

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

УДК 543.4:543.8

doi: 10.26907/2542-064X.2023.1.118-132

## СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ НИТРОКСОЛИНА В ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТАХ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ МЕТОДОЛОГИИ ПОВЕРХНОСТИ ОТКЛИКА

*Р.Ф. Бакеева, С.Ю. Гармонов, В.Д. Осипова, К.В. Черный,  
С.Ю. Мамыкина, В.Ф. Сопин*

*Казанский национальный исследовательский технологический университет,  
г. Казань, 420015, Россия*

### Аннотация

Кондуктометрическим методом показано, что образование мицелл в системе цетилтриметиламмоний бромид (ЦТАБ) – диметилсульфоксид (ДМСО) – вода происходит при больших критических концентрациях мицеллообразования (ККМ), чем в системе ЦТАБ – вода. Спектрофотометрическим методом определена солубилизация нитроксолина в этой системе по достижении ККМ. Дизайн Бокса – Бенкена использовали для получения систем с наибольшим светопоглощением нитроксолина в зависимости от концентрации ЦТАБ, кислотности среды pH и доли ДМСО при получении оптимальной матрицы. Использование методологии поверхности отклика при определении нитроксолина в лекарственных препаратах позволило разработать чувствительную и избирательную методику при использовании мицеллярных сред и спектрофотометрического метода анализа.

**Ключевые слова:** поверхностно-активные вещества, цетилтриметиламмоний бромид, спектрофотометрия, нитроксолин, методология поверхности отклика, планы Бокса – Бенкена, лекарственные препараты

### Введение

Лекарственные средства из группы оксихинолинов широко используются в фармации как противомикробные препараты. Одним из них является нитроксолин (5-нитрохинолинол-8, 5-НОК, NX), антибактериальное действие которого обусловлено как влиянием на синтез бактериальной ДНК, так и образованием комплексов с металлосодержащими ферментами микробной клетки. При этом он проявляет весьма широкий спектр антибактериальной активности на грамположительные и грамотрицательные бактерии. Особенностью его фармакологического действия является также достаточно высокая эффективность в отношении некоторых видов грибов (кандиды, дерматофиты, плесень, некоторые возбудители глубоких микозов) [1]. Однако полная нерастворимость в воде этой фармацевтической субстанции сильно ограничивает потенциальные возможности создания лекарственных форм на ее основе с целью дальнейшего расширения клинического использования лекарственного препарата. Повышение растворимости нитроксолина является весьма важным при проведении фармацевтического

анализа лекарственных препаратов в водных и смешанных средах в УФ- и видимой областях спектра.

Солюбилизация в мицеллах является перспективным способом повышения растворимости фармацевтических субстанций. В этом случае возможно протекание процессов концентрирования действующих веществ в мицеллярной псевдофазе за счет гидрофобных и электростатических взаимодействий, вероятность проявления которых возникает вследствие дифильного строения молекул поверхностно-активных веществ, формирующих мицеллу [2–5].

Совершенствование методов контроля содержания нитроксолина также связано с его достаточной токсичностью и необходимостью четкого соблюдения дозировки. Поскольку нитроксолин содержит хромофорные группы, наиболее доступным и простым для аналитической практики способом его определения является спектрофотометрический метод. Изучению выбора оптимальных условий определения нитроксолина содействует применение концепции Quality by Design (QbD), важной частью которой является понимание того, как параметры процесса влияют на характеристики продукта и подходы по их оптимизации [6]. Современная фармация особую важность придает соблюдению нормативных требований для обеспечения безопасности и эффективности лекарств, при этом одним из принципов QbD является разработка и внедрение стратегии контроля лекарственных веществ [7]. Очень полезна в этом смысле методология поверхности отклика с применением планов Бокса – Бенкена [8, 9]. Ранее мы использовали этот подход для определения дапсона и прокаина [10], *o*-фенилендиамина [11], 4-аминофенола [12] и показали пригодность такого подхода для улучшения аналитических характеристик. Расширение номенклатуры лекарственных средств и выбор оптимальных условий определения с помощью методологии поверхности отклика (МПО) будут способствовать выявлению универсальности предлагаемого подхода.

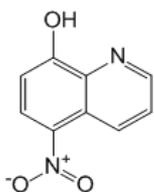
Другим аспектом, определяющим важность исследования, является использование в качестве матрицы мицеллярных систем, а именно такого их важного свойства, как солюбилизация в различных частях самоорганизованной системы [5, 13]. Это позволяет в ряде случаев осуществлять концентрирование лекарственных веществ и увеличивать интенсивность полос их поглощения.

Целью настоящей работы является оценка возможности применения методологии поверхности отклика и планов Бокса – Бенкена для создания оптимальной мицеллярной матрицы при спектрофотометрическом определении содержания нитроксолина в лекарственных препаратах.

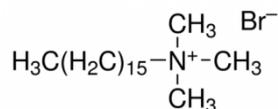
## 1. Экспериментальная часть

В качестве аналита использовали фармацевтическую субстанцию нитроксолина 98%-ной чистоты фирмы Nanjing Odyssey Chemical Industry Co., Ltd (Китай): брутто-формула  $C_9H_6N_2O_3$ , молекулярная масса 190.16 г/моль, КАС 4008-48-4.

Матрица для определения нитроксолина содержала катионное поверхностно-активное вещество (ПАВ) – цетилтриметиламмоний бромид (ЦТАБ) фирмы Fluka (США), диметилсульфоксид (ДМСО) фирмы Chemapol (Украина), деионизированную бидистиллированную воду.



Нитроксолин

Цетилтриметиламмоний бромид,  
ЦТАБ

Определение солюбилизации проводили спектрофотометрическим методом. Для этого 0.001 г нитроксолина помещали в эппендорф, заливали 2 мл раствора соответствующего состава и встряхивали в течение 24 ч на термощейкере TS-100С (Biosan, Латвия). Затем раствор отделяли и записывали спектры насыщенных растворов в системах: ЦТАБ + ДМСО (20%) + H<sub>2</sub>O (80%) (I); ЦТАБ + ДМСО (20%) + H<sub>2</sub>O (80%) + буфер pH 6.88 (II); ЦТАБ + ДМСО (20%) + H<sub>2</sub>O (80%) + HCl (0.01 моль/л) (III) при концентрациях ПАВ, соответствующих кондуктометрическим определениям.

Кондуктометрические определения проводили на кондуктометре фирмы «ВЗОР Марк 603» (Россия). Измерения проводили в системах ЦТАБ + H<sub>2</sub>O и ЦТАБ + ДМСО (20%) + H<sub>2</sub>O (80%) методом последовательных разбавлений.

Определение pH проводили на pH-метре типа pH 150 М (Гомельский завод измерительных приборов, Республика Беларусь).

