

НАО «Медицинский университет Астана»

УДК: 615.012.1-074

МПК: А61К 31/00, А61К 9/20, А61Р 29/00

Жорабек Тоғжан Бердібайқызы

**«АНАЛИЗ КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА,
СОДЕРЖАЩЕГО НПВС»**

7М10104 – «Фармация»

Диссертационная работа
на соискание степени магистра медицинских наук

Научный руководитель: д.фарм.н., профессор, Лауреат Государственной премии, Арыстанова Танагуль Акимбаевна

Астана 2026 г.

СОДЕРЖАНИЕ

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ.....	3
ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ.....	4
СПИСОК ТАБЛИЦ И РИСУНКОВ	4
ВВЕДЕНИЕ	6
Глава 1. Литературный обзор.....	11
1.1 Перспективы создания лекарственных препаратов на основе комбинации НПВС с глицирризиновой кислотой.....	11
1.2 Методы контроля качества и стандартизации глицирризиновой кислоты и нестероидных противовоспалительных средств	21
МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	27
Глава 2. Характеристика объектов и методов исследования.....	27
2.1 Материалы исследования.....	27
2.1.1 Фармацевтические субстанции.....	27
2.1.2 Лабораторные образцы таблеток КЛП.....	27
2.1.3 Реактивы.....	27
2.2 Методы исследования	29
2.2.1 Химические методы.....	29
2.2.2 Физические и физико-химические методы	29
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ.....	31
Глава 3. Результаты собственных исследований и их обсуждение.....	31
3.1 Разработка методик идентификации активных веществ комбинированного лекарственного препарата химическими и физико-химическими методами..	31
3.1.1 Методика идентификации активных веществ с помощью химических реакций.....	31
3.1.2 Методика идентификации активных веществ и их родственных примесей методом тонкослойной хроматографии.....	32
3.2 Методика количественного анализа активных веществ методом УФ- спектрофотометрии.....	39
3.3 Разработка спецификации качества и стандартизация комбинированного лекарственного препарата	48
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	56
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	58
ПРИЛОЖЕНИЕ А.....	67

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящей диссертации использованы ссылки на следующие стандарты:

1. Государственная фармакопея Республики Казахстан. – 1-е изд. – Астана: Жибек жолы, 2008. – Т. 1.
2. Государственная Фармакопея Республики Казахстан 2009 г., Т. 2
3. Государственная фармакопея Республики Казахстан. – 1-е изд. – Астана: Жибек жолы, 2014. – Т. 3.
4. Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV изд.
5. Государственная фармакопея Российской Федерации. – 15-е изд. – М.: Минздрав России, 2017. – Т. 1–4. – URL: Федеральная электронная медицинская библиотека
6. Фармакопея Евразийского экономического союза. – М.: Евразийская экономическая комиссия, 2020. – Т. 1.
7. European Pharmacopoeia 9th edition: Liquorice root - *Liquiritiae radix* 01/2010: 0277 (under minor revision)
8. Государственная Фармакопея Республики Беларусь 2016 г. Т.2
9. The Japanese Pharmacopoeia, 17th edition. Ministry of Health, Labour and Welfare, Tokyo, Japan Part 2, 2002. P.932-933.
10. Pharmacopoeia of the people's republic of China. Vol.1, 2005. P.207-2009.
11. Приказ МЗ РК от 28 октября 2020 года № ҚР ДСМ-165/2020: «Об утверждении Правил проведения производителем лекарственного средства исследования стабильности, установления срока хранения и повторного контроля лекарственных средств» разработки
12. Приказ МЗ РК от 16 февраля 2021 года № ҚР ДСМ-20: «Об утверждении правил производителем лекарственных средств и согласования государственной экспертной организацией нормативного документа по качеству лекарственных средств при экспертизе лекарственных средств»
13. Фармакопея Евразийского экономического союза (ФЕАЭС). Общая фармакопейная статья 2.5.1.34 «Таблетки»
14. Фармакопея Евразийского экономического союза (ФЕАЭС). Общая фармакопейная статья 2.1.9.5 «Однородность массы единицы дозированного лекарственного препарата»
15. Фармакопея Евразийского экономического союза (ФЕАЭС). Общая фармакопейная статья 2.1.9.6 «Истираемость таблеток»
16. Фармакопея Евразийского экономического союза (ФЕАЭС). Общая фармакопейная статья 2.1.9.1 «Распадаемость таблеток и капсул»
17. Фармакопея Евразийского экономического союза (ФЕАЭС). Общая фармакопейная статья 2.1.9.1 «Испытание на растворение для твердых дозированных лекарственных форм»

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

НПВС - нестероидные противовоспалительные средства
ГК – глицирризиновая кислота
НМС - нимесулид
ГФ РК– Государственная Фармакопея Республики Казахстан
КЛП – комбинированный лекарственный препарат
ПФ – подвижная фаза
РСО – рабочий стандартный образец
СО – стандартный образец
ТСХ – тонкослойная хроматография
УФ-СФ – спектрофотометрия в УФ области
ФЕАЭС - Фармакопея Евразийского экономического союза
RSD - относительное стандартное отклонение
Rf - коэффициент подвижности
ICH - International Council for Harmonisation
LOD - предел обнаружения
LOQ - предел количественного определения
ЛО – лабораторный образец

СПИСОК ТАБЛИЦ И РИСУНКОВ

Таблица 1. Идентификация ГК методом ТСХ по фармакопеям.....	22
Таблица 2. Методы количественного определения ГК по фармакопеям.....	22
Таблица 3. Влияние состава элюента на подвижность НМС и ГК.....	33
Таблица 4. Валидационные характеристики разработанной методики.....	36
Таблица 5. Метрологические характеристики ТСХ-методики.....	36
Таблица 6. Параметры линейности.....	37
Таблица 7. Сводные метрологические характеристики КЛП при ускоренном старении.....	37
Таблица 8. Спектральные характеристики НМС и ГК в различных аналитических средах.....	39
Таблица 9. Сравнительный анализ спектральных характеристик НМС и ГК в зависимости от концентрации.....	41
Таблица 10. Сравнение вариантов измерения оптической плотности модельных смесей (n=3).....	42
Таблица 11. Результаты количественного определения НМС и ГК в модельных смеси (n = 5).....	44
Таблица 12. Результаты валидации методики.....	45
Таблица 13. Результаты количественного определения НМС и ГК в	

лабораторных образцах.....	46
Таблица 14. Спецификация качества КЛП.....	49
Таблица 15. Результаты исследования стабильности методом ускоренного старения.....	50
Таблица 16. Профиль высвобождения нимесулида и глицирризиновой кислоты из КЛП.....	51
Таблица 17. Результаты испытания таблеток на истираемость.....	52
Таблица 18. Спецификация качества КЛП.....	52
Рисунок 1. Структурная формула глицирризиновой кислоты - (3 β ,20 β)-20-карбоксии-11-оксо-3 α -норолеан-12-ен-3-ил-2-O- β -D-глюкопиранозил- α -D-глюкопиранозидуронат. Молекулярная масса: 822,94 г/моль.....	17
Рисунок 2. Нимесулид - N-(4-нитро-2-феноксифенил) метансульфонамид Молекулярная масса: 308,31 г/моль.....	24
Рисунок 3. Схематическое расположение зон стандартных растворов и испытуемого раствора в оптимальной системе растворителей.....	35
Рисунок 4. Схематическое изображение УФ-спектров стандартных растворов ГК (20 мкг/мл), НМС (10 мкг/мл) и смеси (ГК 15мкг/мл + НМС 15 мкг/мл) в метанольно-щелочной среде (рН 9,0).....	40

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы:

В последнее время в медицине увеличился интерес к комбинированным лекарствам, которые предлагают более комплексный подход к лечению. Эти препараты имеют несколько действий, что позволяет более эффективно справляться с различными заболеваниями. Хорошо подобранные активные компоненты не только усиливают терапевтический эффект, но и уменьшают вероятность возникновения побочных действий, что является важным аспектом при лечении.

Также стоит отметить, что существует возможность сочетать растительные и синтетические лекарства, поскольку последние часто вызывают нежелательные реакции у пациентов. Из-за большого разнообразия лекарственных растений, подходящих для создания комбинированных препаратов, особенно выделяется корень солодки.

Глицирризиновая кислота, входящая в состав корня солодки, в комплексной терапии оказала специфичное лечение благодаря фармакологическому механизму, заключающемуся в блокировании вирусного фермента киназы.

Помимо собственной противовирусной активности, глицирризиновая кислота потенцирует фармакологический эффект и снижает токсичность синтетических препаратов. Уникальные свойства основного компонента корня солодки использованы при создании ряда комбинированных лекарственных средств – фармацевтических композиций, обладающих противовирусной, иммуномодулирующей, гепатопротекторной активностью. Его целебные свойства известны с давних времён, и он применяется в народной медицине для лечения различных заболеваний.

Одним из многообещающих направлений является сочетание глицирризиновой кислоты, выделяемой из корня солодки, с НПВС, такими как нимесулид. Это сочетание может снизить токсичность нимесулида и может усиливать действия обоих компонентов, что делает терапию более безопасной и эффективной.

Кроме того, корень солодки может направленно регулировать действие нимесулида, что помогает уменьшить его побочные эффекты (повреждение ЖКТ, сердечно-сосудистой системы, аллергические реакции). Важно подчеркнуть, что такая комбинация может открыть новые перспективы в разработке современных лекарств.

На кафедре фармацевтических дисциплин МУА разработан комбинированный лекарственный препарат в виде таблеток, содержащий глицирризиновую кислоту и нимесулид, который, как ожидается, дальнейшие

исследования разработки спецификации качества и стандартизации.

