

О. Алхамви, Е.Т. Жиликова, Д.А. Фадеева
**УФ-СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЛУКОНАЗОЛА
В ПРОТИВОГРИБКОВОМ ГЕЛЕ ДЛЯ МЕСТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ**

*ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный
исследовательский университет», г. Белгород*

Цель. Разработка и валидация методики количественного определения флуконазола в геле для местного применения методом УФ-спектрофотометрии, используемой в рутинном контроле качества и установлении сроков годности разрабатываемой лекарственной формы.

Материал и методы. В исследовании использованы субстанция флуконазола (XPAN HAOZE BIO TECHNOLOGY CO., LTD, Китай), стандартный образец флуконазола (CAS №86386-73-4, Sigma-Aldrich), витамин Д3 (CAS 67-97-0), гидроксипропилметилцеллюлоза (ГПМЦ) (CAS 9004-65-3), бензалкония хлорид (БАХ) (CAS 63449-41-2), глицерин (ООО «Тулская фармацевтическая фабрика», Россия), спирт этиловый 95% (ООО «Гиппократ», Россия), модельные образцы геля для наружного применения, изготовленные в лабораторных условиях. Количественное определение флуконазола проводилось на спектрофотометре СФ-56 (Россия).

Результаты. Разработанная методика показала высокую специфичность, линейность методики была подтверждена в диапазоне концентраций 10 – 30 мкг/мл с коэффициентом корреляции (r) 0.9992. При определении прецизионности значение относительного стандартного отклонения (RSD) составило 1,54%, что соответствует установленным критериям. Определена концентрация флуконазола в геле ($0,4890 \pm 0,0066\%$).

Заключение. Разработанная методика УФ-спектроскопического определения флуконазола в геле показала высокую специфичность и воспроизводимость. Применение предложенной методики позволяет надёжно контролировать содержание флуконазола в геле для местного применения, обеспечивая качество готовой лекарственной формы на всех этапах производства.

Ключевые слова: флуконазол, УФ-спектроскопия, гель, прецизионность, линейность.

O. Alkhamwi, E.T. Zhilyakova, D.A. Fadeeva
**UV SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION
OF FLUCONAZOLE IN ANTIFUNGAL GEL FOR TOPICAL USE**

Objective. Development and validation of a method for the quantitative determination of fluconazole in a gel for topical use by UV spectrophotometry for use in routine quality control and expiration dates of the developed dosage form.

Material and methods. The study used the substance of fluconazole (XPAN HAOZE BIO TECHNOLOGY CO., LTD, China), a standard sample of fluconazole (CAS No.86386-73-4, Sigma-Aldrich), vitamin D3 (CAS 67-97-0), hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) (CAS 9004-65-3), benzalkonium chloride (BACH) (CAS 63449-41-2), glycerin (LLC Tula Pharmaceutical Factory, Russia), 95% ethyl alcohol (Hippocrates LLC, Russia), model gel samples for external use, manufactured in the laboratory. The quantification of fluconazole was performed on an SF-56 spectrophotometer (Russia).

Results. The developed technique showed high specificity, the linearity of the technique was confirmed in the concentration range of 10-30 micrograms/ml with a correlation coefficient (r) of 0.9992. When determining the precision, the RSD value was 1.54%, which meets the established criteria. The concentration of fluconazole in the gel was determined ($0.4890 \pm 0.0066\%$).

Conclusion. The developed UV spectroscopy technique for the determination of fluconazole in gel has shown high specificity and reproducibility. The application of the proposed technique makes it possible to reliably control the content of fluconazole in the gel for topical use, ensuring the quality of the finished dosage form at all stages of production.

Key words: fluconazole, UV spectroscopy, gel, precision, linearity.