Спектры поглощения записывали на спектрофотометре Agilent 8453 (Agilent Technologies, США) в спектральном диапазоне от 400 до 700 нм в кварцевых кюветах с толщиной поглощающего слоя 0.2 см для определения солюбилизации и 1 см для создания матрицы и аналитических определений.

Все эксперименты проводили при 25 °С.

**Экспериментальный дизайн.** Для оценки влияния мицеллообразования ЦТАБ, pH матрицы, доли ДМСО ( $\alpha_{\text{ДМСО}}$ ) использовали планы Бокса – Бенкена в сочетании с методологией поверхности отклика [14, 15]. Для дизайна и анализа данных использовался пакет программ Statistica 10. Статистическая модель позволила использовать меньшее количество экспериментов для оценки влияния независимых параметров на заданные отклики (оптические плотности полос поглощения). Параметры были определены на основе однофакторных экспериментов. В качестве трех ключевых независимых факторов выбраны концентрация ЦТАБ ( $C_{\text{ЦТАБ}}$ ) в системе ЦТАБ + ДМСО + H<sub>2</sub>O, кислотность pH, доля ДМСО ( $\alpha_{\text{ДМСО}}$ ). Каждая из этих переменных была оценена на низком (-1), среднем (0) и высоком (1) уровнях (табл. 1). Три центральные точки аналогичны для подтверждения воспроизводимости процесса. Число экспериментальных точек для создания матрицы планирования ( $N$ ) определялось в соответствии с уравнением:  $N = 2K(K - 1) + CP$ , где  $K$  – число независимых факторов и  $CP$  – центральная точка. Поскольку  $K = 3$ , то  $N = 15$ . В табл. 2 обобщены результаты 15 экспериментов.

Кодирование уровней факторов осуществлялось на основе экспериментальных данных по формуле  $X_i^* = (X_i - M)/H$ , где  $X_i^*$  – кодированный уровень  $i$ -го

фактора,  $X_i$  – декодированный (реальный) уровень  $i$ -го фактора,  $M$  – среднее значение, а  $H$  – полуширина интервала:

$$M = (X(\text{верхний уровень}) + X(\text{нижний уровень}))/2,$$

$$H = (X(\text{верхний уровень}) - X(\text{нижний уровень}))/2,$$

Декодирование уровней факторов выполнялось по формуле  $X_i = X_i^* H + M$ .

Полученные с помощью математического дизайна данные анализировали с применением множественного регрессионного анализа, в результате которого получили полиномы второго порядка следующего типа:

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} X_{ii} + \sum_{i=1}^3 \sum_{j=1}^3 \beta_{ij} X_i X_j,$$

где  $y$  – значение отклика, интенсивность полосы поглощения (ПП),  $\beta_0$  – свободный член,  $X_i$  – независимый фактор,  $\beta_i$ ,  $\beta_{ii}$  и  $\beta_{ij}$  – линейные, квадратичные эффекты и коэффициенты взаимодействия соответственно [14, 15].

Для расчета эффектов и построения поверхностей отклика использовали пакет программ Statistica 10.

**Методика определения нитроксолина.** Твердую лекарственную форму в виде таблеток на основе нитроксолина измельчают в порошок, берут навеску около 0.2 г (с точностью  $\pm 0.0002$  г), помещают в колбу на 25 см<sup>3</sup>, после чего в эту же колбу добавляют 10 см<sup>3</sup> ДМСО и содержимое колбы доводят до метки буферным фосфатным буферным раствором, значение рН которого составляет 7.6. Содержимое колбы перемешивают и оставляют на 1.5–2 ч для того, чтобы содержащийся в таблетке нитроксолин полностью перешел в раствор. Затем из приготовленного раствора отбирают аликвоту объемом 0.5 см<sup>3</sup> и переносят в мерную колбу на 25 см<sup>3</sup>, в которую заранее помещают навеску цетилтриметиламмоний бромида массой 0.09 г в 5 мл ДМСО, после чего в колбу добавляют 5 мл ДМСО, содержимое колбы доводят фосфатным буферным раствором с рН 7.6 и приготовленный раствор перемешивают около 1 мин. Через 10 мин после приготовления раствора производят измерение оптической плотности при 450 нм в кювете с  $l = 1$  см не менее трех раз. Используя градуировочную зависимость, которая была построена в тех же условиях, определяют количественное содержание нитроксолина в лекарственном препарате.

### Результаты и их обсуждение

Мицеллообразование в системе ЦТАБ + Н<sub>2</sub>О было установлено многими авторами. Кондуктометрическим методом нами определено значение критической концентрации мицеллообразования (ККМ), оно равно 0.000881 моль/л, что согласуется с известными данными [5]. Для установления мицеллообразования ЦТАБ в бинарном растворителе ДМСО + Н<sub>2</sub>О нами получена зависимость удельной электропроводности ( $\chi$ ) от концентрации ЦТАБ, на которой прослеживается изменение наклона при 0.0026 моль/л и которая соответствует ККМ ЦТАБ в бинарном растворителе (см. рис. 1).

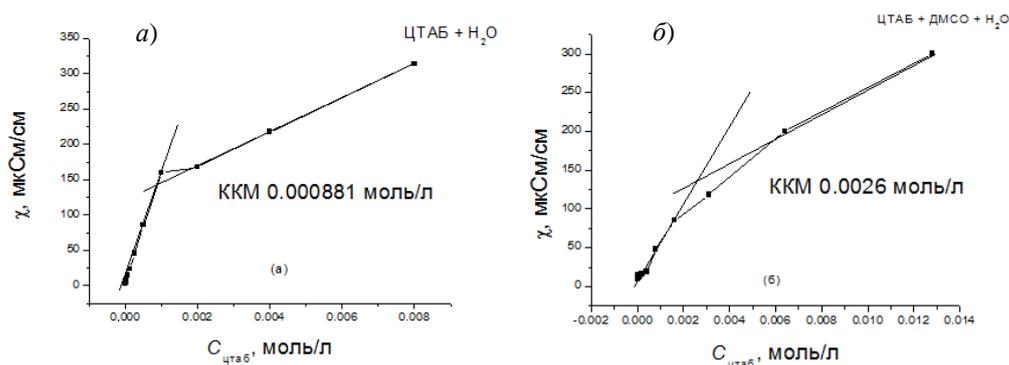


Рис. 1. Кондуктометрические кривые для систем ЦТАБ + H<sub>2</sub>O (а); ЦТАБ + ДМСО + H<sub>2</sub>O (б)