Комбинирование действующих веществ, различающихся по химической природе и физико-химическим свойствам, направленное на повышение терапевтической эффективности и безопасности фармакотерапии, одновременно усложняет задачи аналитического сопровождения и требует разработки селективных, воспроизводимых и валидированных методик анализа.

Нимесулид — синтетическое нестероидное противовоспалительное средство из группы сульфонанилидов, обладающее относительной селективностью к ЦОГ-2. Его химическая структура включает ароматическое ядро с нитрогруппой и сульфонамидным фрагментом, что определяет его липофильность и слабокислотные свойства. Соединение плохо растворимо в воде, но хорошо растворяется в органических средах, что влияет на его биодоступность и фармакокинетические особенности. Липофильный характер обеспечивает проникновение через биомембраны, однако связан с выраженным печёночным метаболизмом.

Глицирризиновая кислота — природное соединение тритерпеновой природы, выделяемое из корней солодки и относящееся к сапонидам. Она представляет собой гликозид глицирретиновой кислоты с остатками глюкуроновой кислоты, что обуславливает её амфифильные свойства и способность к мицеллообразованию. Благодаря этому ГК может повышать растворимость и стабильность липофильных веществ, а также проявляет мембраностабилизирующие и антиоксидантные свойства. Сочетание синтетического противовоспалительного действия нимесулида и природных защитных эффектов глицирризиновой кислоты выглядит особенно перспективным, поскольку может обеспечить усиление терапевтического эффекта при одновременном снижении токсичности.

Существующие фармакопейные подходы для глицирризиновой кислоты и нимесулида преимущественно ориентированы на индивидуальные субстанции и не в полной мере применимы к многокомпонентным системам, где возможно взаимное влияние компонентов, а также присутствие вспомогательных веществ и продуктов деградации.

В этой связи особую значимость приобретает разработка доступных, экспрессных и надежных методов, обеспечивающих одновременную идентификацию и количественное определение глицирризиновой кислоты и нимесулида, а также оценку их качества в составе комбинированного препарата.

Цель исследования:

Разработка методик идентификации и количественного определения глицирризиновой кислоты и нимесулида при их совместном присутствии, формирование спецификации качества комбинированного лекарственного

препарата в форме таблеток с применением химических и физико-химических методов.

Задачи исследования:

1. Провести анализ научной литературы и нормативных источников по разработке и стандартизации комбинированных лекарственных препаратов, содержащих НПВС и глицирризиновую кислоту.
2. Разработать методики идентификации глицирризиновой кислоты и нимесулида в комбинированном лекарственном препарате.
3. Разработать методику количественного определения активных компонентов комбинированного лекарственного препарата.
4. Провести валидацию разработанных методик.
5. Разработать спецификации качества и провести стандартизацию комбинированного лекарственного препарата.

Объект исследования:

Процесс разработки методов контроля качества и стандартизации комбинированного лекарственного средства.

Предмет исследования:

Методики идентификации и количественного определения действующих веществ при их совместном присутствии, а также подходы к разработке спецификации качества комбинированного лекарственного препарата.

Научная новизна:

Впервые разработаны методики идентификации и количественного определения активных компонентов комбинированного препарата в форме таблеток, содержащих глицирризиновую кислоту и нимесулид с использованием химических и физико-химических методов, сформированы спецификации качества готовой лекарственной формы и экспериментально подтверждена их валидность в соответствии с установленными требованиями аналитической валидации.

Практическая значимость.

Практическая значимость исследования заключается в разработке комплекса аналитических методик для контроля качества комбинированного лекарственного препарата, содержащего глицирризиновую кислоту и нимесулид. Разработанная УФ-спектрофотометрическая методика, позволяет проводить доступное, быстрое и экономичное количественное определение действующих веществ без их предварительного разделения, что делает её удобной для применения в рутинной фармацевтической практике.

Методика тонкослойной хроматографии обеспечивает идентификацию действующих веществ и подтверждение их подлинности в составе препарата.

Предложенные методики могут быть использованы при стандартизации комбинированного препарата, разработке нормативной документации, а также в

практике контроля качества лекарственных средств.

База проведения исследований:

Кафедра фармацевтических дисциплин НАО «Медицинский университет Астана»

Положения, выносимые на защиту:

- Методики идентификации активных ингредиентов химическими реакциями в комбинированном препарате в форме таблеток.
- Методика идентификации активных ингредиентов методом тонкослойной хроматографии.
- Методика количественного определения активных ингредиентов методом УФ-спектрофотометрии при их совместном присутствии.
- Спецификации качества комбинированного лекарственного препарата.

Объем и структура диссертации:

Диссертация состоит из введения, 3 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка использованных источников и приложения. Работа включает таблицы и рисунки. Список литературы содержит источники отечественных и зарубежных авторов.

Апробация диссертации:

Результаты исследования доложены на:

- Научно-практической конференции: «ПАЦИЕНТ. ВРАЧ. ЛЕКАРСТВО» на тему «Комбинация НПВС с ГК: обоснование и перспективы создания ЛП», РФ Татарстан, Казань, 25.10.2025.
- III Международной конференции «Интеграционные связи фармацевтической экологии - 2025» на тему «Разработка состава и технологии комбинированного лекарственного препарата на основе глицирризиновой кислоты и НПВС», РФ, Москва, 11-13.11.2025.
- I Международном симпозиуме по академическим исследованиям и инновациям «Академическое возрождение в системе медицинского образования: реформы для развития сектора и повышения качества частного сектора» на тему «Перспективы создания лекарственных препаратов на основе комбинации НПВС с глицирризиновой кислотой», Ташкент, 14-15.11.2025.

Основные положения работы опубликованы:

- XII Международная научно-практическая конференция: «ПЕРСПЕКТИВЫ СОВРЕМЕННОЙ НАУКИ: ТЕОРИЯ И ПРАКТИКА» на тему «Комбинация глицирризиновой кислоты с НПВС: комплексный подход к лечению», Украина, Львов, 13-15.01.2025. -С.315.
- Журнал «Актуальные проблемы теоретической и клинической

медицины», «Пути повышения эффективности и безопасности нестероидных противовоспалительных средств: Роль глицирризиновой кислоты», 1(51)26, Алматы, - С.138-155.

- Научно-практическая конференция «Пациент. Врач. Лекарство» на тему «Комбинированный препарат на основе глицирризиновой кислоты и нестероидных противовоспалительных средств», Казань, 25.10.2025. — С.234.

Глава 1. Литературный обзор

1.1 Перспективы создания лекарственных препаратов на основе комбинации НПВС с глицирризиновой кислотой

НПВС занимают ведущую позицию в фармакологическом лечении воспалительных и болевых синдромов различной этиологии. Однако их использование часто ассоциировано с возникновением нежелательных реакций, преимущественно со стороны желудочно-кишечного тракта и гепатобилиарной системы, что лимитирует продолжительность терапии и снижает её профиль безопасности [1-3].

Поиск подходов к коррекции указанных осложнений сохраняет статус одной из приоритетных задач современной фармацевтической науки. Одним из многообещающих направлений является разработка комбинированных лекарственных препаратов (КЛП), объединяющих синтетические противовоспалительные агенты с природными соединениями, обладающими протективным и модулирующим эффектом [4,5].

Особый интерес представляет глицирризиновая кислота (ГК) — биологически активный компонент корня солодки (*Glycyrrhiza glabra* L., *Glycyrrhiza uralensis* Fisch), характеризующийся широким спектром фармакологической активности: противовоспалительной, противовирусной, гепатопротекторной, антиоксидантной и др. свойства [6]. Включение ГК в состав противовоспалительных КЛП рассматривается как один из эффективных подходов к снижению токсичности НПВС при сохранении их терапевтической эффективности. Исследование потенциала ГК в комбинации с НПВС представляет собой актуальное направление, ориентированное на создание более безопасных и результативных противовоспалительных средств.

НПВС широко используются для купирования болевого синдрома и воспалительных реакций посредством ингибирования циклооксигеназы (ЦОГ), однако их применение ассоциировано с риском развития нежелательных реакций со стороны желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистой системы, почек и печени, зависящим от селективности к ЦОГ-2 и дозовой нагрузки препарата. Коксибы и относительно селективные ингибиторы ЦОГ-2, согласно результатам сетевых метаанализов, характеризуются сопоставимым гастропротекторным профилем и переносимостью, что обуславливает необходимость персонифицированного выбора НПВС [7,8].

ГК, напротив, реализует противовоспалительное действие, ингибируя активацию транскрипционного фактора NF- κ B и уменьшая продукцию провоспалительных цитокинов, таких как TNF- α , IL-1 β и IL-6. Таким образом, комбинированное применение НПВС и ГК обеспечивает многоуровневое

подавление воспалительного процесса: НПВС ингибируют ферментативный путь биосинтеза медиаторов воспаления, тогда как ГК модулирует цитокиновый каскад и сигнальные пути, потенцируя противовоспалительный эффект [9].

Одно из наиболее значимых ограничений применения НПВС связано с идиосинкратической гепатотоксичностью у предрасположенных пациентов, при этом молекулярные механизмы данной токсичности включают образование реакционноспособных метаболитов, развитие окислительного стресса и повреждение митохондрий.

Экспериментальные исследования свидетельствуют о повышенной аккумуляции препаратов в гепатобилиарной системе, ковалентной модификации белков и нарушении функционирования защитных и детоксикационных механизмов под влиянием генетических и приобретённых факторов пациента. В клинической практике это проявляется увеличением активности сывороточных аминотрансфераз, некрозом гепатоцитов и внутрипечёночным холестазом, что характерно для редких, но тяжёлых и трудно прогнозируемых побочных реакций со стороны печени [10].

