delta x =0,96$; $E, \%=0,25$
Амитриптилин	2769	$S_{\bar{x}}=2,41$; $\Delta x =6,19$; $E, \%=0,22$
Анальгин	361	$S_{\bar{x}}=0,32$; $\Delta x =0,81$; $E, \%=0,23$
Перхлорон	224	$S_{\bar{x}}=0,316$; $\Delta x =0,81$; $E, \%=0,36$
Рифабутин	3349,8	$S_{\bar{x}}=0,58$; $\Delta x =1,49$; $E, \%=0,05$
Фенобарбитал	992,8	$S_{\bar{x}}=1,24$; $\Delta x =3,18$; $E, \%=0,32$
Циннаризин	3508,5	$S_{\bar{x}}=3,90$; $\Delta x =10,04$; $E, \%=0,29$
Фтивазид	333,2	$S_{\bar{x}}=0,37$; $\Delta x =0,96$; $E, \%=0,29$
Протионамид	594	$S_{\bar{x}}=0,77$; $\Delta x =0,81$; $E, \%=0,14$
Диазепам	1956	$S_{\bar{x}}=0,71$; $\Delta x =1,82$; $E, \%=0,10$
Линезолид	749,8	$S_{\bar{x}}=0,45$; $\Delta x =1,17$; $E, \%=0,16$
Аминазин	2989	$S_{\bar{x}}=2,41$; $\Delta x =6,19$; $E, \%=0,21$
Теризидон	799,3	$S_{\bar{x}}=0,85$; $\Delta x =2,18$; $E, \%=0,27$
Левифлоксацин	715,2	$S_{\bar{x}}=0,97$; $\Delta x =2,49$; $E, \%=0,35$

Как видно из данных, представленных в таблице, предложенные условия позволяют разделить перхлорон, рифабутин и теризидон в комбинациях с фтивазидом, пиразинамидом, линезолидом, левофлоксацином, анальгином, абакавиром, протионамидом, амитриптилином, диазепамом, аминазином, фенобарбиталом и циннаризином. Относительная ошибка определения не превышает 0,36 %.

ВЫВОДЫ

1. Оптимизированы условия и разработаны унифицированные методики количественной оценки перхлорона, рифабутина и теризидона методом СФМ в субстанциях и ЛФ с использованием в качестве ВООС: для перхлорона – калия дихромата, для рифабутина – фенолфталеина, для теризидона – калия дихромата и калия феррицианида. Относительная погрешность определения перхлорона в субстанции не превышает 0,67 %, в таблетках, покрытых оболочкой – 1,55 %, рифабутина в субстанции – 0,76 %, в капсулах – 1,61 %, теризидона в субстанции – 0,87 %, в капсулах – 1,81 %. Разработаны проекты изменений ФСП в разделе «Количественное определение».

2. Оптимизированы условия определения перхлозона, рифабутина и теризидона в ЛФ методом ВЭЖХ: колонка 2 x 75 мм, сорбент ProntoSIL-120-5 C18 AQ, скорость потока подвижной фазы 150 мкл/мин, температура колонки 35 °С, подвижные фазы: для перхлозона и рифабутина – смесь аммония ацетата раствора 0,02 М (рН 6,5) и ацетонитрила в соотношении 30:70 и 85:15 соответственно, для теризидона – смесь 0,1 % раствора ТФУ в воде и 0,1 % раствора ТФУ в ацетонитриле в соотношении 75:25, режим изократический. Относительная погрешность определения перхлозона в ЛФ не превышает 1,19 %, рифабутина – 1,18 %, теризидона – 1,34 %. Разработаны проекты изменений ФСП в разделе «Количественное определение».

