

Експресне кількісне спектрофотометричне визначення 2-(((3-(2-фторфеніл)-5-тіо-4H-1,2,4-тріазол-4-іл)іміно)метил)фенолу як діючої речовини лікарського засобу для лікування мікозів

К. П. Медведєва^{ID}*^{1,C,D}, Р. Л. Притула^{ID}^{2,A,D}, О. П. Шматенко^{ID}^{3,E,F}, І. В. Бушуєва^{ID}*^{1,E,F},
В. В. Парченко^{ID}^{1,B,C}, Л. І. Кучеренко^{ID}^{1,F}, С. О. Васюк^{ID}^{1,E}

¹Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна, ²Національний військово-медичний клінічний центр «Головний військовий клінічний госпіталь», м. Київ, Україна, ³Українська військово-медична академія, м. Київ, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Грибок стопи (*Candida*, цвілеві гриби, дерматофіти) є доволі поширеною проблемою. За даними ВООЗ, п'ята частина населення планети має грибові ураження шкіри, особливо зростає поширеність мікозів стоп, які діагностують у кожної другої особи. Нині в Україні триває війна через повномасштабне вторгнення росії, і військові не тільки постійно отримують бойові травми та поранення, але й через активні бойові дії часто не мають доступу до необхідних засобів гігієни, мерзнуть, перегріваються на сонці та просто не встигають вчасно змінювати одяг і взуття. Часто хворі на мікоз отримують лікування запізно або й зовсім не одержують необхідної терапії. Тим часом патологія прогресує та швидко поширюється, а хворий стає джерелом інфекції. Це обґрунтовує актуальність проблеми щодо надання медичної та фармацевтичної допомоги таким пацієнтам. Розширення асортименту лікарських засобів протигрибкової дії сприятиме забезпеченню потреб Збройних сил України та цивільних пацієнтів із цією дерматологічною патологією, оптимізації схеми протигрибкової терапії. Похідні 1,2,4-тріазолу – перспективний клас органічних сполук, що привертають увагу науковців різних напрямів. Доведено, що 2-(((3-(2-фторфеніл)-5-тіо-4H-1,2,4-тріазол-4-іл)іміно)метил)фенол має високу протигрибкову активність. Потенційний лікарський препарат на основі цієї лікарської речовини може бути застосований для лікування різних дерматологічних захворювань. Для продовження створення нових ефективних лікарських форм, що призначені для терапії мікозів стоп, актуальним завданням є розроблення експресної, точної, достовірної, доступної методики кількісного визначення досліджуваної речовини.

Мета роботи – розроблення експресної, чутливої та простої у виконанні методики кількісного визначення 2-(((3-(2-фторфеніл)-5-тіо-4H-1,2,4-тріазол-4-іл)іміно)метил)фенолу методом абсорбційної УФ-спектрофотометрії.

Матеріали і методи. Об'єкт дослідження – робочий стандартний зразок 2-(((3-(2-фторфеніл)-5-тіо-4H-1,2,4-тріазол-4-іл)іміно)метил)фенолу, наданий НУНФФ ТОВ «Бровафарма» згідно з «Дослідно-виробничим технологічним регламентом виробництва 2-(((3-(2-фторфеніл)-5-тіо-4H-1,2,4-тріазол-4-іл)іміно)метил)фенолу», що розроблений на підставі наукової розробки Української військово-медичної академії сумісно з Національним військово-медичним клінічним центром «Головний військовий клінічний госпіталь» (термін дії регламенту – до 31.12.2034 року). Як розчинник використали ізопропіловий спирт кваліфікації х. ч. Аналітичне обладнання – спектрофотометр Specord 200, ваги електронні Radwag XA 210.4Y, мірний посуд класу А.

Результати. Розроблено експресну, екологічно чисту спектрофотометричну методику визначення 2-(((3-(2-фторфеніл)-5-тіо-4H-1,2,4-тріазол-4-іл)іміно)метил)фенолу за власним поглинанням в середовищі ізопропанолу з використанням I_{\max} при 310 нм. Досліджені розчини стабільні протягом щонайменше 30 хв. Аналітична методика є лінійною в діапазоні концентрацій 0,440–0,754 мг/100 мл (70–130 %). Розраховані значення LOD та LOQ становлять 5,80 % і 15,70 %. Відповідно до піктограми «зеленості» аналітичної методики за методом AGREE бал становив 0,76. Прогноз повної невизначеності – 1,70 % (при $\max \Delta A_s$ 2,00 %). Запропонована методика є актуальною, згідно з вимогами Державної Фармакопеї України, придатною для подальшого використання.

Висновки. Фармацевтична розробка, впровадження у промислове виробництво та наступне призначення лікарями-дерматовенерологами ефективного, безпечного та нешкідливого лікарського засобу допоможе розширити асортимент і знизити рівень високої імпортозалежності вітчизняного ринку лікарських засобів. Це сприятиме становленню повноцінної, збалансованої системи лікарського забезпечення в Україні та оптимізації схеми протигрибкової терапії.