ГК характеризуется выраженным гепатопротекторным потенциалом, обусловленным способностью регулировать клеточные сигнальные пути, вовлечённые в процессы апоптоза, окислительного стресса и воспалительных реакций в печёночной ткани. В экспериментальных моделях показано, что ГК уменьшает интенсивность апоптоза гепатоцитов, снижает соотношение Bax/Bcl-2, ингибирует активацию каспаз и усиливает антиоксидантную защиту, что сопровождается уменьшением повреждения клеточных мембран и сохранением функционального состояния печени при токсическом воздействии химических агентов *in vivo* [11].

Физико-химические характеристики ГК также способствуют проявлению синергетического взаимодействия с другими лекарственными молекулами: она способна к самоагрегации с образованием мицеллярных структур, что повышает растворимость и транспорт гидрофобных соединений, усиливает их абсорбцию в кишечнике и увеличивает биодоступность. Данный эффект используется при разработке мицеллярных систем доставки лекарственных средств, обеспечивающих повышение AUC и C_{max} соединений с низкой растворимостью по сравнению с их свободными формами [12].

Дополнительно, ГК проявляет противовирусную активность, в частности в отношении вируса Эпштейна–Барр, ингибируя репликацию вируса за счёт воздействия на ранние стадии вирусного цикла, предположительно связанные с проникновением вируса в клетку, без влияния на процессы адсорбции и инактивации вирусных частиц [13]. Указанные механизмы дополняют фармакодинамические характеристики НПВС и формируют предпосылки для их

комбинированного применения с целью повышения эффективности и снижения терапевтических доз.

В современных исследованиях описаны лекарственные композиции НПВС с солями ГК, демонстрирующие более высокую терапевтическую эффективность и улучшенную переносимость по сравнению с монотерапией [14].

Таким образом, синергизм комбинации НПВС и ГК реализуется как на фармакодинамическом, так и на фармакокинетическом уровнях, что позволяет рассматривать данный подход в качестве перспективного направления при создании новых лекарственных средств.

Согласно имеющимся данным, комбинированное применение НПВС и ГК исследовано преимущественно в доклинических моделях, где получены обоснованные доказательства взаимного усиления их фармакологических эффектов и уменьшения токсичности. В исследовании Петровой Е.С. и соавт. продемонстрировано, что механохимические композиции НПВС с натрия глицирризинатом характеризуются значительным снижением гепатотоксичности по сравнению с монотерапией. При этом зафиксировано уменьшение активности трансаминаз, уровня малонового диальдегида и восстановление антиоксидантного статуса [14].

Аналогичные результаты установлены в экспериментах на моделях хронического воспаления и артрита, где ГК потенцировала анальгетический и противоотёчный эффект НПВС, одновременно уменьшая вероятность развития гастро- и гепатопатий. Представленные данные свидетельствуют о наличии синергетического взаимодействия между компонентами комбинации, обусловленного различием их механизмов действия: НПВС ингибируют ферментативное звено воспалительного процесса (ЦОГ), тогда как ГК регулирует цитокиновую активность и процессы оксидативного стресса [15].

Результаты фармакокинетических исследований указывают на способность ГК модифицировать метаболизм лекарственных средств за счёт влияния на активность ферментов системы цитохрома P450 и транспортных белков, таких как P-glycoprotein. Указанные эффекты могут потенциально изменять скорость биотрансформации и элиминации сопутствующих препаратов, включая НПВС, что необходимо учитывать при проведении комбинированной терапии [16].

Дополнительно установлено, что способность ГК формировать мицеллярные комплексы с липофильными соединениями способствует увеличению растворимости и абсорбции НПВС [17]. Эти свойства обеспечивают более равномерное распределение действующих веществ и уменьшают накопление токсичных метаболитов в печени, повышая безопасность терапии.

В научной литературе описаны разнообразные подходы к снижению

гепато- и гастротоксичности, индуцированной НПВС, включая использование антиоксидантов (например, витамин Е, коэнзим Q10), фитогепатопротекторов (силимарин, эссенциальные фосфолипиды) и синтетических мембранопротекторов. Наряду с этим широко применяются комбинированные стратегии защиты слизистой оболочки желудка и печени, такие как совместное назначение гастропротекторов (ингибиторов протонной помпы или misoprostol) и использование селективных ингибиторов ЦОГ-2 с целью минимизации тканевого повреждения и оптимизации соотношения «эффективность–безопасность» [18].

Однако большинство из указанных подходов воздействует лишь на отдельные звенья патологического процесса. В отличие от них, ГК характеризуется комплексным фармакологическим профилем, сочетая противовоспалительные, антиоксидантные и гепатопротекторные эффекты, что обосновывает её применение в составе комбинированной терапии [19].

Вместе с тем, зарегистрированные лекарственные препараты, объединяющие НПВС и ГК, в настоящее время отсутствуют. Наличие положительных доклинических и пилотных данных формирует предпосылки для проведения дальнейших клинических исследований, направленных на подтверждение их безопасности, фармакокинетической совместимости и терапевтического синергизма.

Механизм действия и фармакологические эффекты НПВС

Ингибирование циклооксигеназы НПВС обуславливает не только снижение биосинтеза простагландинов, но и регуляцию продукции провоспалительных цитокинов и активности транскрипционных факторов, таких как NF-κB, что расширяет спектр их биологических эффектов [20].

Характерно, что НПВС, в частности нимесулид (НМС), помимо подавления ЦОГ-2, способны угнетать генерацию активных форм кислорода и активировать антиоксидантные механизмы, что дополнительно обосновывает их противовоспалительный потенциал [21].

Традиционно НПВС классифицируются на группы в зависимости от химической структуры и селективности: ацетилированные салицилаты (аспирин), неацетилированные салицилаты (дифлунизал, сальзалат), производные пропионовой кислоты (напроксен, ибупрофен), производные уксусной кислоты (диклофенак, индометацин), производные эноловых кислот (мелоксикам, пироксикам), производные антраниловой кислоты (меклофенамат, мефенамовая кислота), нафтилаланин (набуметон), селективные ингибиторы ЦОГ-2 (целекоксиб, эторикоксиб) [22], а также сульфонанилиды (НМС). Каждой из указанных групп присущи специфические особенности фармакокинетики и профиля безопасности.

Показательно, что диклофенак, ибупрофен и напроксен относятся к классическим НПВС с выраженным ингибирующим действием на обе изоформы циклооксигеназы (ЦОГ-1 и ЦОГ-2), при этом ибупрофен и напроксен характеризуются относительно благоприятным профилем переносимости, тогда как мелоксикам, включённый в исследование как препарат с предполагаемой селективностью к ЦОГ-2, занимает промежуточное положение по степени ингибирования ЦОГ-2 без чётко выраженных отличий от диклофенака [23].

Следует отметить, что НМС, относящийся к сульфонанилидам, продемонстрировал высокую клиническую эффективность при острых и хронических болевых синдромах, сопоставимую с другими НПВС, что подтверждается результатами рандомизированных контролируемых исследований [24].

Доказательная база клинической эффективности НПВС представлена многочисленными исследованиями: систематические обзоры и мета-анализы свидетельствуют о том, что традиционные НПВС (например, диклофенак и ибупрофен) обеспечивают эффективное купирование болевого синдрома при остеоартрите и других острых состояниях, тогда как селективные ингибиторы ЦОГ-2 (например, целекоксиб) демонстрируют сопоставимую эффективность при более благоприятном профиле безопасности при длительной терапии хронических воспалительных заболеваний [25].

Примечательно, что, в отличие от ряда других НПВС, НМС характеризуется выраженными антигипералгезивными свойствами, обеспечивая быстрое и значимое снижение воспалительной боли по данным исследований как на животных моделях, так и у человека, что расширяет спектр его клинического применения [26].

Ключевым механизмом противовоспалительного действия НМС является преимущественное ингибирование активности ЦОГ-2, приводящее к снижению синтеза простагландинов в очаге воспаления, тогда как влияние на ЦОГ-1 выражено в меньшей степени. Подобная селективность может способствовать формированию более благоприятного профиля гастроинтестинальной переносимости по сравнению с неселективными НПВС [27].

Дополнительно установлено, что НМС уменьшает гипералгезию, обусловленную повышенной продукцией медиаторов воспаления (PGE₂, субстанции P, брадикинина). Результаты клинических исследований подтверждают его эффективность при остеоартрозе [24], в купировании боли и воспалительной реакции при острой травматической боли, включая применение в предэмптивной анальгезии после хирургических вмешательств, что показано в сравнительном анализе НМС и трамадола [28], при этом его эффективность оказалась сопоставимой с кетопрофеном в контроле послеоперационной боли и

воспалительных реакций [29], при стоматологических вмешательствах [30], а также при первичной дисменорее [31].

В исследованиях синовиальной жидкости пациентов с остеоартрозом коленного сустава было выявлено снижение уровней IL-6 и IL-8 на фоне терапии НМС, что указывает на его способность модулировать воспалительный ответ [32].

Побочные эффекты и пути их коррекции

Повсеместное использование НПВС в клинической практике сопровождается вероятностью развития нежелательных реакций, ограничивающих их терапевтическое применение. К числу наиболее значимых осложнений относят поражения печени [34], желудочно-кишечного тракта [35] и почек [33].

Существенное место среди побочных эффектов НПВС занимает гепатотоксичность. В научных источниках описаны случаи лекарственно-индуцированного гепатита [36], холестатических нарушений функции печени и острой печёночной недостаточности [37,38]. Неблагоприятные эффекты НМС связывают с особенностями его биотрансформации в печени, что может обуславливать развитие нежелательных реакций при индивидуальной чувствительности пациента [39].

В отдельных клинических наблюдениях применение НМС ассоциировалось с развитием гепатотоксических реакций, что привлекло внимание регуляторных органов к вопросам его безопасности [39]. Вместе с тем, накопленный клинический опыт использования НМС при остеоартрозе свидетельствует о том, что при соблюдении рекомендуемых доз и ограниченной продолжительности терапии вероятность серьёзных нежелательных реакций остаётся низкой [40].