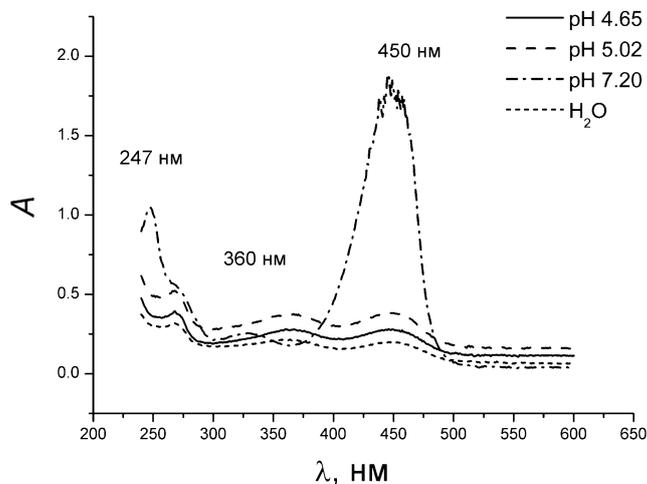


Рис. 2. Спектры нитроксолина в воде и буферных растворах

Для определения влияния pH на интенсивность полос поглощения нитроксолина были записаны спектры его насыщенных растворов в различных буферных растворах (рис. 2).

Улучшения аналитических характеристик в растворах ПАВ можно добиться при солубилизации аналита в мицеллах. Это приводит к концентрированию его и увеличению оптической плотности ПП. Были изучены спектры его насыщенных растворов в системах (I) и (II). При этом следует отметить, что в системе (I) наблюдаются три ПП во всем диапазоне концентраций ЦТАБ, которые использовались для определения ККМ кондуктометрическим методом (рис. 3).

В системе (II) для нитроксолина наблюдаются четыре ПП при 240, 270, 360 и 450 нм. Как можно видеть из рис. 4, по достижении ККМ наклон зависимости  $A = f(C_{\text{CTAB}})$  существенно меняется, но особенно он выражен для ПП при 450 нм. Изменение наклона связано с солубилизацией нитроксолина в мицеллах ЦТАБ.

Таким образом, была показана возможность инкапсулирования нитроксолина в мицеллы ЦТАБ в нейтральной среде и принципиальная возможность их дальнейшего использования в качестве наноконтейнеров. Для аналитических определений необходимо установить оптимальные условия при варьировании независимых факторов, таких как концентрация ЦТАБ, ( $C_{\text{CTAB}}$ ) до и после ККМ,

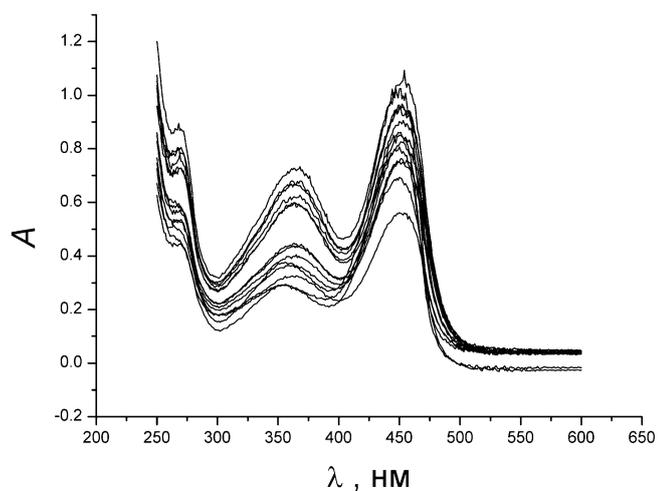


Рис. 3. Спектры поглощения насыщенных растворов нитроксолина в системе ЦТАБ + ДМСО (20%) + H<sub>2</sub>O (80%) (I),  $l = 0.2$  см, 25 °С. Спектры записаны при концентрациях ЦТАБ, соответствующих тем, которые использовались для определения ККМ

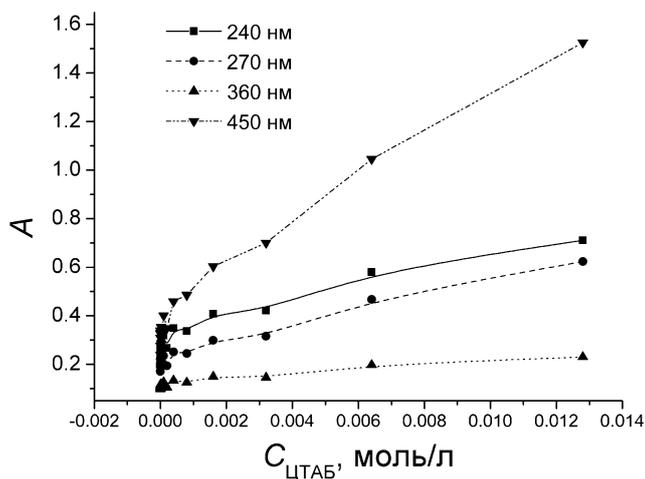


Рис. 4. Изменение интенсивности III нитроксолина в насыщенных растворах системы ЦТАБ + ДМСО (20%) + H<sub>2</sub>O (80%) + буфер рН 6.88 (II)

Табл. 1

Кодированные и декодированные значения независимых переменных (факторов) при определении условий анализа нитроксолина

Обозначение	Фактор	Уровень		
		-1 нижний	0 средний	+1 верхний
$X_1$	$C_{\text{ЦТАБ}}$ в системе I, моль/л	0.0002	0.0051	0.010
$X_2$	рН	2	4.8	7.6
$X_3$	$\alpha_{\text{ДМСО}}$	0	0.2	0.4

рН (от 2 до 7.6) и доля ДМСО ( $\alpha_{\text{ДМСО}}$  от 0 до 0.4). В табл. 1 они представлены в кодированных и декодированных значениях, а в табл. 2 – матрица планирования для трехуровневых планов Бокса – Бенкена.