Express quantitative spectrophotometric determination of 2-(((3-(2-fluorophenyl)-5-thio-4H-1,2,4-triazol-4-yl)imino)methyl)phenol as an active substance of a medicinal product for the treatment of mycoses

K. P. Miedviedieva, R. L. Prytula, O. P. Shmatenko, I. V. Bushuieva, V. V. Parchenko, L. I. Kucherenko, S. O. Vasiuk

Foot fungus (*Candida*, molds, dermatophytes) is a fairly common problem. According to the WHO, one-fifth of the world's population is affected by fungal skin diseases. The prevalence of mycosis of the feet, which affects every second person, is especially increasing. Such a pathology can appear quite unexpectedly and at an inappropriate time. Today, Ukraine is under aggressive pressure from its northern neighbor, and military personnel are not only constantly at risk of receiving combat injuries and wounds, but also due to active hostilities, they may not have access to the necessary hygiene products, get cold, overheat in the sun, or not have time to change their clothes in time. and shoes. The reality is the absence or delay of treatment; the disease progresses and can spread quickly. If mycosis has appeared in one soldier, it can quickly affect others. Therefore, the problem of providing

Ключові слова:
ecofriendly-спектрофотометрія, аналіз, похідні 1,2,4-тріазолу, Державна Фармакопея України, валідація, мікоз стоп.

Запорізький медичний журнал. 2024. Т. 26, № 1(142). С. 59-65

*E-mail: valery999@ukr.net

Keywords:
ecofriendly-spectrophotometry, analysis, 1,2,4-triazole derivatives, Pharmacopoeia, Ukraine, validation study, foot diseases, mycosis.

Zaporozhye medical journal. 2024;26(1):59-65

medical and pharmaceutical care is an urgent issue today. Expanding the assortment of drugs with the above action will ensure the needs of the Armed Forces and civilian patients with this dermatological pathology. It will be able to optimize antifungal therapy regimens. For quite a long time, 1,2,4-triazole derivatives have been a promising class of organic compounds that attract the attention of scientists from various fields. It has been proven that 2-(((3-(2-fluorophenyl)-5-thio-4*H*-1,2,4-triazol-4-yl)imino)methyl)phenol has high antifungal activity. A potential medicinal product based on this medicinal substance can be used for the treatment of various dermatological diseases. To continue the creation of new effective dosage forms for the effective therapy of mycosis of the feet, the urgent task of today is the development of an express, accurate, reliable, and affordable method of quantitative determination of the substance under study.

The aim of the work is to develop an express, sensitive and easy-to-implement UV-method for the quantitative determination of 2-(((3-(2-fluorophenyl)-5-thio-4*H*-1,2,4-triazol-4-yl)imino)methyl)phenol.

Materials and methods. The research object is a working standard sample of 2-(((3-(2-fluorophenyl)-5-thio-4*H*-1,2,4-triazol-4-yl)imino)methyl)phenol provided by NUNVF, LLC "Brovapharma" according to the "Research and production technological regulations for the production of 2-(((3-(2-fluorophenyl)-5-thio-4*H*-1,2,4-triazol-4-yl)imino)methyl)phenol" developed based on scientific developed by the Ukrainian Military Medical Academy in conjunction with the National Military Medical Clinical Center "Main Military Clinical Hospital" (term of validity of the regulations until 12/31/2034). Isopropanol of grade "chemically pure" was used as a solvent. Analytical equipment: spectrophotometer Specord 200, electronic scales Radwag XA 210.4Y, class A measuring vessels.

Results. An express, eco-friendly spectrophotometric method was developed for the quantification of 2-(((3-(2-fluorophenyl)-5-thio-4*H*-1,2,4-triazol-4-yl)imino)methyl)phenol in isopropanol area, having analytically maximum at 310 nm. The studied solutions are stable for 30 minutes. The analytical technique is linear in the range of concentrations 0.440–0.754 mg/100 ml (70–130 %). The detection and quantification limits were 5.80 % and 15.70 % respectively. The score was 0.76, according to the "greenness" icon of the analytical technique, using the tools AGREE. The prediction of the total uncertainty of the results of the developed method is 1.70 % (maxΔAs 2.00 %). The proposed method is relevant according to the requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine.

Conclusions. Pharmaceutical development, introduction into industrial production and further prescribing by dermatovenerologists of an effective, safe, and harmless medicinal product will help to expand the range and reduce the level of high import dependence of the domestic market of medicinal products, which will create a more complete and balanced system of medicinal supply in Ukraine and optimize antifungal therapy schemes.

Грибок стопи (*Candida*, цвілеві гриби, дерматофіти) є доволі поширеною проблемою. За даними ВООЗ, п'ята частина населення планети має грибові ураження шкіри, особливо зростає поширеність мікозів стоп, які діагностують у кожної другої особи. Нині в Україні триває війна через повномасштабне вторгнення росії, і військові не тільки постійно отримують бойові травми та поранення, але й через активні бойові дії часто не мають доступу до необхідних засобів гігієни, мерзнуть, перегріваються на сонці та просто не встигають вчасно змінювати одяг і взуття. Часто хворі на мікоз отримують лікування запізно або й зовсім не одержують необхідної терапії. Тим часом патологія прогресує та швидко поширюється, а хворий стає джерелом інфекції. Це обґрунтовує актуальність проблеми щодо надання медичної та фармацевтичної допомоги таким пацієнтам. Розширення асортименту лікарських засобів протигрибової дії сприятиме забезпеченню потреб Збройних сил України та цивільних пацієнтів із цією дерматологічною патологією, оптимізації схеми протигрибової терапії.