Следует учитывать, что НПВС, включая НМС, как правило, характеризуются типичным для данной группы профилем побочных эффектов со стороны желудочно-кишечного тракта, при этом частота клинически значимых осложнений в сравнительных исследованиях оценивается как сопоставимая с безопасностью других НПВС [41].

Одним из перспективных подходов к повышению безопасности терапии НПВС является их комбинирование с биологически активными соединениями природного происхождения, обладающими мембранопротекторными, антиоксидантными и противовоспалительными свойствами. В данном контексте особое внимание привлекает ГК, обеспечивающая выраженный гепатопротекторный и антиоксидантный эффект. Комбинированное применение ГК с НПВС может способствовать достижению оптимального соотношения между терапевтической эффективностью и безопасностью лечения.

ГК: строение, свойства и фармакологическая активность

ГК представляет собой основной тритерпеновый сапонин, изолируемый из корневого сырья солодки голой (*Glycyrrhiza glabra* L.), уральской (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.) и других представителей рода *Glycyrrhiza*. Химическая структура ГК характеризуется как гликозид глицирретиновой кислоты с двумя остатками D-глюкуроновой кислоты (рисунок 1), что обуславливает её амфифильные свойства и способность к формированию мицеллярных агрегатов [42].

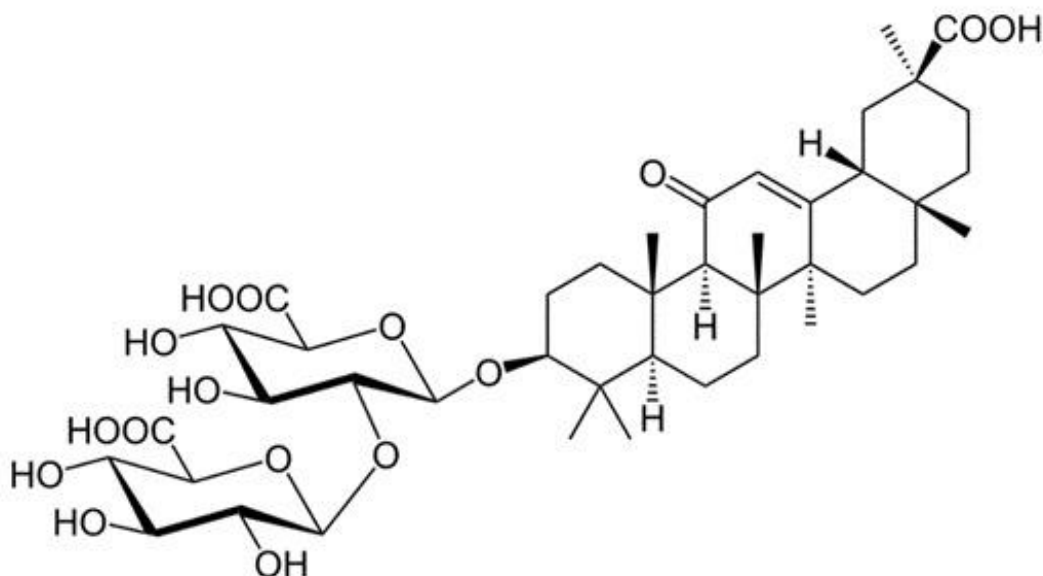


Рисунок 1. Структурная формула глицирризиновой кислоты - (3 β ,20 β)-20-карбокси-11-оксо-3 α -норолеан-12-ен-3-ил-2-O- β -D-глюкопиранозил- α -D-глюкопиранозидуронат.

Молекулярная масса: 822,94 г/моль

Фармакологический профиль ГК характеризуется широтой и множественностью механизмов действия, включая противовоспалительную, гепатопротекторную, антиоксидантную, иммуномодулирующую и противовирусную активность [43,44].

Противовоспалительная активность.

На молекулярном уровне ГК реализует цитопротекторный эффект, предотвращая митохондриальную дисфункцию, поддерживая мембранный потенциал и стимулируя митохондриальный биогенез, что способствует уменьшению выраженности окислительного стресса при токсическом воздействии на клеточные структуры [45]. В экспериментальных моделях установлено, что ГК снижает уровень простагландина E, подавляет экспрессию ЦОГ-2 и уменьшает инфильтрацию воспалительных клеток [6].

Гепатопротекторное действие.

ГК характеризуется выраженным гепатопротекторным эффектом: она уменьшает активность каспаз-3, ингибирует апоптоз гепатоцитов и замедляет прогрессирование фибротических изменений печени [11]. Дополнительно, в экспериментальных исследованиях на животных показано, что ГК ингибирует Smad3- опосредованную передачу сигнала и синтез коллагена, проявляя антифибротическое действие [46].

Антиоксидантный эффект.

ГК индуцирует активацию транскрипционного фактора Nrf2, что сопровождается усилением экспрессии антиоксидантных ферментов-глутатионпероксидазы, супероксиддисмутазы и каталазы-и снижением генерации активных форм кислорода [9,44]. Кроме того, ГК стабилизирует митохондриальные мембраны, предотвращая развитие энергетического дефицита и окислительного повреждения клеток [45].

Иммуномодулирующее действие.

ГК реализует иммуномодулирующий эффект, усиливая противовирусные и противоопухолевые реакции организма и регулируя иммунный ответ, что определяет её перспективность в терапии вирусных инфекций и воспалительных состояний [13].

Антивирусная активность.

ГК и её метаболиты характеризуются антивирусной активностью в отношении SARSCoV2 и других вирусов, а также способностью ингибировать репликацию вирусов, что позволяет рассматривать их как перспективные компоненты адъювантной терапии при вирусных инфекциях, включая COVID-19 и вирусный гепатит [47].

Современные технологии доставки.

В последние годы приоритетное внимание направлено на разработку наноструктурированных форм ГК. Модифицированные липосомальные системы и полимерные наночастицы с инкорпорацией ГК обеспечивают таргетированную доставку действующих веществ в печёночную ткань, повышая биодоступность и уменьшая системную токсичность [48].

Фармакокинетический профиль ГК характеризуется низкой растворимостью и ограниченной биодоступностью, что обуславливает необходимость создания инновационных систем доставки. На примере механохимических дисперсий, исследованных для труднорастворимых соединений, таких как НМС, показано, что включение ГК в аналогичные супрамолекулярные или механохимические композиции способствует увеличению её растворимости, повышению стабильности и усилению эффективности при комбинированном применении с другими лекарственными средствами [49,50].

Примеры комбинации ГК с синтетическими лекарственными средствами

ГК представляет собой природный субстрат, обладающий потенциалом повышения эффективности и уменьшения токсичности синтетических лекарственных средств. На основе ГК разработан ряд комбинированных препаратов, сочетающих её с синтетическими компонентами: так, в России создан препарат Фосфоглив, включающий натрия глицирризинат и фосфатидилхолин, применяемый в качестве гепатопротектора при хронических заболеваниях печени [51].

Примечательно, что в Японии глицирризин в составе препарата Stronger Neo-Minophagen C (SNMC), используемого для терапии хронических заболеваний печени, продемонстрировал клиническую результативность и стал моделью для изучения комбинаций гепатопротекторных агентов; взаимодействие SNMC или глицирризина с другими препаратами, включая противовирусные комбинации, исследовалось в клинических работах, тогда как влияние метаболизма ГК на фармакокинетику традиционных кампо-лекарств, таких как Yokusansan, обусловлено активностью кишечной микробиоты [52,53].

В Китае препарат Compound Glycyrrhizin (CG), содержащий глицирризин, глицин и метионин, широко используется в качестве адъювантной терапии при дерматологических и аутоиммунных заболеваниях, включая витилиго, благодаря своим иммунорегулирующим и противовоспалительным эффектам, а также применяется в комплексном лечении вирусных заболеваний печени вследствие гепатопротекторного и противовоспалительного действия активных компонентов [54,55].

Следует подчеркнуть, что в Казахстане получен комплекс ГК с ремантадином, характеризующийся выраженной противовирусной активностью в отношении вирусов гриппа типов А и В и пониженной токсичностью. Данное соединение расширяет спектр действия ремантадина и одновременно проявляет мембраностабилизирующие и антиоксидантные свойства [56].

Кроме того, на основе 18-дегидроглицирретовой кислоты разработана мазевая форма «Лакримант», обладающая выраженной противовирусной активностью и предназначенная для терапии герпетических поражений кожи и слизистых оболочек [57].

Дополнительно фармацевтические композиции «Вирустат» и «Вирустат Е», выпускаемые в форме сиропа и капсул, характеризуются выраженной гепатопротекторной и иммуномодулирующей активностью. Указанные препараты созданы на основе оригинального отечественного средства — биосластилина (сухого экстракта корня солодки), содержащего 80% ГК. В их состав входят микроэлементы, аминокислоты, аскорбиновая кислота, витамины группы В, фолиевая кислота и кальция пантотенат, при этом в «Вирустат Е»

дополнительно включён витамин Е, усиливающий антиоксидантную защиту и стабилизирующий клеточные мембраны печени. Комплекс биологически активных компонентов способствует нормализации функций печени и усилению иммунной защиты организма [58].

Наряду с ними, лекарственное средство «Глиаспин» в форме капсул, содержащее 18-дегидроглицирретовую кислоту, ацетилсалициловую и аскорбиновую кислоты, проявляет противовоспалительную, анальгетическую и антиоксидантную активность [59].

К аналогичным композициям относится препарат «Биаскин» — капсулы, содержащие сухой экстракт корня солодки (биосластилин) и аскорбиновую кислоту, проявляющие гепатопротекторные и антиоксидантные свойства, подтверждённые экспериментально [60].