Табл. 2

Факторы, фактические и кодированные уровни и расчетная матрица плана Бокса – Бенкена для определения модели, описания поверхностей отклика, нахождения оптимальных условий определения нитроксолина. Концентрация нитроксолина  $2 \cdot 10^{-5}$  моль/л,  $l = 1$  см, через 15 мин после приготовления растворов

№ опыта	Кодированные уровни факторов			Реальные (декодированные) уровни факторов			Отклик, выход продукта $y = A$		
	$X_1$	$X_2$	$X_3$	$X_1$ с <sub>ЦТАБ</sub> , моль/л	$X_2$ рН	$X_3$ $\alpha_{\text{ДМСО}}$	270 нм	360 нм	450 нм
1	-1	-1	0	0.0002	2	0.2	0.303	0.155	0.060
2	+1	-1	0	0.0100	2	0.2	0.284	0.169	0.059
3	-1	+1	0	0.0002	7.6	0.2	0.378	0.108	0.458
4	+1	+1	0	0.0100	7.6	0.2	0.449	0.133	0.469
5	-1	0	-1	0.0002	4.8	0	0.215	0.0944	0.261
6	+1	0	-1	0.0100	4.8	0	0.281	0.113	0.373
7	-1	0	+1	0.0002	4.8	0.4	0.423	0.129	0.310
8	+1	0	+1	0.0100	4.8	0.4	0.487	0.128	0.394
9	0	-1	-1	0.0051	2	0	0.223	0.197	0.086
10	0	+1	-1	0.0051	7.6	0	0.309	0.113	0.438
11	0	-1	+1	0.0051	2	0.4	0.365	0.150	0.032
12	0	+1	+1	0.0051	7.6	0.4	0.490	0.104	0.480
13	0	0	0	0.0051	4.8	0	0.230	0.121	0.328
14	0	0	0	0.0051	4.8	0	0.238	0.127	0.321
15	0	0	0	0.0051	4.8	0	0.218	0.123	0.338
16	1	1	1	0.0100	7.6	0.4	0.619	–	0.505

Уравнения, описывающие изменение целевых функций: оптической плотности ПП при 270 нм ( $A_{270}$ ) и при 450 нм ( $A_{450}$ ) – представляют собой полиномы второго порядка:

$$Y_{270} = A_{270} = 0.229 + 0.032X_1 + 0.065(X_1)^2 + 0.053X_2 + 0.060(X_2)^2 + 0.081X_3 + 0.058(X_3)^2 + 0.022X_1X_2, \quad R^2 = 0.99848,$$

$$Y_{450} = A_{450} = 0.329 + 0.0488X_1 + 0.200X_2 - 0.072(X_2)^2 - 0.002997X_3 - 0.046 X_1(X_2)^2 + 0.024X_2X_3, \quad R^2 = 0.99956,$$

где  $X_1$  – с<sub>ЦТАБ</sub> в системе I, моль/л,  $X_2$  – кислотность среды рН,  $X_3$  –  $\alpha_{\text{ДМСО}}$ .

На рис. 5, 6 приведены наиболее характерные 3D-графики поверхностей отклика  $A_{270} = f(X_1, X_2)$  и  $A_{450} = f(X_1, X_3)$ . Как следует из полученных данных, проведение аналитических измерений при 450 нм и рН 2 является нецелесообразным. При увеличении рН до 7.6 можно получить более эффективные условия определения нитроксолина. В этом случае применение МПО оказывается весьма перспективным.

Сравнительный анализ стандартизированных эффектов независимых переменных можно провести, используя диаграммы Парето при анализе интенсивности ПП при 270 и 450 нм (рис. 7). Для ПП при 270 нм основным фактором является содержание ДМСО, затем рН среды и концентрация ЦТАБ. Для ПП при 450 нм основной вклад в интенсивность ПП дает рН среды, затем концентрация ЦТАБ, а влияние ДМСО практически нивелировано.

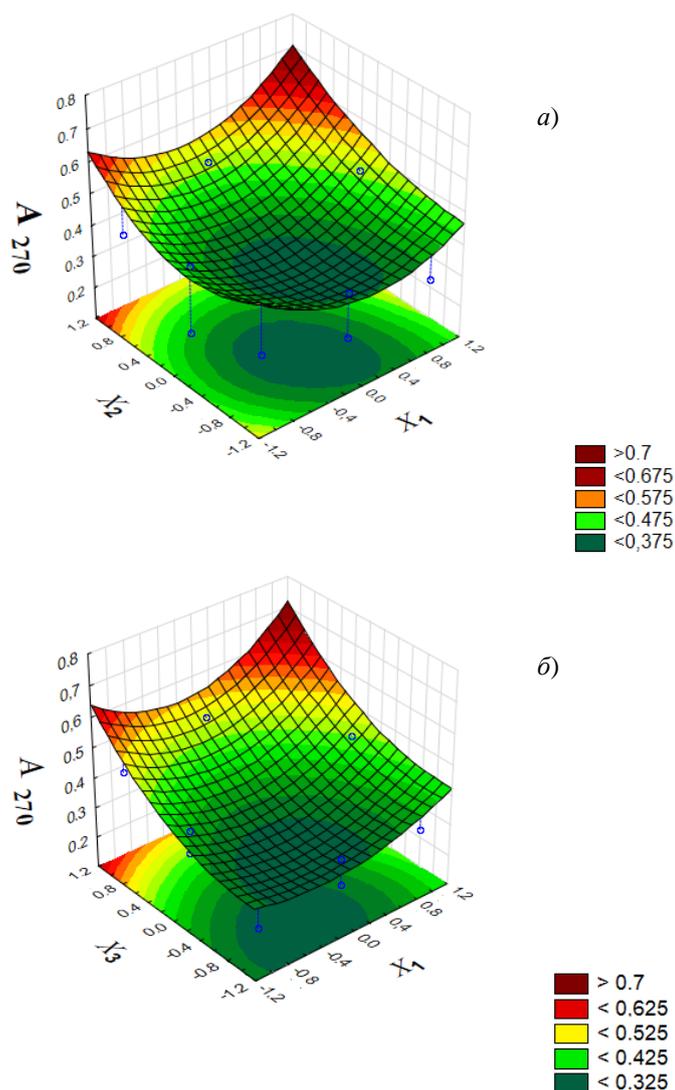


Рис. 5. 3D-графики зависимости интенсивности ПП  $A_{270}$  (а) от концентрации ЦТАБ ( $X_1$ ) и рН среды ( $X_2$ ) при  $\alpha_{\text{ДМСО}} = 0.4$ ; (б) от концентрации ЦТАБ ( $X_1$ ) и  $\alpha_{\text{ДМСО}}$  ( $X_3$ ) при рН среды 7.6

Анализ диаграмм Парето показывает, что на интенсивность ПП  $A_{270}$  положительное влияние оказывают факторы в порядке  $X_3 > X_2 > X_1$ , то есть  $\alpha_{\text{ДМСО}} < \text{pH} < C(\text{ЦТАБ})$ . На интенсивность ПП  $A_{450}$  положительное влияние оказывают  $X_2 > X_1 > X_3$ , то есть  $\text{pH} > C(\text{ЦТАБ}) > \alpha_{\text{ДМСО}}$ . В обоих случаях прослеживается эффект мицеллообразования.

Как известно, для оценки оптимизации поверхности отклика применяют функцию желательности. Прогнозируемые значения, полученные из отклика, преобразуются в безразмерную шкалу. Функция желательности находится в диапазоне от 0 до 1, где нуль указывает на неприемлемые значения отклика, а единица – на полностью желательный отклик. Для установления оптимальных условий определения нитроксолина оценены функции желательности обеих полос (рис. 8).