Доведено доцільність застосування ліків синтетичного походження під час терапії пацієнтів із різними захворюваннями. До переваг використання саме синтетичних молекул належить можливість їхнього постійного вдосконалення, що сприяє підвищенню ефективності, а також подеколи зменшенню токсичності.

Похідні 1,2,4-тріазолу – перспективний клас органічних сполук, що вже доволі давно знаходяться у центрі уваги науковців різних напрямів [1,2,3]. Володіючи широким спектром переваг, похідні 1,2,4-тріазолу зарекомендували себе як біологічно активні сполуки, що є своєрідним «фундаментом» для пошуку нових перспективних молекул [4,5,6,7].

У сучасній фармацевтичній науці пошук нових перспективних молекул серед похідних 1,2,4-тріазолу

та розроблення ефективних лікарських форм є актуальними, мають важливе теоретичне і практичне значення. Відомо, що 2-(((3-(2-фторфеніл)-5-тіо-4*H*-1,2,4-тріазол-4-іл)іміно)метил)фенол характеризується високою протигрибовою активністю [8]. Методика синтезу та фізико-хімічні властивості цієї сполуки описано в роботі [9]. Актуальність створення нового, простого та експресного методу кількісного визначення для впровадження 2-(((3-(2-фторфеніл)-5-тіо-4*H*-1,2,4-тріазол-4-іл)іміно)метил)фенолу (рис. 1) та розроблення нових лікарських форм на основі цієї сполуки є беззаперечною.

Мета роботи

Розроблення експресної, чутливої та простої у виконанні методики кількісного визначення 2-(((3-(2-фторфеніл)-5-тіо-4*H*-1,2,4-тріазол-4-іл)іміно)метил)фенолу методом абсорбційної УФ-спектрофотометрії.

Матеріали і методи дослідження

Об'єкт дослідження – робочий стандартний зразок 2-(((3-(2-фторфеніл)-5-тіо-4*H*-1,2,4-тріазол-4-іл)іміно)метил)фенолу, наданий НУНВФ ТОВ «Бровафарма» згідно з «Дослідно-виробничим технологічним регламентом виробництва 2-(((3-(2-фторфеніл)-5-тіо-4*H*-1,2,4-тріазол-4-іл)іміно)метил)фенолу», що розроблений на підставі наукової розробки Української військово-медичної академії сумісно з Національним військово-медичним клінічним центром «Головний військовий клінічний госпіталь» (термін дії регламенту – до 31.12.2034 року). Розчинник – ізопропіловий спирт (х. ч.).

Аналітичне обладнання – спектрофотометр Specord 200, ваги електронні Radwag XA 210.4Y, мірний посуд класу А.

Дослідження здійснили на базі кафедри аналітичної хімії Запорізького державного медико-фармацевтичного університету.

Методика кількісного визначення досліджуваної речовини. Точну наважку субстанції (0,0150 г) вміщують у мірну колбу ємністю 250,0 мл, розчиняють у спирті ізопропіловому та доводять до позначки цим же розчинником, перемішують. У мірну колбу ємністю 10,00 мл вміщують 1,00 мл одержаного розчину, доводять до позначки спиртом ізопропіловим, перемішують. Абсорбцію досліджуваного розчину вимірюють на фоні ізопропанолу при 310 нм.

Результати

УФ-спектр характеризується чіткою смугою поглинання при 300–390 нм (λ_{\max} 310 нм). Смуга поглинання є придатною для кількісного визначення, оскільки є характерною, знаходиться у селективній області спектра та має пологий максимум, що зменшує похибку визначення (рис. 2).

Для розроблення методики кількісного визначення досліджуваної речовини розчинник обрали, спираючись на дані щодо розчинності препарату, а також враховуючи доступність і меншу токсичність розчинника. Згідно з даними, що попередньо одержані експериментальним шляхом, досліджувана речовина є нерозчинною у воді, але розчиняється у ДМСО, діоксані, а також в ізопропіловому спирті [9]. Як найбільш доступний і менш токсичний розчинник для розроблення методики обрали ізопропанол.

Наступний етап дослідження – вивчення стабільності аналізованих розчинів. Зазвичай треба довести, що систематична похибка δ , яка спричинена нестабільністю, не перевищує критичного δ_{\max} (0,640, при $V = 2\%$ для субстанцій) [10]. Для цього абсорбцію розчину, що спектрофотометрують, вимірювали на фоні розчинника кожні 5 хв. Незначуща різниця отриманих даних ($\Delta_t \leq \delta_{\max}$) свідчить про стабільність розчинів протягом щонайменше 30 хв (табл. 1).