Также разработаны комбинированные противотуберкулёзные препараты «Глицирриазид РР» и «Глицирриазид В6», включающие сухой экстракт корня солодки (биосластилин), изониазид, пиридоксин и никотиновую кислоту. В результате комбинирования достигнуто значительное снижение токсичности при сохранении антимикобактериальной активности по сравнению с монотерапией [61,62].

А также, создано лекарственное средство в форме шипучих таблеток, содержащее ГК, ацикловир и аскорбиновую кислоту. Данный комбинированный препарат характеризуется выраженной противовирусной и антиоксидантной активностью, при этом сочетание компонентов обеспечивает синергизм между противовирусным действием ацикловира и иммуномодулирующими свойствами глицирризиновой и аскорбиновой кислот [63].

Таким образом, ГК представляет собой уникальное биологически активное соединение для разработки комбинированных лекарственных средств с синтетическими препаратами. Благодаря выраженным противовоспалительным, мембраностабилизирующим и антиоксидантным свойствам ГК способна потенцировать терапевтическую эффективность синтетических агентов и одновременно уменьшать их токсичность.

Вместе с тем установлено, что при длительном применении или превышении доз ГК может индуцировать развитие псевдоминералокортикоидного синдрома, проявляющегося задержкой натрия, гипокалиемией, артериальной гипертензией и отёками [64]. Имеются сведения о взаимосвязи хронического избыточного потребления солодки с повышенным риском сердечно-сосудистых осложнений. Однако при соблюдении терапевтических доз ГК характеризуется благоприятным профилем безопасности, что подтверждается результатами метаанализов [65].

Ключевые преимущества комбинации:

Прежде всего, фармакологический синергизм заключается в том, что ГК усиливает противовоспалительное действие НПВС за счёт ингибирования сигнальных путей NF-κB и TNF-α [9]. Дополнительно повышение безопасности обусловлено тем, что в доклинических исследованиях показано: экстракты *Glycyrrhiza glabra* обладают гастропротективной активностью в моделях индуцированных язв и не вызывают выраженной гепатотоксичности при применении в исследуемых дозах, что свидетельствует о благоприятном профиле безопасности при терапевтическом использовании [66].

Наряду с этим фармакокинетическими характеристиками, ГК включает способность повышать растворимость труднорастворимых соединений и стабилизировать их метаболиты, что потенциально снижает токсичность при комбинированном применении с другими ЛС [67,68].

Кроме того, практическая реализуемость подтверждается успешными примерами комбинированных препаратов с ГК, демонстрирующими её универсальность и фармакологическую значимость как природного модулятора эффективности и безопасности терапии, включая российский препарат Фосфоглиф [51], японский — Stronger Neo-Minophagen C (SNMC) [52,53], китайский — Compound Glycyrrhizin (CG) [54,55], а также запатентованные фармацевтические композиции в Казахстане — «Лакримант» [57], «Вирустат» [58], «Глиаспин» [59], «Биаскин» [60], «Глицирразид РР» [61], «Глицирразид В6» [62] и шипучие таблетки на основе ГК, ацикловира и аскорбиновой кислоты [63].

Фармакоэкономическая эффективность проявляется в снижении частоты осложнений и необходимости дополнительной терапии, что способствует оптимизации затрат на лечение.

С учётом изложенного, перспективность комбинации НПВС и ГК становится очевидной, однако её внедрение в практику невозможно без соответствующего фармацевтического обеспечения. В данном контексте контроль качества выступает как необходимый этап разработки и стандартизации КЛП.

1.2 Методы контроля качества и стандартизации глицирризиновой кислоты и нестероидных противовоспалительных средств.

Основные международные фармакопеи устанавливают стандарты качества для корня солодки, включая виды солодки обыкновенной (*G. glabra*) и уральской (*G. uralensis*). Для обеспечения соответствия этим стандартам и точного анализа активных компонентов необходимы достоверные методы идентификации и контроля примесей. Сравнительный анализ фармакопейных методик идентификации ГК и определения посторонних примесей методом ТСХ показал, что хроматографирование проводится в системах полярных растворителей с

нейтральными и щелочными свойствами [69-74].

Таблица 1. Идентификация ГК методом ТСХ по фармакопеям

Фармакопея	Метод	Подвижная фаза	Детектирование
ГФ РК том 2	ТСХ эфирного извлечения из водного гидролизата	Аммиака р-р, вода, этанол 96%, этилацетат (1:9:25:65)	Обработка анисовым альдегидом, при 254 нм.
ГФ РФ XIV издание	ТСХ водно-этанольного извлечения	Н-бутанол, л.ук.кислота, вода (7:1:2)	При 254 нм
Европейская фармакопея 9.0	ТСХ эфирного извлечения из водного гидролизата	Аммиака р-р, вода, этанол 96%, этилацетат (1:9:25:65)	Обработка анисовым альдегидом, при 254 нм.
ГФ РБ том 2	ТСХ эфирного извлечения из водного гидролизата	Аммиака р-р, вода, этанол 96%, этилацетат (1:9:25:65)	Обработка анисовым альдегидом, при 254 нм.
Фармакопея Японии 17 издание	ТСХ водно-этанольного извлечения	Н-бутанол, л.ук.кисл., вода (7:1:2)	При 254 нм
Фармакопея КНР	ТСХ н-бутанольного экстракта из матенольного извлечения	Этилацетат, муравьиная кислота, л.ук.кислота, вода (15:1:1:2)	Обработка 1% раствором серной кислоты в этаноле

В большинстве фармакопей, которые указаны выше для количественного определения ГК применяют метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), за исключением XIV издания Государственной фармакопеи РФ [70], где допускается использование спектрофотометрического метода в ультрафиолетовой области. Анализ условий хроматографирования, приведённых в фармакопеях Европейского Союза, Японии, показывает, что для фиксации ГК применяются длины волн: 254 нм – в ЕФ, 258 нм – в РФ при использовании спектрофотометрии в УФ-области.

Таблица 2. Методы количественного определения ГК по фармакопеям

Фармакопея	Метод	Концентрация ГК %	Длина волны
ГФ РК том 2	ВЭЖХ	Не менее 4%	254 нм
ГФ РФ XIV издание	СФ в УФ области	Не менее 6%	258 нм

Европейская фармакопея 9.0	ВЭЖХ	Не менее 4%	254 нм
Фармакопея Японии 17 издание	ВЭЖХ	Не менее 2,5%	254 нм
Фармакопея КНР	ВЭЖХ	Не менее 2%	250 нм

Для точной идентификации растительных компонентов, входящих в состав биологически активных добавок, обычно применяют комплексный подход, который включает макроскопическое и микроскопическое изучение исходного растительного сырья. После этого проводят химические методы анализа, обычно выполняемые на полученных экстрактах. Среди таких методов наибольшее распространение получили тонкослойная хроматография (ТСХ) и высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), которые часто комбинируют с детектированием при помощи ультрафиолетовой спектроскопии или масс-спектрометрии. Этот подход позволяет не только подтвердить наличие ключевых активных веществ, но и выявить посторонние примеси, обеспечивая высокую достоверность и воспроизводимость результатов анализа [75,76].

В ряде работ количественное определение ГК в различных лекарственных формах корня солодки — сухом и густом экстрактах, а также сиропе — выполнялось методом спектрофотометрии в УФ-области. Оптическая плотность растворов измерялась при длине волны 258 нм в кюветах с толщиной слоя 10 мм, при этом в качестве эталона использовался стандартный образец глицирама. Полученные результаты показали, что содержание ГК в исходном сырье составляло от 10,51% до 15,24%, в сухом экстракте — от 18,35% до 21,80%, в густом экстракте — от 7,08% до 13,92%, а в сиропе — от 0,25% до 0,73% [78]. В работе [80] была подтверждена как теоретически, так и экспериментально технология разработки и стандартизации дермальной мази, содержащей густой экстракт корня солодки и эфирные масла ромашки и чайного дерева, предназначенной для терапии атопического дерматита. Количественное определение ГК в составе мази осуществлялось через экстракцию вещества из препарата, превращение его в аммониевую соль и измерение оптической плотности полученного раствора при длине волны 258 ± 2 нм. Концентрацию ГК на грамм мази рассчитывали с применением стандартного образца глицирама, выполняя шесть параллельных определений; нормативное содержание ГК составило 0,0028 г/г мази в пересчёте на глицирам. Дополнительно идентификация ГК проводилась с помощью тонкослойной хроматографии (ТСХ) в сочетании с УФ-детектированием при 254 нм, где определяемое вещество проявлялось как жёлтое пятно с $R_f \sim 0,3$, соответствующее стандарту глицирама [80].

НМС (4-нитро-2-феноксиметансульфонамид) является фармакологически активным веществом из группы НПВС (рис.1). По физическим свойствам он представлен бесцветными игольчатыми кристаллами или порошком бледно-жёлтого оттенка. Температура плавления субстанции находится в пределах 148–149 °С, что является важным показателем её термической стабильности. НМС практически не растворим в воде, однако демонстрирует хорошую растворимость в водных щелочных растворах, что обусловлено его химической природой. Высокая растворимость наблюдается также в органических растворителях, таких как диметилформамид (ДМФА) и ацетон, тогда как в этаноле и этилацетате вещество растворяется удовлетворительно, что важно учитывать при разработке методик анализа и приготовления лекарственных форм [81].