3. Обоснованы особенности изолирования перхлозона, рифабутина и теризидона из растворов методом ЖЖЭ, разработаны методики изолирования и апробированы на биоматрицах биологического происхождения. Количество перхлозона, рифабутина и теризидона, выделенное из биоматрицы плазмы крови, составило 65,50-68,08, 73,07-80,11, 26,20-29,32 % соответственно; биоматрицы мочи – 73,45-79,52, 82,10-84,45, 44,70-48,40 % соответственно; биоматрицы слюны – 64,70-66,25, 78,28-81,68, 38,61-45,93 % соответственно; из тканей печени – 42,22-51,80, 55,30-67,88, 32,90-44,21 % соответственно; из лёгких – 40,43-61,12, 46,82-59,60, 32,80-41,80 % соответственно. Относительная ошибка определений находится в пределах 1,15–5,31 %.

4. Изучен характер хроматографической подвижности перхлозона, рифабутина, теризидона в сочетании с другими противотуберкулёзными, противомикробными, антиретровирусными, психотропными, седативными и обезболивающими средствами, установлены условия разделения и идентификации их с применением в качестве подвижной фазы диоксан – хлороформ – ацетон – 25 % раствор аммиака (40:40:6:3) в извлечениях из матриц биологического происхождения методом ТСХ.

5. Предложены условия разделения комбинаций перхлозона, рифабутина, теризидона в сочетании с другими ЛП фтивазидом, пиразинамидом, линезолидом, левофлоксацином, протионамидом, абакавиром, амитриптилином, аминазином, фенобарбиталом, циннаризином, анальгином, диазепамом в извлечениях из матриц биологического происхождения методом ВЭЖХ: сорбент ProntoSIL-120-5-C18 AQ, подвижная фаза: А – раствор перхлората лития 0,2 М, Б – ацетонитрил, режим элюирования градиентный, 3800 мкл от 20 до 60 % Б. Скорость подачи подвижной фазы 150 мкл/мин, термостатирование 35 °С. Относительная ошибка определения не превышает 0,36 %.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Коновалова, С. С. Исследование оптических свойств противотуберкулёзного препарата «Перхлозон» / С.С. Коновалова // Актуальные вопросы фармацевтических и естественных наук: Сборник статей Всероссийской студенч. науч.-практич. конф. с междунар. участием. – Иркутск, 2021. – С. 257-259.

2. Konovalova, S. S. Development of a method for isolating and detecting thioureidoiminomethylpyridinium perchlorate / S. S. Konovalova, E. A. Illarionova // Актуальные вопросы фармацевтических и естественных наук : Сборник статей Всероссийской студенч. науч.-практич. конф. с междунар. участием. – Иркутск, 2021. – С. 27-31.
3. Коновалова, С. С. Разработка условий спектрофотометрического определения рифабутина в лекарственных формах / С. С. Коновалова, Е. А. Илларионова // Инновационные технологии в фармации : мат-лы всероссийской науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящённой 80-летию образования фармацевтического факультета ИГМУ. – Иркутск, 2021. – С. 125-129.
4. Коновалова, С. С. Разработка методики химико-токсикологического анализа рифабутина в объектах биологического происхождения / С. С. Коновалова, Е. А. Илларионова // **Человек и его здоровье.** - 2022. – Т. 25, № 1. – С. 54-61.
5. Коновалова, С. С. Оптимизация методики спектрофотометрического анализа производного оксазолидинона / С. С. Коновалова, Е. А. Илларионова // Инновационные технологии в фармации: Мат-лы всероссийской науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящённой 100-летию со дня образования кафедры фармакологии Иркутского государственного медицинского университета. – Иркутск, 2022. – С. 100-106.
6. Коновалова, С. С. Методика химико-токсикологического анализа рифабутина в образцах биологических жидкостей / С. С. Коновалова, Е. А. Илларионова // Актуальные вопросы современной медицины: Мат-лы VI Дальневосточного медицинского молодёжного форума. – Хабаровск, 2022. – С. 282-283.
7. Коновалова, С. С. Оптимизация количественного определения теризидона методом спектрофотометрии / С. С. Коновалова, Е. А. Илларионова // **Медико-фармацевтический журнал Пульс.** – 2023. – Т. 25, № 2. – С. 71-76.
8. Konovalova, S. S. UV spectrophotometry as a promising method for quality control of anti-tuberculosis drugs / S. S. Konovalova // Сборник статей Всероссийской студенч. науч.-практич. конф. с междунар. участием. «Актуальные вопросы фармацевтических и естественных наук». – Иркутск, 2023. – С. 8-12.
9. Коновалова, С. С. Применение спектрофотометрического метода для контроля качества противотуберкулёзных лекарственных средств / С. С. Коновалова // Природные соединения и здоровье человека : Сборник научных статей Всероссийской науч.-практич. конф. студ. и молодых учёных с международным участием. – Иркутск, 2023. – С. 99-104.
10. Коновалова, С. С. Изучение особенностей изолирования тиоуреидоиминометилпиридиния перхлората из растворов / С. С. Коновалова, К. Н. Кистенева, П. С. Лыкова, Е. А. Илларионова // Неделя науки - 2023: Мат-лы Международного молодёжного форума. – Ставрополь, 2023. – С. 774-775.
11. Коновалова, С. С. Использование внешнего образца сравнения для контроля качества тиоуреидоиминометилпиридиния перхлората / С. С. Коновалова, В.