Експериментально встановлені оптимальні умови покладені в основу розроблення спектрофотометричної методики кількісного визначення досліджуваної сполуки за власним поглинанням. Попередньо встановили межі концентрацій, в яких встановили підпорядкованість основному закону світлопоглинання (закону Бера), розраховували величини питомих показників поглинання ($A_{1\text{см}}^{1\%}$). Питомий показник поглинання обрахували за загальноприйнятою формулою. Для кількісного визначення обирали інтервал концентрацій, в якому одержані значення були постійними або в межах допустимих відхилень. Результати розрахунків наведено в таблиці 2.

За розробленою методикою виконали дев'ять визначень у межах обраного інтервалу (три концентрації (0,80 мл, 1,00 мл, 1,20 мл 0,0060 % розчину) / три визначення для кожної) методом стандарту. Абсорбцію вимірювали на фоні ізопропанолу.

На основі результатів кількісного вмісту, що розраховані за відомими формулами та переведені в нормалізовані координати, встановили середнє значення (%), відносне стандартне відхилення (S_z , %) та відносний довірчий інтервал ($\Delta\%$) [10].

За даними, що наведені в таблиці 3, однібічний довірчий інтервал не перевищує максимально припусти-

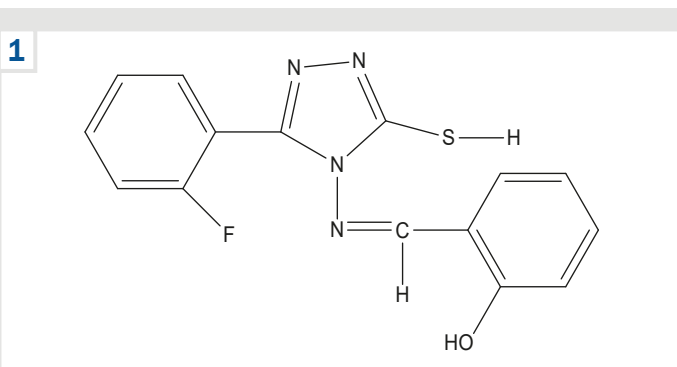


Рис. 1. Структурна формула 2-(((3-(2-фторфеніл)-5-тіо-4H-1,2,4-тріазол-4-іл)іміно)метил) фенолу.

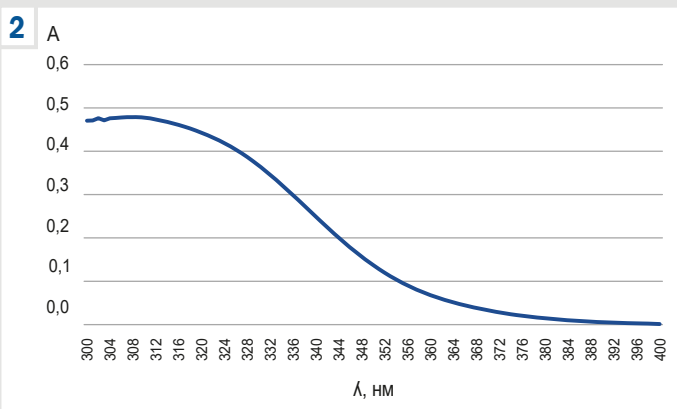


Рис. 2. УФ-спектр поглинання 2-(((3-(2-фторфеніл)-5-тіо-4H-1,2,4-тріазол-4-іл)іміно)метил) фенолу в ізопропанолі.

Таблиця 1. Стабільність аналізованих розчинів у часі

t, хв	A		
0	0,6531		
5	0,6509		
10	0,6561		
15	0,6539		
20	0,6568		
25	0,6520		
30	0,6538		
Середнє	RSD _t , %	Δ_t , %	δ_{\max} , %
0,6538	0,210	0,408	0,640

Таблиця 2. Значення питомих показників поглинання та меж концентрацій, у яких спостерігали підпорядкованість закону Бера

Речовина	λ_{\max} , нм	Інтервал концентрацій, мг/100 мл	$A_{1\text{см}}^{1\%} (\bar{x} \pm \Delta\bar{x})$
2-(((3-(2-фторфеніл)-5-тіо-4H-1,2,4-тріазол-4-іл)іміно)метил) фенол	310	0,440–0,754	825 ± 15

Таблиця 3. Результати кількісного визначення (n = 9, p = 0,95)

Речовина	Метрологічні характеристики			
	$\bar{Z}\%$	S_z , %	$\Delta\%$	$\Delta A_z\%$
2-(((3-(2-фторфеніл)-5-тіо-4H-1,2,4-тріазол-4-іл)іміно)метил) фенол	99,3	0,500	0,930	2,00

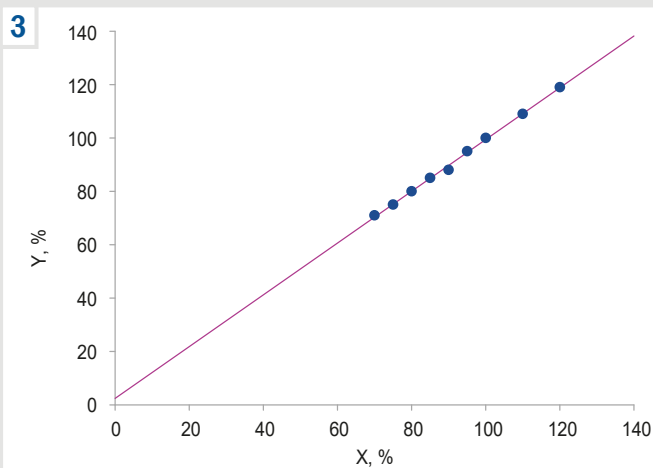


Рис. 3. Графік лінійної залежності абсорбції від концентрації речовини.