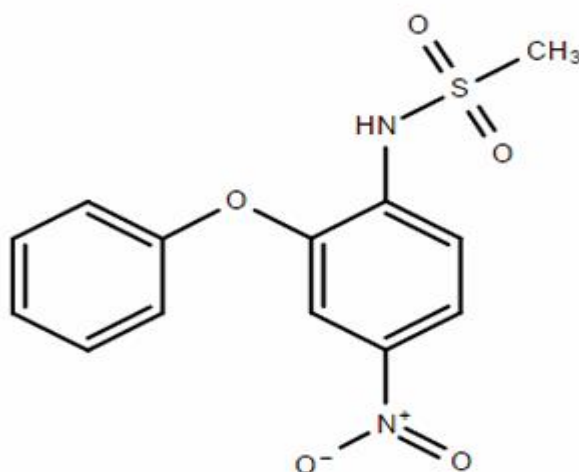


Рисунок 2. Нимесулид - N-(4-нитро-2-феноксифенил) метансульфонамид
Молекулярная масса: 308,31 г/моль

В литературе представлены подходы к его обнаружению [82,83]. Такие данные позволяют подтверждать присутствие субстанции и оценивать её подлинность в различных образцах, что представляет интерес для разработки методик контроля и стандартизации. В частности, в литературных источниках для идентификации и количественного определения НМС применялись различные аналитические методы, включая тонкослойную хроматографию (ТСХ) [84,85], высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) [84-86], спектрофотометрию в ультрафиолетовой области (СФ в УФ) [81,84,87,88] что позволяет комплексно проводить обнаружение и подтверждать подлинность субстанции, а также оценивать её количественное содержание.

Идентификация методом ТСХ. Очищенный концентрат НМС (остаток

после колоночной хроматографии) растворяли в небольшом объёме хлороформа и полностью наносили на линию старта ТСХ пластины «Сорбфил» ПТСХ-АФ-В-УФ в виде полосы. Хроматографирование выполняли с использованием системы растворителей толуол–ацетонитрил (7:3) при одновременном введении вещества-свидетеля. Полученные хроматограммы анализировали в УФ свете, а идентификацию НМС проводили по значению коэффициента удерживания $R_f = 0,74 \pm 0,02$ [81,86,89,90].

В другом исследовании идентификацию НМС также проводили методом ТСХ. Вытяжку из образца и стандартный раствор наносили на пластинку и развивали с использованием различных систем растворителей. Для визуализации применяли следующие проявители: реактив Драгендорфа — жёлтое окрашивание, реактив Бима — оранжево-жёлтое окрашивание, 3% раствор дихромата калия в серной кислоте — коричневое окрашивание, концентрированная серная кислота — жёлтое окрашивание. Пятна НМС из образца совпадали с пятнами стандарта по значениям hR_f (для системы хлороформ–этанол (9:1) [82].

В ряде исследований оценивали возможность применения ТСХ для обнаружения НМС в присутствии других НПВС и анальгетиков. Хроматографирование проводили на пластинках с сорбентом «Сорбфил» в различных системах растворителей, а детекцию осуществляли с использованием реактива Драгендорфа и ультрафиолетового излучения при 254 нм. Оптимальное разделение изучаемых веществ, в том числе при их совместном присутствии с другими НПВС и наркотическими анальгетиками, достигалось в системе хлороформ:ацетон (9:1). Для целенаправленного анализа НМС применялись также частные системы растворителей, обеспечивавшие эффективное разделение: гексан–ацетон (2:1) [84,90].

В дополнение к хроматографическим методам, описанным выше, в литературе приведён спектрофотометрический подход к анализу НМС в щелочной среде. В исследовании рассматривалось определение трёх веществ — НМС, амоксициллина и *Tribulus terrestris* — в модельных щелочных растворах, биологических образцах (крови и мочи), а также в лекарственных формах. Для каждого соединения были зарегистрированы оптические характеристики и определены длины волн максимального поглощения: для НМС — 460 нм, для амоксициллина — 530 нм, для *Tribulus terrestris* — 350 нм. Установлено, что НМС в щелочной среде демонстрирует устойчивый максимум поглощения при 460 нм, что обеспечивает возможность его надёжного и воспроизводимого спектрофотометрического определения [87].

В различных литературных источниках используют аналитическую длину волны от 290 до 404 нм. Это связано с особенностями спектра поглощения НМС

[83]. Наиболее близким и принятым за прототип является способ спектрофотометрического определения НМС в диапазоне длин волн от 200 до 500 нм [91].

В работе Шорманова В.К. идентификация НМС проводилась методом электронной СФ. Пятно исследуемого вещества вырезали с хроматограммы и элюировали с помощью 5 мл ДМФА в течение 15 минут. Полученный элюат отделяли и регистрировали его спектр поглощения в диапазоне длин волн 250–500 нм с использованием СФ-2000 и кварцевых кювет с оптическим путём 10 мм. В качестве раствора сравнения применяли элюат, полученный в контрольном опыте. При высоких концентрациях анализируемого вещества элюат предварительно разводили ДМФА. Количественное определение НМС осуществляли по значению оптической плотности элюата при $\lambda = 439,4$ нм, рассчитывая содержание субстанции на основе градуировочного графика [81,85].

Выводы

1. Комбинация НПВС с ГК является перспективным подходом, позволяющим сохранить противовоспалительную эффективность при одновременном снижении токсического воздействия и улучшении фармакокинетических характеристик препаратов, что подтверждается литературными данными и клиническим опытом применения КЛП на основе ГК и обосновывает целесообразность дальнейших исследований в данном направлении.
2. Проведённый информационно-аналитический анализ фармакопей ведущих стран и других литературных источников показал, что стандартизация и контроль качества сырья корня солодки и НМС основываются преимущественно на использовании современных инструментальных методов. Для идентификации и количественного определения биологически активных соединений и синтетических компонентов применяются ВЭЖХ, СФ в УФ- и ИК-областях, а также ТСХ, что обеспечивает высокую точность и воспроизводимость аналитических процедур.
3. Анализ доступных литературных источников показывает, что в настоящее время отсутствуют исследования, посвящённые разработке и валидации методик одновременного количественного определения нимесулида и глицирризиновой кислоты при их совместном присутствии. Существующие работы, как правило, рассматривают эти вещества отдельно, не учитывая возможные аналитические взаимодействия и влияние компонентов смеси на результаты определения. В связи с этим возникает необходимость разработки и совершенствования современных аналитических методик для многокомпонентных систем, включающих синтетические и природные активные вещества.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Глава 2. Характеристика объектов и методов исследования

Материалы и методы, использованные для проведения научных исследований, соответствуют требованиям Государственной фармакопеи Республики Казахстан (ГФ РК), и Фармакопеи Евразийского экономического союза (ФЕАЭС), (ГФ РФ XIV изд.), аналитического нормативного документа (АНД), ВАНД и других нормативных документов, регламентирующих качество лекарственных средств в Республике Казахстан. В работе использованы химические, физико-химические методы исследования.

2.1 Материалы исследования

2.1.1 Фармацевтические субстанции

ГК ($\geq 98\%$) — производитель Китай; CAS 1405-86-3. Качество подтверждено сертификатом анализа (CoA) производителя. В связи с отсутствием отдельной фармакопейной статьи на ГК, оценка качества проводилась с учетом требований фармакопейной монографии на родственное соединение — моноаммонийную соль ГК (глицирризинат аммония) (ФЕАЭС и ГФ РФ, XV изд.) [92, 93] с учётом различий в химической природе и физико-химических свойствах. При этом учитывали, что ГК, в отличие от аммониевой соли, обладает ограниченной растворимостью в воде, что принималось во внимание при выборе условий анализа и оценке показателей качества.

НМС ($\geq 99\%$) — производитель Китай; CAS 51803-78-2. Качество подтверждено CoA. Дополнительно проведен анализ субстанции и дана характеристика в соответствии с фармакопейными требованиями [94]. Представляет собой жёлтый кристаллический порошок, практически нерастворим в воде, растворим в органических растворителях.

2.1.2 Лабораторные образцы таблеток КЛП

Состав одной таблетки:

Глицирризиновая кислота – 50мг;

Нимесулид – 50мг;

Натрия крахмалгликолят — 5мг;

Магния стеарат — 2мг;

Натрия кроскармеллоза — 5мг;

Лактоза моногидрат — 100мг;

МКЦ – 90мг;

Аэросил – 3мг;

2.1.3 Реактивы

Метанол

Methanol

CH₃OH М.м. 32,04

Настоящий стандарт распространяется на метанол, представляющий собой бесцветную прозрачную подвижную жидкость с характерным запахом, напоминающим этиловый спирт; смешивается с водой, эфиром и большинством органических растворителей.

Вода очищенная (ГФ РК, I том – 2008)

Purified water

H₂O М.м. 18,02

Настоящий стандарт распространяется на воду очищенную, представляющую собой бесцветную прозрачную жидкость без запаха и вкуса, получаемую обработкой воды питьевой методом дистилляции.

Натрия гидроксид 0,1 М (ГФ РК, I том – 2008)

Sodium hydroxide 0,1 M

NaOH М.м. 40,00

Настоящий стандарт распространяется на водный раствор гидроксида натрия концентрации 0,1 моль/л, представляющий собой бесцветную прозрачную жидкость без запаха; получается растворением натрия гидроксида в воде очищенной с последующим установлением титра по стандартному образцу.

Этанол (ГФ РК, I том – 2008)

Ethanol

C₂H₅OH М.м. 46,07

Настоящий стандарт распространяется на этанол (этиловый спирт), представляющий собой бесцветную прозрачную подвижную летучую жидкость с характерным запахом и жгучим вкусом; смешивается с водой, хлороформом, эфиром и большинством органических растворителей.

Уксусная кислота ледяная (ГФ РК, I том – 2008)

Glacial acetic acid

CH₃COOH М.м. 60,05

Настоящий стандарт распространяется на уксусную кислоту ледяную (концентрированную уксусную кислоту), представляющую собой бесцветную прозрачную подвижную жидкость с резким характерным запахом и кислым жгучим вкусом; при температуре ниже 16,6 °С кристаллизуется в бесцветные кристаллы (лед); смешивается с водой, этанолом, эфиром и хлороформом.