Грибковые кожные заболевания является весьма распространенными в Сирийской Арабской Республике. Согласно статистическим данным, уровень распространенности этих заболеваний составляет около 28% [1]. В результате анализа фармацевтического рынка установлено, что гель как лекарственная форма используется в Сирийской Арабской Республике относительно редко, его производство составляет менее 1% от общего объема фармацевтического рынка [2]. Однако на мировом фармацевтическом и косметическом рынке гели обладают множеством преимуществ, широко распространены и обеспечивают быстрое высвобождение действующего вещества независимо от его растворимости, легко наносятся и легко удаляются [3]. Поэтому перспективной является разработка наружных лекарственных форм для лечения грибковых заболеваний кожи и слизистых оболочек в виде геля. Одним из широко используемых противогрибковых

агентов является флуконазол – активная фармацевтическая субстанция (АФС), относящаяся к классу триазолов. Он действует путем ингибирования синтеза эргостерола, важного компонента клеточной мембраны грибов, что приводит к их гибели [4].

В связи с побочными эффектами, возникающими при пероральном применении флуконазола, а также с широким распространением грибковых заболеваний кожи возникает необходимость в разработке новых эффективных лекарственных форм для местного применения. С этой целью авторами данной статьи проведена разработка состава и технологии противогрибкового геля, содержащего флуконазол.

Одним из важнейших этапов разработки новой лекарственной формы является разработка методики идентификации и количественного определения содержания действующего вещества. В настоящее время суще-

ствует ряд методик, основанных на спектрофотометрическом или хроматографическом определении флуконазола [5]. Для разработки методики определения активной фармацевтической субстанции (АФС) в геле была выбрана УФ-спектrophотометрия как экспрессный и чувствительный метод.

Таким образом, целью исследования явились разработка и валидация методики количественного определения флуконазола в геле для местного применения методом УФ-спектrophотометрии для использования в рутинном контроле качества и установлении сроков годности разрабатываемой лекарственной формы.

Материал и методы

В исследовании использованы субстанция флуконазола (XPAN HLOZE BIO TECHNOLOGY CO., LTD, Китай), стандартный образец флуконазола (CAS №86386-73-4, Sigma-Aldrich), витамин Д3 (CAS 67-97-0), гидроксипропилметилцеллюлоза (ГПМЦ) (CAS 9004-65-3), бензалкония хлорид (БАХ) (CAS 63449-41-2), глицерин (ООО «Тульская фармацевтическая фабрика», Россия), спирт этиловый 95% (ООО «Гиппократ», Россия), модельные образцы геля для наружного применения, изготовленные в лабораторных условиях. Количественное определение флуконазола проводилось на спектрофотометре СФ-56 (Россия).

Для приготовления стандартного раствора флуконазола брали точную навеску массой 100 мг стандартного образца флуконазола, количественно переносили его в мерную колбу объемом 100 мл и растворяли в 100 мл этанола 95%, 10 мл полученного раствора переносили в мерную колбу объемом 100 мл, доводили этанолом 95% до метки. Получали стандартный раствор флуконазола, содержащий 100 мкг/мл (раствор А).

Для определения линейности методики из раствора А приготовлены серия разведений (10,15,20,25,30 мкг/мл) с использованием этанола 95%.

Приготовление раствора стандартного образца флуконазола (для количественного определения флуконазола в геле): 2 мл раствора А переносили в мерную колбу на 10 мл. Объем доводили этанолом 95% для получения стандартного раствора, содержащего 20 мкг/мл (раствор В).

Приготовление геля осуществляли следующим образом: в очищенной воде (30% от общего объема), нагретой до 75 °С, растворяли бензалкония хлорид. Полученным раствором заливали порошок ГПМЦ и диспергировали

при непрерывном перемешивании на магнитной мешалке. После полного диспергирования полимера добавляли оставшуюся часть воды комнатной температуры и перемешивали до получения гелеобразной основы. Флуконазол и витамин Д3 предварительно измельчали в ступке в сухом виде, затем смешивали с глицерином. Полученную смесь постепенно вводили в основу, тщательно перемешивая до получения массы однородной консистенции.

В рамках валидации разрабатываемой методики проводили оценку их специфичности, прецизионности (повторяемости), линейности, правильности [6].