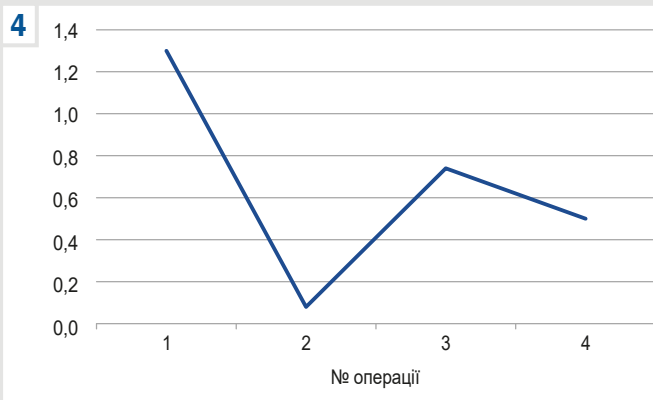


Рис. 4. Розподіл невизначеності пробопідготовки за операціями для кількісного визначення.

Таблиця 4. Параметри лінійної залежності

Величина	Значення	Критерій	Висновок
$b \pm (S_b)$	$0,9698 \pm (0,0164)$	–	–
$a \pm (S_a)$	$2,438 \pm (1,522)$	$a < t(95\%, 7) \cdot S_a = 1,895 \cdot S_a$	виконується
$S_{x_0}(\%)$	0,7828	$\leq \Delta A_s(\%) / t(95\%, 7) = 1,056$	виконується
R^2	0,9980	$> 0,9663$	виконується
LOD, %	5,18	–	виконується
LOQ, %	15,7	–	виконується

Таблиця 5. Розрахунок невизначеності пробопідготовки для кількісного визначення

Операція пробопідготовки	Параметр розрахункової формули	Невизначеність, %
Розчин		
Взяття навашки	m_0	0,20 mg / 15 mg · 100 % = 1,3 %
Доведення до об'єму в мірній колбі	250	0,080 %
Взяття аліквоти піпеткою	1	0,74 %
Доведення до об'єму в мірній колбі	10	0,50 %
$\Delta_{SP} = \sqrt{(1,3^2 + 0,080^2 + 0,74^2 + 0,50^2)} = 1,6 \%$		

му невизначеність аналізу ($\max \Delta A_s\%$) для субстанцій, тому результати кількісного визначення досліджуваної речовини збігаються, а методика є точною та прийнятною для подальшого використання.

Лінійність і діапазон застосування методики. Лінійність визначали в межах концентрацій 70–130 % від номінальної кількості досліджуваної речовини [11]. Розчини з відомою концентрацією отримували шляхом розведення стандартного 0,0060 % розчину: 0,70 мл, 0,75 мл, 0,80 мл, 0,85 мл, 0,90 мл, 0,95 мл, 1,00 мл, 1,10 мл, 1,20 мл вміщували в колби ємністю 10,00 мл, доводили розчинником до позначки, перемішували. Абсорбцію вимірювали на фоні ізопропанолу при 310 нм. Для встановлення параметрів лінійної залежності будували калібрувальний графік у нормалізованих координатах згідно з вимогами Державної Фармакопеї України (ДФУ) (рис. 3).

Параметри лінійної залежності розраховували методом найменших квадратів. Встановили залежність $y_1 = 0,9698 x_1 + 2,438$. Обчислені дані, коефіцієнти b , a , стандартні відхилення для b та $a - S_b$, S_a , залишкове стандартне відхилення $S_{x_0}(\%)$ та коефіцієнт кореляції r наведено у таблиці 4.

Одержані згідно з ДФУ числові показники свідчать, що дотримано усіх вимог щодо параметрів лінійної залежності, тобто лінійність методики підтверджена в обраних діапазонах концентрацій.

Щодо межі виявлення (LOD) та межі кількісного визначення (LOQ), то вони не є обов'язковими під час валідації методики кількісного визначення, але є доволі інформативними щодо того, наскільки діапазон застосування методики перевершує її граничні можливості («запас точності» методики). Відповідно до ДФУ та Британської Фармакопеї [11, 12], LOD і LOQ можуть бути розраховані за стандартним відхиленням вільного члена лінійної залежності S_a та її кутом нахилу b , враховуючи збіжність у нормалізованих координатах значення величини b до одиниці [10]:

$$LOD = 3,3 \times S_a / b \cong 3,3 \times S_a;$$

$$LOQ = 10 \times S_a / b \cong 10 \times S_a.$$

Виходячи з того, що калібрувальний графік будували в нормалізованих координатах, значення LOD і LOQ наведені у відсотках щодо концентрації аналізованого розчину. Це дає змогу легко оцінити «запас точності» методики. За даними, що наведені в таблиці 4, ці значення істотно менші за нижнє значення діапазону концентрацій (70 %), тому вони не можуть вплинути на точність аналізу.