Хлороформ (ГФ РК, I том – 2008)

Chloroform

CHCl₃ М.м. 119,38

Настоящий стандарт распространяется на хлороформ (трихлорметан), представляющий собой бесцветную прозрачную летучую жидкость с характерным сладковатым запахом; смешивается с этанолом, эфиром, бензолом и большинством органических растворителей, с водой смешивается

ограниченно.

Кислота хлороводородная 0,1 М (ГФ РК, I том – 2008)

Hydrochloric acid 0,1 M

HCl М.м. 36,46

Настоящий стандарт распространяется на разведённую соляную кислоту — водный раствор хлористого водорода концентрации 0,1 моль/л, представляющий собой бесцветную прозрачную жидкость с резким запахом; получается разведением концентрированной соляной кислоты водой очищенной до требуемой молярной концентрации.

2.2. Методы исследования.

2.2.1 Химические методы

1. Определение подлинности лекарственных веществ

- а) ГК - для идентификации ГК в комбинированном препарате применены специфические тритерпеноидной структуры и функциональных групп.
- б) НМС - для идентификации НМС в комбинированном препарате были применены методики идентификации с помощью качественных реакций, сопровождающихся характерным окрашиванием, представленных в соответствующем разделе.

2.2.2 Физические и физико-химические методы

1. Определение растворимости, удельного показателя поглощения, pH растворов проведено согласно ГФ РК, том I – 2008 и ФЕАЭС I том, 1 и 2 часть, 2020 и 2021.

2. Значения pH растворов определены с помощью pH метра 827 («MetrohmAG», Швейцария). Измерительные работы выполнены с использованием аналитических весов («RADWAG», серия AS, Польша) и набора мерной посуды (Россия).

3. Тонкослойная хроматография. Метод тонкослойной хроматографии применен для идентификации активных ингредиентов и определения посторонних примесей в КЛП. Работы выполнены с использованием комплекта приборов для проведения тонкослойной хроматографии (Россия), хроматографических пластинок «Sorbfil» ПТСХ-АФ-АиПТСХ-П-В (высокоэффективные) размером 10×10 см.

4. УФ-спектрофотометрия. Метод использован для количественного определения КЛП. Работа выполнена на СФ-2000 с программным обеспечением ОКБ «Спектр», Россия.

Статистическая обработка результатов. При обработке полученных результатов исследований применен метод вариационно-статистического анализа с использованием критерия достоверности по Стьюденту (Р -0,95) на SPSS Statistics — компьютерная программа для статистической обработки

данных.

Для определения специфичности, линейной зависимости, правильности, воспроизводимости методик количественного анализа активных ингредиентов в КЛП использован метод валидации в соответствии с общей ФС ГФ РК, I том— 2008 «Валидация аналитических методик и испытаний». Результаты статистической обработки приведены в соответствующих разделах.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Глава 3. Результаты собственных исследований и их обсуждения

3.1 Разработка методик идентификации активных веществ комбинированного лекарственного препарата химическими и физико- химическими методами

3.1.1 Методика идентификации активных веществ с помощью химических реакций

Объектами исследования являлись лабораторные образцы таблеток, содержащие ГК и НПВС.

Активные ингредиенты:

1. ГК – 50 мг;
2. НМС - 50 мг.

Неактивные ингредиенты:

1. Натрия крахмалгликолят — 5мг;
2. Магния стеарат — 2мг;
3. Натрия кроскармеллоза — 5мг;
4. Лактоза моногидрат — 100мг;
5. МКЦ – 90мг;
6. Аэросил – 3мг.

Для идентификации ГК были использованы ранее известные, часто используемые фармакопейные реакции на тритерпеновые сапонины – пенообразования (ГФ РФ XIV изд.), цветные реакции (ГФ РФ XIII изд.).

Реакция пенообразования (на сапонины)

Навеску модельной смеси КЛП, эквивалентную 50 мг ГК, помещают в коническую колбу, добавляют 10 мл 0,25% раствора гидроксида аммония и интенсивно взбалтывают. Образуется обильная устойчивая пена.

Цветная реакция с ванилином

Навеску модельной смеси КЛП, эквивалентную 20 мг ГК, смешивают с 4 мл 0,5% раствора ванилина в концентрированной серной кислоте. Наблюдается окрашивание раствора в желтый цвет. При добавлении воды по каплям происходит изменение окраски от желтой до красной.

Реакция щелочного гидролиза с последующим диазотированием и азосочетанием (на НМС)

Навеску модельной смеси КЛП, эквивалентную 50 мг НМС, измельчают и переносят в коническую колбу вместимостью 100 мл, добавляют 20 мл раствора натрия гидроксида (1 М). Смесь нагревают на водяной бане при температуре 80–90 °С в течение 20 минут. После охлаждения при необходимости фильтруют. Отбирают 5,0 мл полученного раствора, добавляют 2,0 мл раствора хлороводородной кислоты (1 М) и охлаждают. Затем прибавляют 1,0 мл раствора

натрия нитрита (0,1 М), выдерживают 2–3 минуты, после чего добавляют 1,0 мл 1% раствора сульфаминовой кислоты. Далее вносят 1,0 мл раствора β -нафтола (0,1%) и при необходимости создают слабощелочную среду добавлением 1–2 мл раствора натрия гидроксида (1 М). Появление интенсивного оранжево-красного окрашивания свидетельствует о наличии НМС.

3.1.2 Методика идентификации активных веществ и их родственных примесей методом тонкослойной хроматографии

Для проведения ТСХ использовался набор оборудования: пластины нормально-фазового сорбента «Сорбфил ПТСХ-АФ-В-УФ254» (Россия) размером 10×10 см, пипетки с регулируемым объёмом, хроматографические камеры, УФ-хроматоскоп (Ленхром, картриджи 254/365 нм), аналитические весы ВЛК-224С-И (Госметр, Россия), а также сушильный шкаф BINDER (Германия); растворители и реагенты класса «ч.д.а»: метанол, этанол, хлороформ, ледяная уксусная кислота и очищенная вода.

Хроматографирование выполнялось восходящим методом в стеклянной камере, предварительно насыщенной парами подвижной фазы в течение 30 минут. Для выявления и визуализации зон анализируемых веществ использовался ультрафиолетовый свет с длиной 254 нм.

Подбор условий хроматографирования

НМС — слабокислое соединение ($pK_a \approx 6,5$), содержит ароматическое ядро и нитрогруппу, умеренно растворим в органических растворителях (хлороформ, ацетон, этанол) и плохо растворим в воде [93]. Для обеспечения его перемещения на сорбенте требовался органический растворитель с небольшим полярным компонентом, регулирующий скорость продвижения пятна.

ГК — полярная кислота с несколькими карбоксильными и гидроксильными группами, плохо растворима в неполярных растворителях и требует полярной среды (метанол, вода, уксусная кислота) для достаточной подвижности на пластинке [69,92].

Указанные различия в физико-химических свойствах НМС и ГК обуславливают необходимость применения многокомпонентной подвижной фазы, включающей растворители с различной полярностью и функциональным назначением.

Хлороформ выбран в качестве основного компонента подвижной фазы как растворитель низкой полярности, обеспечивающий эффективную миграцию НМС и формирующий базовый уровень элюирующей способности системы, что предотвращает чрезмерное удерживание менее полярного компонента.

Метанол вводится в качестве полярного модификатора, повышающего общую полярность подвижной фазы; его присутствие необходимо для

элюирования ГК, поскольку он ослабляет ее взаимодействие с силикагелем и способствует перемещению из стартовой зоны.

Уксусная кислота используется как кислотный модификатор, что позволяет подавлять ионизацию ГК, уменьшать ионные взаимодействия с поверхностью сорбента, блокировать активные центры силикагеля и улучшать форму хроматографических зон, обеспечивая снижение хвостования и повышение симметрии пятен.

Таблица 3. Влияние состава элюента на подвижность НМС и ГК

№	Состав ПФ (об.)	Rf НМС	Rf ГК	Характеристика разделения
1	Хлороформ : метанол : уксусная кислота (9:1:0,1)	0,75	0,15	НМС быстро мигрирует, ГК остаётся близко к старту;
2	Хлороформ : метанол : уксусная кислота (8,5:1,5:0,1)	0,70	0,22	Подвижность ГК увеличилась; зоны заметно разнесены, но форма пятен не идеальна
3	Хлороформ : метанол : уксусная кислота (8:2:0,1)	0,65	0,30	Удовлетворительное разделение; пятна компактные, хвостирование снижено
4	Хлороформ : метанол : уксусная кислота (8:2:0,2)	0,60	0,35	Оптимальное разделение: зоны четкие, симметричные, высокое воспроизводимое разрешение
5	Хлороформ : метанол : уксусная кислота (7,5:2,5:0,2)	0,55	0,42	Дальнейшее увеличение полярного компонента повышает Rf ГК, но снижает различие между компонентами, форма пятен ухудшается
6	Хлороформ : метанол : уксусная кислота (7:3:0,2)	0,50	0,48	Значительное сближение Rf компонентов, селективность снижается; размывание зон

Анализ результатов подбора подвижной фазы показал, что системы с меньшей долей метанола (№1–2) не обеспечивают достаточной миграции ГК, которая удерживается у линии старта, что делает их непригодными для точного анализа.

При увеличении содержания метанола до двух частей и добавлении 0,2

части уксусной кислоты (№4) достигается оптимальный баланс подвижности компонентов, обеспечивается четкая форма пятен и оптимальное различие значений R_f , составляющее 0,60 для НМС и 0,35 для ГК.

Дальнейшее повышение доли полярного компонента (№5–6) приводит к сближению значений R_f , ухудшению селективности и размытию пятен, что снижает точность определения.