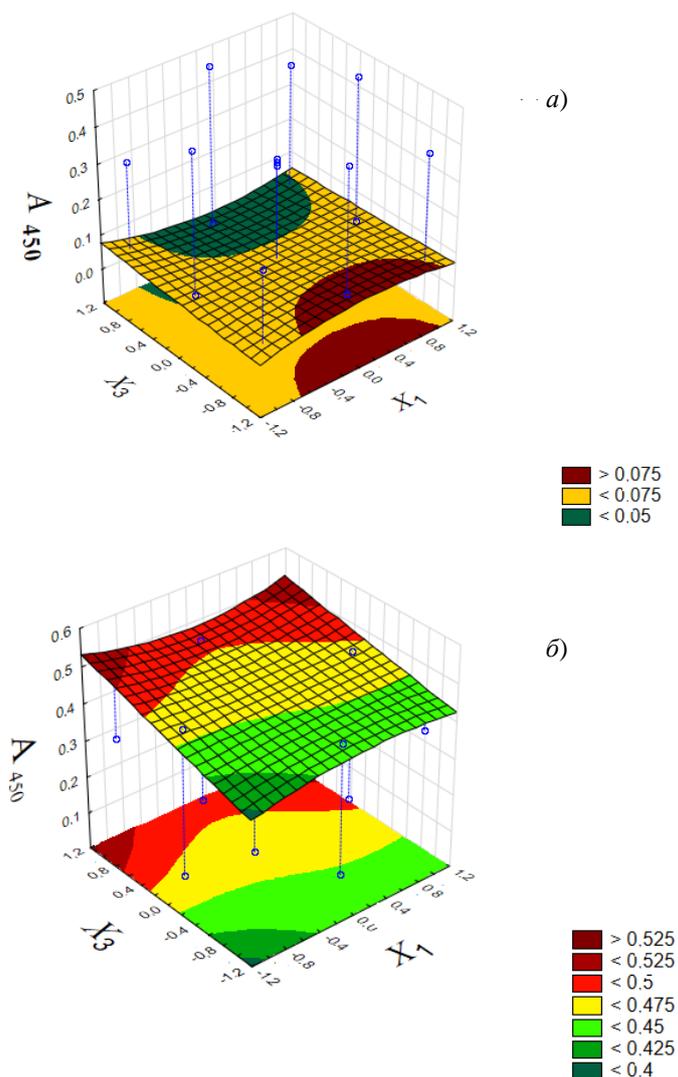


Рис 6. 3D-графики зависимости интенсивности ПП  $A_{450}$  от концентрации ЦТАБ ( $X_1$ ) и  $\alpha_{\text{ДМСО}}$  ( $X_3$ ) при pH среды ( $X_2$ ) равном: а) -1, pH 2; б) 1, pH 7.6

В кодированных значениях при использовании ПП  $A_{270}$  следует рассматривать  $X_1 = 1$ ,  $X_2 = 1$  и  $X_3 = 1$ , что соответствует  $C_{\text{ЦТАБ}} = 0.010$  моль/л, pH 7.6 и  $\alpha_{\text{ДМСО}} = 0.4$  системы I. Для оптимальных условий определения нитроксилина при ПП 450 нм показаны те же самые условия. В этих условиях проводили определение содержания нитроксилина при ПП 450 нм, поскольку краситель, входящий в состав оболочки таблеток, имеет светопоглощение в области 200–280 нм при используемых концентрациях.

Следует отметить, что в ДМСО коэффициент молярного поглощения ПП при 270 нм равен  $893 \text{ л} \cdot \text{см}^{-1} \cdot \text{моль}^{-1}$ ; при 450 нм –  $1778 \text{ л} \cdot \text{см}^{-1} \cdot \text{моль}^{-1}$ , а градуировочные зависимости имеют линейный вид

$$A_{270} = 0.3760 + 0.9393C \text{ (мг/мл)}, \quad R^2 = 0.9974;$$

$$A_{450} = 0.2186 + 1.8704C \text{ (мг/мл)}, \quad R^2 = 0.9968.$$

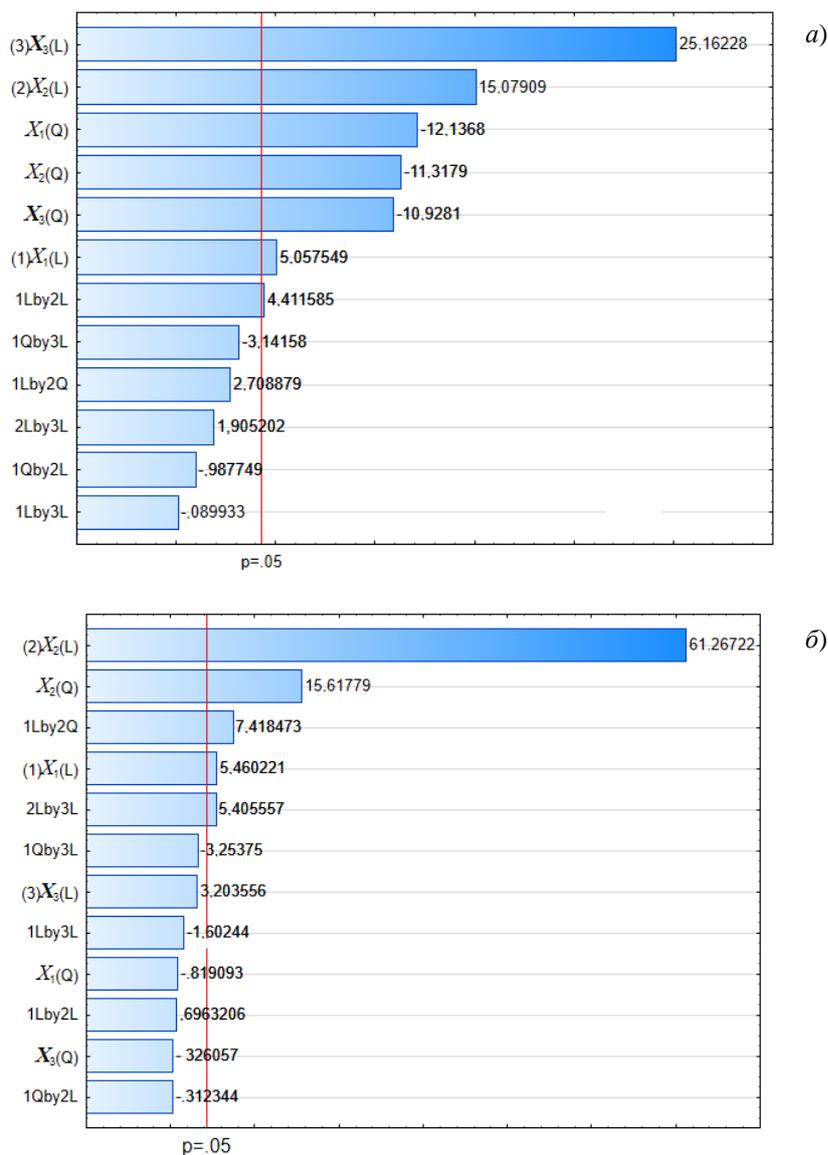


Рис. 7. Диаграммы Парето стандартизированных эффектов независимых факторов на интенсивность ПП  $A_{270}$  (а) и  $A_{450}$  (б). Рассматривались значения с уровнем значимости менее 0.05.  $X_1$  –  $C_{\text{ЦТАБ}}$  в системе (ЦТАБ + ДМСО +  $H_2O$ ), моль/л;  $X_2$  – величина pH;  $X_3$  –  $\alpha_{\text{ДМСО}}$  (L – линейные, Q – квадратичные эффекты)