Специфичность методов оценивается в два этапа. На первом этапе проводили сравнение УФ-спектра стандартного раствора исследуемого вещества с УФ-спектрами растворов лекарственной формы, содержащей это вещество. На втором этапе сравнивали УФ-спектры лекарственной формы без исследуемого вещества с УФ-спектрами растворов лекарственной формы, содержащих исследуемое вещество. УФ-спектр раствора лекарственной формы с исследуемым веществом должен содержать пик, аналогичный пику в спектре стандартного раствора данного вещества. При этом в УФ-спектре раствора лекарственной формы без исследуемого вещества не должно наблюдаться поглощения и пиков в исследуемом диапазоне.

Для установления прецизионности (повторяемость/сходимость) оценивали относительное стандартное отклонение (RSD%) между результатами 10 повторений измерения оптической плотности 20 мкг/мл флуконазола. RSD не должно превышать 2%.

Для установления линейности приготовлены 5 растворов исследуемой субстанции в 95% этиловом спирте в диапазоне концентраций 10-30 мкг/мл.

Калибровочный график построили на основе данных измеренных оптических плотностей растворов относительно их номинальной концентрации. Оценку линейности проводили по значению коэффициента корреляции ($r \geq 0.990$), рассчитанного по методу наименьших квадратов.

Правильность методики количественного определения флуконазола оценивали на основании соответствия линейности и прецизионности установленным критериям приемлемости.

Методика количественного определения флуконазола в приготовленном геле. Раствор геля готовили следующим образом: 1 г геля (точная навеска) переносили в мерную

колбу объемом 250 мл с 50 мл 95% спирта и перемешивали. Объем доводили до 250 мл спиртом 95% и отфильтровали. Оптическую плотность полученного раствора измеряли на спектрофотометре СФ-56 в диапазоне длин волн 220–380 нм в кювете с толщиной слоя 1 см. В качестве раствора сравнения использовали спирт этиловый 95%.

Расчет концентрации флуконазола осуществляли по формуле (1) [7]:

$$C = \frac{(A \times C_0)}{A_0} \times W \quad (1)$$

где C – концентрация испытуемого раствора геля глазного, мг/мл,

C_0 – концентрации раствора стандартного образца флуконазола, мг/мл,

A – оптическая плотность испытуемого раствора флуконазола,

A_0 – оптическая плотность раствора стандартного образца флуконазола,

W – разбавление.

Статистическую обработку данных проводили методом наименьших квадратов для построения калибровочного графика и расчёта коэффициента корреляции (r). Все расчёты выполняли с использованием стандартных функций Microsoft Excel 2019.

Результаты и обсуждение

Раствор флуконазола сканировали в диапазоне от 220 до 380 нм для определения длины волны, соответствующей наибольшему значению оптической плотности. Полученный УФ-спектр представлен на рис. 1.

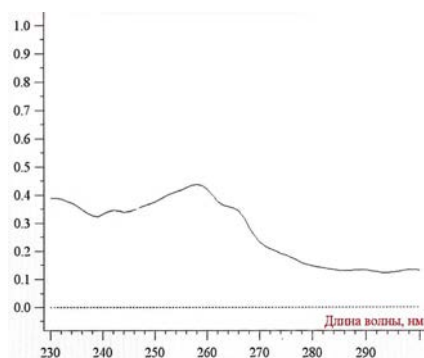


Рис. 1. УФ-спектр 20 мг/мл раствора стандартного образца флуконазола в спирте этиловом 95%

Как видно из рис. 1, максимальное значение оптической плотности было при длине волны 260 нм.

Для подтверждения специфичности методики был получен спектр поглощения геля-основы без флуконазола в этаноле 95% (рис. 2А), в области 260 нм не наблюдалось значительного поглощения, что свидетельствует об отсутствии интерференции вспомогательных веществ. При спектрофотометрировании рас-

твора геля с флуконазолом (рис. 2С) установлено, что максимум поглощения исследуемого раствора соответствует максимуму поглощения раствора стандартного образца (рис. 2В) и составляет 260 нм. Полученные результаты подтверждают специфичность разработанной методики.