Повна невизначеність аналітичної методики. Зазвичай розроблення методики здійснюють в одній лабораторії, рівень обладнання якої може бути значно вищим за припустимий ДФУ. Тому при відтворенні в іншій лабораторії ця методика даватиме некоректні результати. Для виключення цього обов'язково здійснюють прогнозування повної невизначеності результатів аналізу, що не повинна перевищувати максимальне припустиме невизначеність результатів аналізу $\max \Delta A_s$.

Формула для розрахунку прогнозу повної невизначеності:

$$\Delta_{As} = \sqrt{(\Delta_{SP}^2 + \Delta_{FAO}^2)},$$

де Δ_{SP} – невизначеність пробопідготовки методики; Δ_{FAO} – прогнозована невизначеність кінцевої аналітичної операції (0,70 % для спектрофотометрії в видимій області спектра).

Таблиця 6. Параметри розробленої методики, згідно з 12 принципами AGREE

1	Слід застосовувати прямі аналітичні методи, щоб уникнути додаткової пробопідготовки зразків	пробопідготовка off-line, мануально	0,48
2	Метою є мінімальний розмір вибірки та мінімальна кількість вибірок	напівмікроаналіз 10–100 мл	0,70
3	<i>In situ</i> вимірювання	on-line	0,66
4	Інтеграція аналітичних процесів та операцій економить енергію, зменшує використання реагентів	не більш, ніж 3 операції	1,00
5	Слід обирати автоматизовані та мініатюрні методи	напівавтоматизований метод, мініатюрний	0,75
6	Слід уникати дериватизації	немає	1,0
7	Слід уникати утворення великого об'єму аналітичних відходів і забезпечувати належне поводження з аналітичними відходами	~10 g (ml)/1 аналіз	0,4
8	Багатопараметричні методи є кращими порівняно з методами, що використовують одну аналізовану пробу за раз	~30 вимірювань/1 год	0,90
9	Необхідно знизити використання енергії	<0,1 кВт УФ- та видима спектрофотометрія	1,00
10	Слід надавати перевагу реагентам, що одержані з відновлюваних джерел	частково надана	0,50
11	Токсичні реагенти слід виключити або замінити	легкозаймистий	0,80
12	Необхідно підвищити безпеку оператора	легкозаймистий	0,80

Прогноз невизначеності пробопідготовки (Δ_{SP}) визначення вмісту 2-(((3-(2-фторфеніл)-5-тіо-4H-1,2,4-тріазол-4-іл)іміно)метил)фенолу наведено в таблиці 5.

Проаналізувавши дані, що наведені на рис. 4, встановили: найбільшу невизначеність у пробопідготовку вносить операція 1 – взяття наважки аналізованої речовини на аналітичних вагах. Такий розподіл є цілком характерним при контролі лікарських речовин і додатково демонструє низьку межу виявлення досліджуваної речовини за розробленою методикою:

$$\Delta As = \sqrt{(\Delta_{SP}^2 + \Delta_{FAO}^2)} = \sqrt{(1,6^2 + 0,70^2)} = 1,7 \%$$

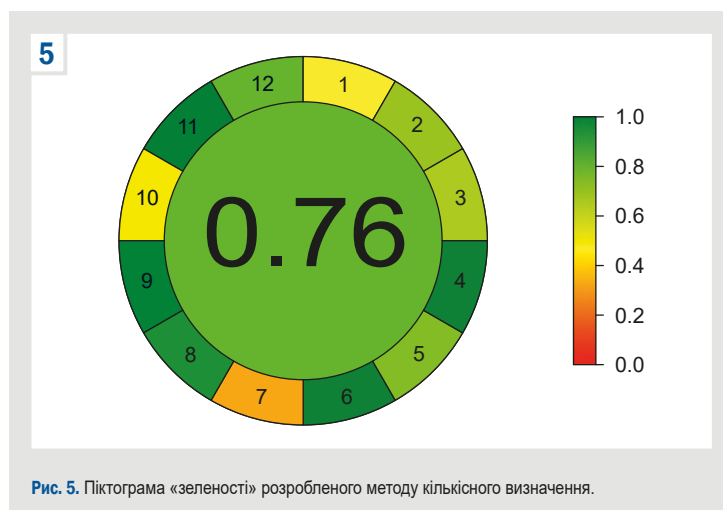
Визначили, що прогнозована повна невизначеність результатів аналізу не перевищує максимально припустиму невизначеність аналізу $\max \Delta As$ (2,0 %). Тому можна стверджувати, що методика даватиме коректні результати і в інших лабораторіях.

Оцінювання впливу аналітичної методики на довкілля. Один із пріоритетів під час розроблення методики аналізу – її екологічність і безпечність для довкілля. Оцінювання «зеленості» розробленого спектрофотометричного методу визначення вмісту 2-(((3-(2-фторфеніл)-5-тіо-4H-1,2,4-тріазол-4-іл)іміно)метил)фенолу здійснювали за допомогою застосування AGREE (Analytical GREENness) [13,14].