В оптимальной системе коэффициент молярного поглощения при ПП 450 нм составляет  $34659 \text{ л} \cdot \text{см}^{-1} \cdot \text{моль}^{-1}$ , то есть в присутствии ЦТАБ он увеличивается в 38 раз. При этом градуировочные зависимости линейны в диапазоне концентраций нитроксолина  $10^{-4} - 10^{-2}$  мг/мл и описываются уравнениями регрессии:

$$A_{450} = 0.0415 + 182.53C \text{ (мг/мл)}, \quad R^2 = 0.9991.$$

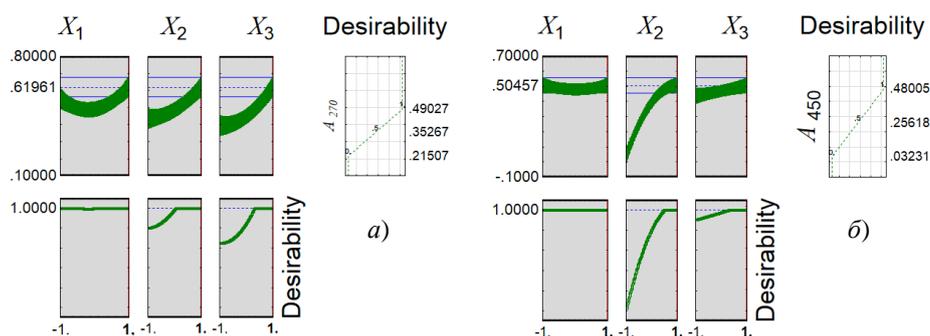


Рис. 8. Определение оптимальных условий с помощью функции желательности для  $A_{270}$  (а) и  $A_{450}$  (б)

Табл. 3

Мешающее влияние компонентов на результаты определения нитроксилина ( $n = 3$ ,  $P = 0.95$ )

Компонент (А)	$m_A$ , мг	Введено нитроксилина, мкг/мл	Найдено нитроксилина, мкг/мл	$s_r$
Лактозы моногидрат	23.0	0.380	$0.378 \pm 0.005$	0.03
Кальция стеарат	1.00	0.380	$0.382 \pm 0.005$	0.03
Сахар	67.2	0.380	$0.376 \pm 0.005$	0.03
Повидон К-17	0.174	0.680	$0.673 \pm 0.009$	0.04
Краситель «Оранжевый желтый S» (E110)	3.32 мкМ	0.680	$0.677 \pm 0.008$	0.04
Краситель «Оранжевый желтый S» (E110)	3.32 мкМ	0.990	$0.992 \pm 0.004$	0.02

Табл. 4

Результаты определения нитроксилина в лекарственных формах в виде таблеток ( $n = 3$ ,  $P = 0.95$ )

Лекарственная форма (производитель)	Содержание нитроксилина, мг/таблетку	
	Заявлено	Найдено
Нитроксилин (АО «Татхимфармпрепараты»)	50.0	$49.8 \pm 1.2$
Нитроксилин (ОАО «Ирбитский химический завод»)	50.0	$48.9 \pm 1.8$

Изучено влияние компонентов пробы (вспомогательных веществ – плацебо) на результаты аналитических определений (см. табл. 3) и установлено, что спектрофотометрическому определению нитроксилина не мешает их присутствие в широких пределах. Методика апробирована на лекарственных формах различных производителей. В табл. 4 представлены результаты определения содержания нитроксилина в готовых лекарственных формах в виде таблеток. Как видно, найденное содержание фармацевтической субстанции соответствует заявленным производителями количествам действующего вещества в лекарственной форме.

### Заключение

Кондуктометрическим методом показано, что образование мицелл в системе ЦТАБ + ДМСО + H<sub>2</sub>O происходит при ККМ больших, чем в системе ЦТАБ + H<sub>2</sub>O. Спектрофотометрическим методом определена солубилизация нитроксолина в этой системе по достижении ККМ. Дизайн Бокса – Бенкена использовали для получения систем с наибольшей оптической плотностью ПП нитроксолина в зависимости от концентрации ЦТАБ, кислотности среды pH и доли ДМСО при получении оптимальной матрицы. Применение методологии поверхности отклика при спектрофотометрическом определении нитроксолина в лекарственных препаратах позволило разработать чувствительную и избирательную методику при использовании мицеллярных сред.