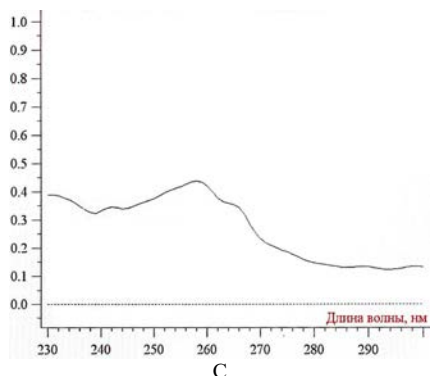
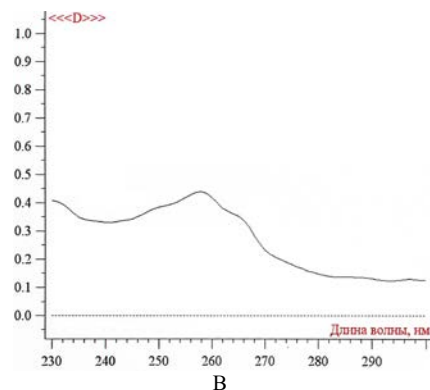
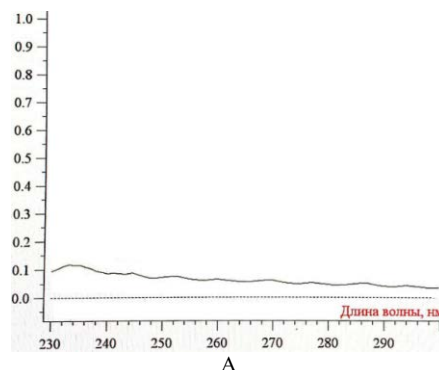


Рис. 2. УФ-спектры поглощения: раствор геля-основы (без флуконазола) (А), стандартный раствор флуконазола (В), раствор геля с флуконазолом (С).

Для установления линейности методики должны быть определены и представлены: коэффициент корреляции детерминации, свободный член линейной регрессии, угловой коэффициент уравнения линейной зависимости и остаточная сумма квадратов отклонений. Оптическую плотность стандартных растворов флуконазола в диапазоне 10–30 мкг/мл измеряли спектрофотометрически при 260 нм, используя 95% этанол в качестве раствора сравнения. Полученная линейная зависимость представлена на рис. 3.

Коэффициент корреляции (r) между 5 измеренными оптическими плотностями и соответствующими им номинальными концентрациями раствора флуконазола составил 0,9992, что соответствует установленному критерию приемлемости.

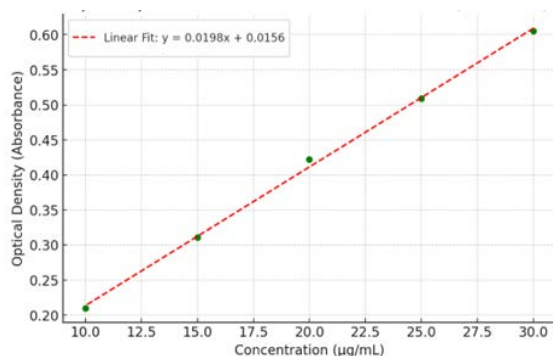


Рис. 3. Линейная зависимость оптической плотности от концентрации раствора флуконазола

Результаты статистической обработки данных, полученных в ходе исследования линейности, приведены в табл. 1.

Таблица 1

Результаты статистической обработки полученных нами данных в ходе исследования линейности		
Свободный член линейной регрессии	Угловой коэффициент уравнения линейной зависимости (b)	Остаточная сумма квадратов отклонений (RSS)
0,0156	0,0198	0,0001533

Таким образом, полученные результаты соответствуют установленным требованиям, что подтверждает линейность аналитической методики.