Критерії оцінювання взяті з 12 принципів зеленої аналітичної хімії (значущості) і трансформовані в уніфіковану шкалу 0–1. Підсумковий бал розраховують, ґрунтуючись на принципах значущості (табл. 6).

У середині піктограми – загальна оцінка. Її значення близьке до 1, а також зелений колір центру піктограми свідчать, що процедура, яку оцінювали, є екологічною. Ефективність процедури за кожним критерієм оцінювання позначена кольором у сегменті з номером, що відповідає критерію. У прикладі, що наведений на рис. 5, бали, які відповідають 1, 7 та 10 принципам AGREE, є нижчими, а для принципів 4, 6, 8 і 11 результативність є чудовою.

Загальна оцінка методу становила 0,76, тому можна стверджувати, що спектрофотометричний метод кількісного визначення досліджуваної речовини за власним поглинанням у середовищі ізопропілового спирту є екологічно чистим.



Обговорення

Узагальнивши відомості фахової літератури, не виявили відомостей щодо наявності будь-яких методик кількісного визначення 2-(((3-(2-фторфеніл)-5-тіо-4H-1,2,4-тріазол-4-іл)іміно)метил)фенолу. Це підтверджує, що ця методика є абсолютно новою та унікальною.

Доцільність та актуальність розроблення швидкого, неекстракційного, «зеленого» та високочутливого спектрофотометричного методу кількісного визначення досліджуваної речовини не викликає сумнівів. Обрахована повна невизначеність аналізу дає можливість апробувати цю методику в інших лабораторіях.

Висновки

1. Окреслено проблему необхідності вчасного лікування мікозу стоп для запобігання його швидкому поширенню у військовослужбовців у межах надання медичної, фармацевтичної допомоги, а також у цивільних пацієнтів.

2. Розроблено чутливу, економічну та швидку спектрофотометричну методику кількісного визначення 2-(((3-(2-фторфеніл)-5-тіо-4H-1,2,4-тріазол-4-іл)іміно)метил)фенолу за власним поглинанням.

3. Досліджено оптимальні умови визначення в середовищі ізопропанолу з використанням I_{\max} при 310 нм, доведено стабільність досліджуваних розчинів у часі.

4. Визначено межі концентрацій, у яких виконується закон Бера (0,440–0,754 мг/100 мл), параметри лінійної залежності розраховано згідно з вимогами ДФУ.

5. Проведено прогноз повної невизначеності результатів методики кількісного визначення для оцінювання правильності відтворення її в інших лабораторіях.

6. Обраховано та доведено екологічність методики, згідно з Analytical GREENness (AGREE), бал становив 0,76.

7. Впровадження розробленої ecofriendly-спектрофотометричної методики у роботу лабораторій, здійснення доклінічних досліджень і наступне призначення лікарями-дерматовенерологами ефективного, безпечного та нешкідливого лікарського засобу допоможе розширити асортимент і знизити рівень високої імпортозалежності вітчизняного ринку лікарських засобів. Це сприятиме становленню повноцінної, збалансованої системи лікарського забезпечення в Україні та оптимізації схеми протигрибкової терапії.

Перспективи подальших досліджень полягають у розробленні параметрів стандартизації потенційних лікарських форм з 2-(((3-(2-фторфеніл)-5-тіо-4H-1,2,4-тріазол-4-іл)іміно)метил)фенолом. Результати досліджень доцільно впровадити у медичну практику для лікування протигрибкових патологій і надання медичної, фармацевтичної допомоги хворим.

Фінансування

Дослідження виконане в рамках НДР Запорізького державного медико-фармацевтичного університету «Синтез та вивчення фізико-хімічних та біологічних властивостей речовин в ряду азаетероциклів. Створення та стандартизація оригінальних та комбінованих лікарських препаратів на основі похідних азаетероциклів. Розробка та валідація нових методик аналізу лікарських засобів», держреєстрація № 0123U103937 (2023–2028).

Подяка: Збройним силам України за можливість продовжувати дослідження.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 23.10.2023

Після доопрацювання / Revised: 08.12.2023

Схвалено до друку / Accepted: 12.12.2023

Відомості про авторів:

Медведева К. П., канд. фарм. наук, доцент каф. аналітичної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0001-7260-5728

Прутула Р. Л., полковник медичної служби, канд. фарм. наук, доцент, заступник начальника з медичного постачання, Національний військово-медичний клінічний центр «Головний військовий клінічний госпіталь», м. Київ, Україна.

ORCID ID: 0000-0001-6588-5688

Шматенко О. П., полковник медичної служби, д-р фарм. наук, професор, начальник каф. військової фармації, Українська військово-медична академія, м. Київ.

ORCID ID: 0000-0002-6145-460X

Бушуєва І. В., д-р фарм. наук, професор, зав. каф. управління і економіки фармації та фармацевтичної технології, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-5336-3900

Парченко В. В., д-р фарм. наук, професор каф. природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-2283-1695

Кучеренко Л. І., д-р фарм. наук, професор зав. каф. фармацевтичної, органічної та біоорганічної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0003-2229-0232

Васюк С. О., д-р фарм. наук, професор, зав. каф. аналітичної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-1569-9374

Information about the authors:

Miedvedieva K. P., PhD, Associate Professor of the Department of Analytical Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Prytula R. L., Colonel of the Medical Service, PhD, Associate Professor, Deputy Head for Medical Supply, National Military Medical Clinical Center "Main Military Clinical Hospital", Ukraine.