### Литература

1. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии / Под ред. Л.С. Страчунского, Ю.Б. Белоусова, С.Н. Козлова. – Смоленск: Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии, 2007. – 462 с.
2. *Rosen M.J.* Surfactants and Interfacial Phenomena. – N. Y.: John Wiley & Sons, 2004. – 457 p. – doi: 10.1002/0471670561.
3. *Abe M., Scamehorn J.F.* (Eds.) Mixed Surfactant Systems. – CRC Press, 2004. – 831 p. – doi: 10.1201/9781420031010.
4. *Саввин С.Б., Чернова Р.К., Штыков С.Н.* Поверхностно-активные вещества. – М.: Наука, 1991. – 251 с.
5. *Русанов А.И.* Мицеллообразование в растворах поверхностно-активных веществ. – СПб.: Химия, 1992. – 280 с.
6. *Patil A.S., Pethe A.M.* Quality by Design (QbD): A new concept for development of quality pharmaceuticals // *Int. J. Pharm. Qual. Assur.* – 2013. – V. 4, No 2. – P. 13–19.
7. *Lawrence X.Yu* Pharmaceutical quality by design: Product and process development, understanding, and control // *Pharm. Res.* – 2008. – V. 25, No 4. – P. 781–791. – doi: 10.1007/s11095-008-9667-3.
8. *Ferreira S.L.C., Bruns R.E., Ferreira H.S., Matos G.D., David J.M., Brandão G.C., da Silva E.G.P., Portugal L.A., dos Reisc P.S., Souza A.S., dos Santos W.N.L.* Box–Behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods // *Anal. Chim. Acta.* – 2007. – V. 597, No 2. – P. 179–186. – doi: 10.1016/j.aca.2007.07.011.
9. *de Oliveira F.S., Korn M.* Spectrophotometric determination of sulphate in automotive fuel ethanol by sequential injection analysis using dimethylsulphonazo(III) reaction // *Talanta.* – 2005. – V. 68, No 3. – P. 992–999. – doi: 10.1016/j.talanta.2005.06.055.
10. *Бакеева Р.Ф., Гармонов С.Ю., Вахитова О.Е., Сопин В.Ф.* Спектрофотометрическое определение аминоксодержащих лекарственных препаратов в мицеллярных матрицах при использовании планов Бокса – Бенкена // *Журн. аналит. химии.* – 2022. – Т 77, Вып. 6. – С. 540–549. – doi: 10.31857/S0044450222060032.
11. *Бакеева Р.Ф., Вахитова О.Е., Гармонов С.Ю., Сопин В.Ф.* Дизайн мицеллярной матрицы для определения *o*-фенилендиамина в лекарственных формах спектрофотометрическим методом. Планирование и оптимизация // *Жидкие кристаллы и их практическое использование.* – 2022. – Т. 22, Вып. 2. – С. 19–31. – doi: 10.18083/LCAppl.2022.2.19.

12. *Бакеева Р.Ф., Гармонов С.Ю., Каримуллина А.А., Сопин В.Ф.* Использование методологии поверхности отклика при спектрофотометрическом определении 4-аминофенола в лекарственных препаратах // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. – 2022. – Т. 164, кн. 3. – С. 367–377. – doi: 10.26907/2542-064X.2022.3.367-377.
13. *Штыков С.Н.* Поверхностно-активные вещества в анализе. Основные достижения и тенденции развития // Журн. аналит. химии. – 2000. – Т. 55, Вып. 7. – С. 679–686.
14. *Адлер Ю.П., Маркова Е.В., Грановский Ю.В.* Планирование эксперимента при поиске оптимальных условий. – М.: Наука, 1976. – 279 с.
15. *Box G.E.P., Hunter J.S., Hunter W.G.* Statistics for Experimenters. Design, Innovation, and Discovery. – N. Y.: Wiley-Interscience, 2005. – 672 p.

Поступила в редакцию 23.01.2023

Принята к публикации 28.02.2023

---

**Бакеева Роза Фаридовна**, доктор химических наук, профессор кафедры аналитической химии, сертификации и менеджмента качества

Казанский национальный исследовательский технологический университет  
ул. Карла Маркса, д. 68, Казань, 420015, Россия  
E-mail: [gurf71@mail.ru](mailto:gurf71@mail.ru)

**Гармонов Сергей Юрьевич**, доктор химических наук, профессор кафедры аналитической химии, сертификации и менеджмента качества

Казанский национальный исследовательский технологический университет  
ул. Карла Маркса, д. 68, Казань, 420015, Россия  
E-mail: [serggar@mail.ru](mailto:serggar@mail.ru)

**Осипова Виктория Дмитриевна**, студент Казанского технологического колледжа

Казанский национальный исследовательский технологический университет  
ул. Карла Маркса, д. 68, Казань, 420015, Россия  
E-mail: [viktoria\\_31\\_03@mail.ru](mailto:viktoria_31_03@mail.ru)

**Черный Константин Вадимович**, студент Казанского технологического колледжа

Казанский национальный исследовательский технологический университет  
ул. Карла Маркса, д. 68, Казань, 420015, Россия  
E-mail: [kostya12052003@gmail.com](mailto:kostya12052003@gmail.com)

**Мамыкина Светлана Юрьевна**, преподаватель Казанского технологического колледжа

Казанский национальный исследовательский технологический университет  
ул. Карла Маркса, д. 68, Казань, 420015, Россия  
E-mail: [fatinia@kstu.ru](mailto:fatinia@kstu.ru)

**Сопин Владимир Федорович**, доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой аналитической химии, сертификации и менеджмента качества

Казанский национальный исследовательский технологический университет  
ул. Карла Маркса, д. 68, Казань, 420015, Россия  
E-mail: [vlad\\_sopin24@rambler.ru](mailto:vlad_sopin24@rambler.ru)

## ORIGINAL ARTICLE

doi: 10.26907/2542-064X.2023.1.118-132

**Spectrophotometric Determination of Nitroxoline in Medicines  
Using the Response Surface Methodology***R.F. Bakeeva*<sup>\*</sup>, *S.Yu. Garmonov*<sup>\*\*</sup>, *V.D. Osipova*<sup>\*\*\*</sup>, *K.V. Chernyj*<sup>\*\*\*\*</sup>,  
*S.Yu. Mamykina*<sup>\*\*\*\*\*</sup>, *V.F. Sopin*<sup>\*\*\*\*\*</sup>*Kazan National Research Technological University, Kazan, 420015 Russia*E-mail: <sup>\*</sup>*gurf71@mail.ru*, <sup>\*\*</sup>*serggar@mail.ru*, <sup>\*\*\*</sup>*viktoria\_31\_03@mail.ru*,  
<sup>\*\*\*\*</sup>*kostya12052003@gmail.com*, <sup>\*\*\*\*\*</sup>*fatinia@kstu.ru*, <sup>\*\*\*\*\*</sup>*vlad\_sopin24@rambler.ru*

Received January 23, 2023; Accepted February 28, 2023

**Abstract**

It was shown by the conductometric study that the formation of micelles in the cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) – dimethylsulfoxide (DMSO) – water system occurs at higher critical micelle concentrations (CMC) than in the CTAB – water system. The solubilization of nitroxoline in this system upon reaching the CMC was determined by the spectrophotometric method. The Box–Behnken design was used to obtain systems with the highest light absorption of nitroxoline, depending on the CTAB concentration, the acidity of the pH medium, and the proportion of DMSO when searching for the optimal matrix. A sensitive and selective technique suitable for micellar media and spectrophotometric analysis was developed using the response surface methodology for the determination of nitroxoline in medicines.