Оценка повторяемости/сходимости результатов 10 повторений измерения оптической плотности раствора флуконазола 20 мкг/мл продемонстрировала хорошую воспроизводимость с $\text{RSD}=1,54\%$, что удовлетворяет установленному критерию приемлемости (не должно превышать 2%). Результаты статистической обработки полученных в ходе оценки прецизионности данных представлены в табл. 2.

Таблица 2

Результаты статистической обработки данных, полученных в ходе оценки прецизионности

Субстанция, концентрация	Оптическая плотность	Среднее (μ)	Стандартное отклонение (SD)	RSD, %
Флуконазола 20 мкг/мл	0,4283	0,42156	0,0065	1,54
	0,4119			
	0,4267			
	0,4286			
	0,4274			
	0,4107			
	0,4218			
	0,4198			
	0,4187			
	0,4217			

Правильность методики определения флуконазола была подтверждена соответствием параметров линейности и прецизионности с установленным критерием приемлемости.

Таким образом, разработанная методика признана корректной и может быть использована в рутинном контроле качества предлагаемой лекарственной формы. При исследовании использовали гель, приготовленный, как описано в разделе «Материалы и методы», содержащий 0,5% флуконазола, состав которого представлен в табл. 3.

Содержание флуконазола в приготовленном геле проводили в соответствии с описанной выше методикой. Полученные результаты представлены в табл. 4.

Таблица 3

Состав противогрибкового геля с флуконазолом

Компоненты геля	Функциональные свойства компонента	Количество компонента, г
Флуконазол	Противогрибковое вещество	0,5
Витамин Д ₃	Противогрибковое вещество	0,005
Гидроксипропилметилцеллюлоза	Полимер	2,0
Глицерин	Увлажняющее вещество	5,0
Бензалкония хлорид	Эмульгатор и консервант	0,02
Вода очищенная	Растворитель	до 100,0

Таблица 4

Результаты количественного определения флуконазола в геле

A	C, %	Среднее	Стандартное отклонение (SD)	RSD, %
0,4033	0,478	A = 0,4124 C% = 0,489%	0,0066	1,61
0,4159	0,493			
0,4207	0,499			
0,4089	0,485			
0,4132	0,490			

Содержание флуконазола в противогрибковых гелях составило $0,4890 \pm 0,0066\%$, что соответствует заявленному содержанию флуконазола (0,5%) в геле.

Выводы

В результате проведенного исследования была разработана и валидирована методика количественного определения флуконазола в геле для местного применения с использованием УФ-спектроскопии. Методика показала высокую специфичность, линейность, прецизионность и правильность, что подтверждает её пригодность для анализа содержания флуконазола в лекарственных формах в процессе изготовления и при изучении стабильности разрабатываемой лекарственной формы.

Сведения об авторах статьи:

Алхамви Ола – аспирант второго года обучения по научной специальности: 3.4.1. Промышленная фармация и технология получения лекарств Института фармации, химии и биологии НИУ БелГУ. Адрес: 308007 г. Белгород, ул. Студенческая улица, 14. Email: Oalhamwi6@gmail.com.

Жиликова Елена Теодоровна – д.фарм.н., профессор, зав. кафедрой фармацевтической технологии Института фармации, химии и биологии НИУ БелГУ. Адрес: 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85. Email: EZhilyakova@bsuedu.ru.