Shmatenko O. P., Colonel of the Medical Service, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Military Pharmacy, Ukrainian Military Medical Academy.

Bushuieva I. V., PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Pharmacy Management and Economics, and Pharmaceutical Technology, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Parchenko V. V., PhD, DSc, Professor of the Department of Natural Sciences for Foreign Students and Toxicological Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Kucherenko L. I., PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Pharmaceutical, Organic and Bioorganic Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Vasiuk S. O., PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Analytical Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

References

- Tian YT, Zhang FG, Nie J. Metal-free Decarboxylative Annulation of 2-Aryl-2-isocyano-acetates with Aryldiazonium Salts: General Access to 1,3-Diaryl-1,2,4-triazoles. *Adv Synth Catal.* 2021;363(1):227-33. doi: 10.1002/adsc.202001016
- Karpenko Y, Hunchak Y, Gutiy B, Hunchak A, Parchenko M, Parchenko V. Advanced research for physico-chemical properties and parameters of toxicity piperazinium 2-((5-(furan-2-yl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio) acetate. *ScienceRise: Pharmaceutical Science.* 2022;(2):18-25. doi: 10.15587/2519-4852.2022.255848
- Guru MM, De S, Dutta S, Koley D, Maji B. $(C_6F_5)_3$ -catalyzed dehydrogenative cyclization of *N*-tosylhydrazones and anilines via a Lewis adduct: a combined experimental and computational investigation. *Chem Sci.* 2019;10(34):7964-74. doi: 10.1039/c9sc02492a
- Khilkovets A, Karpenko Y, Bigdan O, Parchenko M, Parchenko V. Synthetic and biological aspects of studying the properties of 1,2,4-triazole derivatives. *Scientific Journal of Polonia University.* 2022;51(2):324-31. doi: 10.23856/5138
- Karpun Y, Fedotov S, Khilkovets A, Karpenko Y, Parchenko V, Klochkova Y, et al. An in silico investigation of 1,2,4-triazole derivatives as potential antioxidant agents using molecular docking, MD simulations, MM-PBSA free energy calculations and ADME predictions. *Pharmacia.* 2023;70(1):139-53. doi: 10.3897/pharmacia.70.e90783
- Zazharskyi V, Bigdan O, Parchenko V, Parchenko M, Fotina T, Davydenko P, et al. Antimicrobial Activity of Some Furans Containing 1,2,4-Triazoles. *Arch Pharm Pract.* 2021;12(2):60-5. doi: 10.51847/rbjb3waubb
- Goma'a HA, Ghaly MA, Abou-zeid LA, Badria FA, Shehata IA, El-Kerdawy MM. Synthesis, biological evaluation and in silico studies of 1,2,4-triazole and 1,3,4-thiadiazole derivatives as antihypertensive agents. *ChemistrySelect.* 2019;4(21):6421-8. doi: 10.1002/slct.201900814
- Bihdan OA. [Antimicrobial and antifungal activity of new fluorophenyl-containing 1,2,4-triazoles]. *Farmatsevtichnyi zhurnal.* 2021;76(2):87-93. Ukrainian. doi: 10.32352/0367-3057.2.21.09

9. Bihdan OA. [Synthesis, chemical modification and biological properties 3-,4-,5--trisubstituted-1,2,4-triazole-3-thions] [dissertation on the Internet]. Zaporizhzhia (UA): Zaporizhzhia State Medical University; 2023 [cited 2023 Dec 22]. Ukrainian. Available from: <https://nrat.ukrintei.ua/en/searchdoc/0523U100030/>
10. Grisodub AI. Standartyzovani protsedury validatsii metodyk kontroliu yakosti likarskykh rechovyn [Standardized procedures for the validation of drug quality control methods]. Kharkiv: Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines; 2016. Ukrainian.
11. Derzhavna Farmakopeia Ukrainy [The State Pharmacopoeia of Ukraine]. 2nd ed. Kharkiv, (UA): State Enterprise Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center of Medicines Quality; 2015. Ukrainian.
12. British Pharmacopoeia. British Pharmacopoeia Commission, London: TSO; 2016.
13. Pena-Pereira F, Wojnowski W, Tobiszewski M. AGREE-Analytical GREENness Metric Approach and Software. *Anal Chem.* 2020;92(14):10076-82. doi: [10.1021/acs.analchem.0c01887](https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c01887)
14. Borisenko NN, Medvedev KP, Vasyuk SA, Bushueva IV, Parchenko VV. [Quantitative determination of trifuzol in the 2.5% injection solution by spectrophotometric method]. *Farmatsevtichnyi zhurnal.* 2020;75(1):64-1. Ukrainian. doi: [10.32352/0367-3057.1.20.07](https://doi.org/10.32352/0367-3057.1.20.07)