**Keywords:** surfactants, cetyltrimethylammonium bromide, spectrophotometry, nitroxoline, response surface methodology, Box–Behnken plans, drugs

**Figure Captions**

- Fig. 1. Conductometric curves for the systems CTAB + H<sub>2</sub>O (a) and CTAB + DMSO + H<sub>2</sub>O (b).
- Fig. 2. Nitroxoline spectra in water and buffer solutions.
- Fig. 3. Absorption spectra of saturated nitroxoline solutions in the CTAB + DMSO (20%) + H<sub>2</sub>O (80%) (I) system,  $l = 0.2$  cm, 25 °C. The spectra were recorded at CTAB concentrations corresponding to those used to determine CMC.
- Fig. 4. Change in the AB intensity of nitroxoline in saturated solutions of the CTAB + DMSO (20%) + H<sub>2</sub>O (80%) + buffer pH 6.88 (II) system.
- Fig. 5. 3D graphs of the dependence of the intensity of the A<sub>270</sub> AB (a) on the concentration of CTAB (X<sub>1</sub>) and the pH of the medium (X<sub>2</sub>) at  $\alpha_{\text{DMSO}}$  equal to 0.4 (X<sub>3</sub>); (b) on the concentration of CTAB (X<sub>1</sub>) and  $\alpha_{\text{DMSO}}$  (X<sub>3</sub>) at the medium pH 7.6 (X<sub>2</sub>).
- Fig. 6. 3D graphs of the dependence of the intensity of the A<sub>450</sub> AB on the concentration of CTAB (X<sub>1</sub>) and  $\alpha_{\text{DMSO}}$  (X<sub>3</sub>) at the pH of the medium (X<sub>2</sub>) equal to: (a) –1, pH 2 and (b) 1, pH 7.6.
- Fig. 7. Pareto diagrams of standardized effects of the independent factors on the intensity of A<sub>270</sub> (a) and A<sub>450</sub> (b) AB. Values with a significance level less than 0.05 were considered; X<sub>1</sub> – C (CTAB) in the (CTAB + DMSO + H<sub>2</sub>O) system, mol/L; X<sub>2</sub> – pH value; X<sub>3</sub> –  $\alpha_{\text{DMSO}}$  (L – linear, Q – quadratic effects).
- Fig. 8. Determination of optimal conditions using the desirability function for A<sub>270</sub> (a) and A<sub>450</sub> (b).

## References

1. Strachunskii L.S., Belousov Yu.B., Kozlov S.N. (Eds.) *Prakticheskoe rukovodstvo po antiinfektsionnoi khimioterapii* [A Practical Guide to Anti-Infective Chemotherapy]. Smolensk, Mezhhreg. Assots. Klin. Microbiol. Antimikrob. Khimioter., 2007. 462 p. (In Russian)
2. Rosen M.J. *Surfactants and Interfacial Phenomena*. New York, John Wiley & Sons, 2004. 457 p. doi: 10.1002/0471670561.
3. Abe M., Scamehorn J.F. (Eds.) *Mixed Surfactant Systems*. CRC Press, 2004. 831 p. doi: 10.1201/9781420031010.
4. Savvin S.B., Chernova R.K., Shtykov S.N. *Poverkhnostno-aktivnye veshchestva* [Surfactants]. Moscow, Nauka, 1991. 251 p. (In Russian)
5. Rusanov A.I. *Mitselloobrazovanie v rastvorakh poverkhnostno-aktivnykh veshchestv* [Micellization in Solutions of Surfactants]. St. Petersburg, Khimiya, 1992. 280 p. (In Russian)
6. Patil A.S., Pethe A.M. Quality by Design (QbD): A new concept for development of quality pharmaceuticals. *Int. J. Pharm. Qual. Assur.*, 2013, vol. 4, no. 2, pp. 13–19.
7. Lawrence X.Yu. Pharmaceutical quality by design: Product and process development, understanding, and control. *Pharm. Res.*, 2008, vol. 25, no. 4, pp. 781–791. doi: 10.1007/s11095-008-9667-3.
8. Ferreira S.L.C., Bruns R.E., Ferreira H.S., Matos G.D., David J.M., Brandão G.C., da Silva E.G.P., Portugal L.A., dos Reis P.S., Souza A.S., dos Santos W.N.L. Box–Behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods. *Anal. Chim. Acta.*, 2007, vol. 597, no. 2, pp. 179–186. doi: 10.1016/j.aca.2007.07.011.
9. de Oliveira F.S., Korn M. Spectrophotometric determination of sulphate in automotive fuel ethanol by sequential injection analysis using dimethylsulphonazo(III) reaction. *Talanta*, 2005, vol. 68, no. 3, pp. 992–999. doi: 10.1016/j.talanta.2005.06.055.
10. Bakeeva R.F., Garmonov S.Yu., Vakhitova O.E., Sopin V.F. Determination of amine-containing drugs in micellar matrices by spectrophotometry using Box–Behnken Plans. *J. Anal. Chem.*, 2022, vol. 77, no. 6, pp. 688–697. doi: 10.31857/S0044450222060032.
11. Bakeeva R.F., Vakhitova O.E., Garmonov S.Yu., Sopin V.F. Design of a micellar matrix for the determination of *o*-phenylenediamine in dosage forms by the spectrophotometric method. Planning and optimization. *Zhidk. Krist. Ikh Prakt. Ispol'z.*, 2022, vol. 22, no. 2, pp. 19–31. doi: 10.18083/LCAppl.2022.2.19. (In Russian)
12. Bakeeva R.F., Garmonov S.Yu., Karimullina A.A., Sopin V.F. Using the response surface method for the spectrophotometric determination of 4-aminophenol in drugs. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2022, vol. 164, no. 3, pp. 367–377. doi: 10.26907/2542-064X.2022.3.367-377. (In Russian)
13. Shtykov S.N. Surfactants in analysis: Progress and development trends. *J. Anal. Chem.*, 2000, vol. 55, no. 7, pp. 608–614. doi: 10.1007/BF02827992.
14. Adler Yu.P., Markova E.V., Granovskii Yu.V. *Planirovanie eksperimenta pri poiske optimal'nykh usloviy* [Planning an Experiment in the Search for Optimal Conditions]. Moscow, Nauka, 1976. 279 p. (In Russian)
15. Box G.E.P., Hunter J.S., Hunter W.G. *Statistics for Experimenters. Design, Innovation, and Discovery*. New York, Wiley-Interscience, 2005. 672 p.

**Для цитирования:** Бакеева Р.Ф., Гармонов С.Ю., Осипова В.Д., Черный К.В., Мамыкина С.Ю., Сопин В.Ф. Спектрофотометрическое определение нитроксилина в лекарственных препаратах при использовании методологии поверхности отклика // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. – 2023. – Т. 165, кн. 1. – С. 118–132. – doi: 10.26907/2542-064X.2023.1.118-132.

**For citation:** Bakeeva R.F., Garmonov S.Yu., Osipova V.D., Chernyj K.V., Mamykina S.Yu., Sopin V.F. Spectrophotometric determination of nitroxoline in medicines using the response surface methodology. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2023, vol. 165, no. 1, pp. 118–132. doi: 10.26907/2542-064X.2023.1.118-132. (In Russian)