Фадеева Дарья Александровна – к.фарм.н., доцент кафедры фармацевтической технологии Института фармации, химии и биологии НИУ БелГУ. Адрес: 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85. Email: Fadeeva@bsuedu.ru.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ismail, M.T. Epidemiological survey of dermatophytosis in Damascus, Syria, from 2008 to 2016 / M.T. Ismail, A. Al-Kafri // *Current Medical Mycology*. – 2016. – Vol. 2, № 3. – P. 32-36. – DOI: 10.18869/acadpub.cmm.2.3.32.
2. Жиликова, Е.Т. Фармацевтический рынок Сирийской Арабской Республики противогрибковых лекарственных препаратов / Е.Т. Жиликова, О. Альхамви // *Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения: электронный ресурс*. – Москва, 2023. – URL: <https://disk.yandex.ru/i/IJxTMVkkI3DRbw> (дата обращения: 10.03.2025).
3. Nishad, R.K. Formulation and Characterization of Antifungal Gel containing Fluconazole / R.K. Nishad, A.K. Shukla, J.N. Mishra // *International Journal of Advance Research and Innovative Ideas in Education*. – 2020. – Vol. 6, № 5. – P. 129-143.
4. Kaur, S. A Review on Fluconazole / S. Kaur, N. Kaur, G. Kaur, P. Kumar // *Journal of Research in Applied Sciences and Biotechnology*. – 2023. – Vol. 2, № 3. – P. 41-43. – DOI: 10.55544/jrasb.2.3.6.
5. Sadasivudu, P. Development and validation of RP-HPLC and UV methods of analysis for fluconazole in pharmaceutical solid dosage forms / P. Sadasivudu, N. Shastri, M. Sadanandam // *International Journal of ChemTech Research*. – 2009. – Vol. 1. – P. 1131-1136.
6. Об утверждении Руководства по валидации аналитических методик проведения испытаний лекарственных средств: Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 17 июля 2018 г. № 113: [электронный ресурс] // Евразийская экономическая комиссия. – 2018. – URL: <https://www.alt.ru/tamdoc/18kr0113/> (дата обращения: 27.04.2025).
7. Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях: [электронный ресурс] // Государственная фармакопея Российской Федерации. – 15-е изд. – URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/> (дата обращения: 23.04.2025).

REFERENCES

1. Ismail M.T., Al-Kafri A. Epidemiological survey of dermatophytosis in Damascus, Syria, from 2008 to 2016. *Current Medical Mycology*. 2016;2(3):32–36. DOI: 10.18869/acadpub.cmm.2.3.32. (in Engl)
2. Zhilyakova E.T., Alkhamvi O. Farmatsevticheskiy rynek Siriyskoy Arabskoy Respubliki protivogribovykh lekarstvennykh preparatov (*Pharmaceutical market of the Syrian Arab Republic for antifungal drugs*). *Sovremennye tendentsii razvitiya tekhnologiy zdorov'esbere-zheniya*. Moscow, 2023. URL: <https://disk.yandex.ru/i/IJxTMVkkI3DRbw> (accessed: 10.03.2025). (In Russ).
3. Nishad R.K., Shukla A.K., Mishra J.N. Formulation and Characterization of Antifungal Gel containing Fluconazole. *International Journal of Advance Research and Innovative Ideas in Education*. 2020;6(5):129–143. (in Engl)
4. Kaur S., Kaur N., Kaur G., Kumar P. A Review on Fluconazole. *Journal of Research in Applied Sciences and Biotechnology*. 2023;2(3):41–43. DOI: 10.55544/jrasb.2.3.6. (in Engl)
5. Sadasivudu P., Shastri N., Sadanandam M. Development and validation of RP-HPLC and UV methods of analysis for fluconazole in pharmaceutical solid dosage forms. *International Journal of ChemTech Research*. 2009;1:1131–1136. (in Engl)
6. Kollegiya Evraziyskoy ekonomicheskoy komissii. Reshenie Kollegii Evraziyskoy ekonomicheskoy komissii ot 17 iyulya 2018 g. N 113 «Ob utverzhdenii Rukovodstva po validatsii analiticheskikh metodik provedeniya ispytaniy lekarstvennykh sredstv» (*Decision of the Board of the Eurasian Economic Commission dated July 17, 2018, No. 113 «On the approval of the Guidelines for validation of analytical methods for drug testing»*). Eurasian Economic Commission. 2018. (In Russ).
7. Spektrofotometriya v ultrafioletovoy i vidimoy oblastiakh (*Spectrophotometry in ultraviolet and visible regions*). *Farmakopeya Rossiyskoy Federatsii*. 15th ed. URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/> (accessed: 23.04.2025). (In Russ).