- С. Мошкович, Б. Д. Тарбаева, Е. А. Илларионова // Неделя науки - 2023: Мат-лы Международного молодёжного форума. – Ставрополь, 2023. – С. 775-776.
12. Коновалова, С. С. Разработка методики изолирования теризидона из водных растворов и биологических жидкостей / С. С. Коновалова // Мат-лы Всероссийского инновационного форума с международным участием, посвящённого 60-летию Института фармации Тюменского государственного медицинского университета. – Тюмень, 2024. – С. 87-89.
 13. Коновалова, С. С. Апробация условий извлечения производного оксазолидинона из биологических объектов / С. С. Коновалова, В. С. Мошкович, Е. А. Илларионова // Актуальные вопросы современной медицины: Мат-лы VIII Дальневосточного медицинского молодёжного форума. – Хабаровск, 2024. – С. 255-256.
 14. Коновалова, С. С. Изучение особенностей извлечения теризидона из модельных смесей жидкостей биологического происхождения / С. С. Коновалова, Б. Д. Тарбаева, В. С. Мошкович // Наука как искусство: Мат-лы 91-ой Всероссийской Байкальской науч.-практич. конф. молодых учёных и студентов с междунар. участием. – Иркутск, 2024. – С. 139-140.
 15. Коновалова, С. С. Исследование процесса экстракции теризидона из биологических объектов / С. С. Коновалова, Е. А. Илларионова, В. С. Мошкович // Инновационные технологии в фармации: Мат-лы всероссийской науч.-практ. конф. с междунар. участием. – Иркутск, 2024. – С. 57-61.
 16. Коновалова, С. С. Изучение и валидация условий хроматографического определения противотуберкулёзных препаратов / С. С. Коновалова, Е. А. Илларионова // **Вестник Смоленской государственной медицинской академии.** – 2024. – Т. 23, № 1. – С. 223-229.
 17. Коновалова, С. С. Изучение особенностей изолирования перхлорона из биологических жидкостей для целей химико-токсикологического анализа / С. С. Коновалова, Е. А. Илларионова, Н. В. Чмелевская // Судебно-медицинская экспертиза. – 2024. – Т. 67, № 6. – С. 38-41.
 18. Патент № 2828792 С1 Российская Федерация МПК G01N 33/15, G01N 33/487, G01N 30/90, G01N 1/28. Способ определения в моче, слюне и плазме крови лекарственных веществ / С. С. Коновалова, Е. А. Илларионова; Заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО ИГМУ. – № 2023134029; заявл. 14.12.2023. опубл. 21.10.2024, Бюл. № 30. – С. 8.

Список условных сокращений:

ВООС – внешний оптический образец сравнения;
ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография;
ГСО – государственный стандартный образец;
ЖЖЭ – жидкость-жидкостная экстракция;
ЛС – лекарственное средство;
ЛФ – лекарственная форма;
НД – нормативная документация;
РСО – рабочий стандартный образец;
СО – стандартный образец;
ТСХ – тонкослойная хроматография;
ФСП – фармакопейная статья предприятия.