На основании полученных данных оптимальной признана подвижная фаза хлороформ: метанол: уксусная кислота в соотношении 8:2:0,2, которая обеспечивает удовлетворительное различие зон, высокую воспроизводимость и четкость пятен, что делает ее пригодной для разработки и валидации ТСХ-методики контроля качества КЛП.

На хроматограммах, полученных при анализе извлечений из КЛП, не содержащего действующих веществ (плацебо), посторонние или неидентифицируемые зоны не обнаружены. Это подтверждает корректность выбранных условий пробоподготовки и отсутствие влияния вспомогательных веществ на результаты анализа.

Пробоподготовка

Испытуемый раствор. К точной навеске порошка растёртых таблеток, эквивалентной 50 мг НМС и 50 мг ГК, добавляют 10 мл метанола и подвергают ультразвуковой обработке в течение 10 минут. Полученный раствор фильтруют. Концентрации в растворе составляют: НМС — 5,0 мг/мл, ГК — 5,0 мг/мл. Количество вещества при нанесении 10 мкл составляет: НМС — 50 мкг/пятно, ГК — 50 мкг/пятно.

Стандартный раствор сравнения (а). 20 мг ГК растворяют в 5 мл метанола, выдерживают на ультразвуковой бане в течение 2 мин, объем доводят метанолом до 10 мл.

Стандартный раствор сравнения (b). 20 мг НМС растворяют в 5 мл метанола, выдерживают на ультразвуковой бане в течение 2 мин, объем доводят метанолом до 10 мл.

Стандартный раствор сравнения (с). 10 мг субстанции НМС растворяют в 10 мл метанола. Затем 1 мл полученного раствора доводят метанолом до 50 мл.

Раствор сравнения (d). Смешивают по 1 мл раствора сравнения (а) и раствора сравнения (b) и добавляют 2 мл метанола.

Методика хроматографирования

На линию старта наносят: 10 мкл испытуемого раствора (а) (50 мкг НМС и 50 мкг ГК), 5 мкл раствора сравнения (а) (10 мкг ГК), 5 мкл раствора сравнения (b) (10 мкг НМС), 5 мкл раствора сравнения (с) (0,1 мкг НМС) и 5 мкл раствора сравнения (d) (5 мкг ГК + 5 мкг НМС).

Пластинку высушивают на воздухе помещают в камеру, предварительно

насыщенную парами подвижной фазы, и хроматографируют восходящим способом до прохождения фронта растворителя на расстояние около 8–10 см от линии старта. Детектирование проводят в УФ-свете при 254 нм.

На хроматограмме испытуемого раствора (а) должны обнаруживаться два основных пятна, соответствующие по положению основным пятнам на хроматограммах растворов сравнения (а) и (b), любое дополнительное пятно, кроме основных двух пятен, не должно превышать по интенсивности и размеру пятно раствора сравнения (с) (не более 2%).

Пригодность хроматографической системы. Хроматографическая система считается пригодной, если на хроматограмме раствора сравнения (d) четко разделены два пятна.

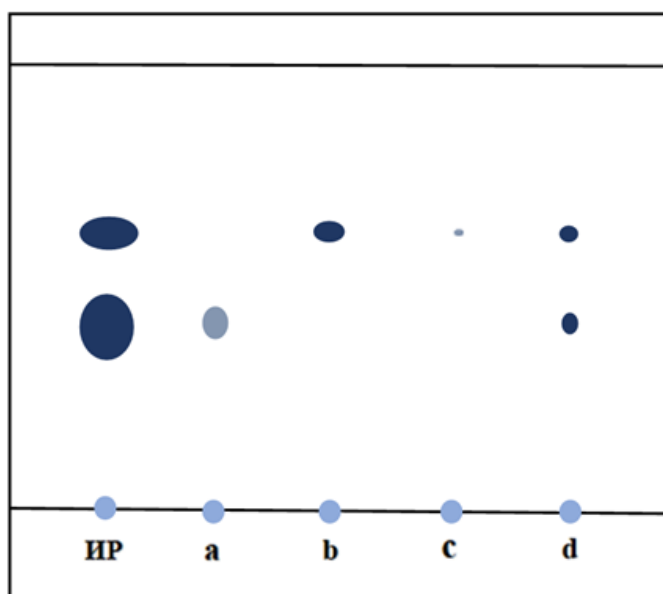


Рисунок 3. Схематическое расположение зон стандартных растворов и испытуемого раствора в оптимальной системе растворителей

Валидация

Специфичность. При анализе хроматограмм извлечений из КЛП, не содержащих активных веществ, неидентифицируемые пятна не выявлялись, что указывает на специфичность методики и отсутствие влияния вспомогательных веществ.

Оценку чувствительности проводили по минимальному количеству вещества, при котором хроматографические зоны анализируемых компонентов уверенно визуализировались в УФ-свете при 254 нм. Для НМС предел обнаружения составил 0,1 мкг/зона, для ГК — 0,5 мкг/зона. Полученные результаты подтверждают достаточную чувствительность разработанного

метода ТСХ для надёжной идентификации действующих веществ в составе КЛП, а также для выявления значимых изменений хроматографического профиля при оценке стабильности.

Установлено, что значения RSD не превышают 5%, что соответствует установленным критериям приемлемости и характеризует методику как прецизионную. Малые значения доверительных интервалов свидетельствуют о высокой воспроизводимости полученных результатов. Полученные метрологические характеристики подтверждают надёжность и пригодность разработанной ТСХ-методики для анализа КЛП.

Таблица 4. Валидационные характеристики разработанной методики

Параметр валидации	НМС	ГК	Критерий приемлемости
Специфичность	Пятно с Rf 0,66, без наложений	Пятно с Rf 0,34, без наложений	Отсутствие интерференции
Линейность (мкг/зона)	2–12	2–12	$r \geq 0,99$
Коэффициент корреляции (r)	0,998	0,997	$\geq 0,99$
Прецизионность (RSD, %)	3,2	3,8	$\leq 5\%$
Повторяемость Rf (n=6)	$0,66 \pm 0,01$	$0,34 \pm 0,02$	$RSD \leq 5\%$
LOD, мкг	1,0	1,0	–

Полученные результаты свидетельствуют о достаточной чувствительности и воспроизводимости методики.

Таблица 5. Метрологические характеристики ТСХ-методики

Параметр	НМС	ГК	НМС и ГК в КЛП
Rf ($\bar{X}$)	0,66	0,34	0,66 / 0,34
SD	0,01	0,02	0,01 / 0,02
RSD, %	3,2	3,8	1,5 / 2,1

Параметр	НМС	ГК	НМС и ГК в КЛП
$\Delta \bar{X}$ (p=0,95)	$\pm 0,01$	$\pm 0,02$	$\pm 0,01 / \pm 0,02$

Значения RSD не превышают допустимых пределов, установленных фармакопейными требованиями, что подтверждает приемлемость методики. Линейность оценивали в диапазоне концентраций 2–12 мкг/пятно для каждого действующего вещества.

Таблица 6. Параметры линейности

Показатель	НМС	ГК
Диапазон концентраций, мкг/пятно	2–12	2–12
Коэффициент корреляции (r)	0,998	0,997
Уравнение регрессии	$y = 0,082x + 0,014$	$y = 0,075x + 0,012$

Высокие значения коэффициентов корреляции подтверждают наличие линейной зависимости между концентрацией и интенсивностью сигнала.

Разработанная ТСХ-методика использована для исследования стабильности лабораторных образцов КЛП в условиях ускоренного старения.

Условия эксперимента. Образцы хранили в сушильном шкафу марки BINDER (Германия) при температуре 40 ± 2 °C и относительной влажности $75 \pm 5\%$.

Продолжительность исследования составила 6 месяцев.

Таблица 7. Результаты исследования стабильности методом ускоренного старения

Срок наблюдения	Rf (НМС)	Rf (ГК)	Rf НМС и ГК в КЛП	Описание хроматографических зон
0 мес	$0,66 \pm 0,01$	$0,34 \pm$	$0,66 / 0,34$	Зоны имеют чёткие границы и компактную форму; образец

Срок наблюдения	Rf (НМС)	Rf (ГК)	Rf НМС и ГК в КЛП	Описание хроматографических зон
		0,02		соответствует исходному состоянию
3 мес	$0,66 \pm 0,01$	$0,34 \pm 0,02$	$0,66 / 0,34$	Существенных изменений не выявлено; форма и расположение зон сохраняются, посторонние пятна отсутствуют
6 мес	$0,65 \pm 0,01$	$0,33 \pm 0,02$	$0,65 / 0,33$	Отмечаются незначительные изменения интенсивности; при этом чёткость разделения сохраняется, дополнительных зон не наблюдается

Как следует из данных, представленных в таблице 15, в течение всего периода ускоренного хранения (6 месяцев) значения Rf НМС и ГК в составе КЛП оставались практически неизменными и соответствовали показателям исходных веществ.

Отсутствие дополнительных хроматографических зон указывает на то, что в исследуемых условиях не происходит разложения действующих компонентов и их взаимного химического взаимодействия.

3.2. Методика количественного анализа активных веществ методом УФ-спектрофотометрии

Для проведения исследований использовался спектрофотометр СФ-2000 (Россия) с программным обеспечением ОКБ «Спектр». Взвешивание — на весах «Shimadzu» AUW-320 (0,0001 г). Статистическую обработку выполняли в Microsoft Excel 2021. В работе применялись метанол квалификации «ч.д.а»; раствор натрия гидроксида 0,1 М, (ГФ РК, II изд., том 1, ОФС «Реактивы»); воду очищенную (ГФ РК XIV изд., статья «Вода очищенная») [92].

В ходе экспериментальных исследований изучены спектральные характеристики НМС и ГК в зависимости от рН среды; полученные результаты согласуются с данными литературы и требованиями нормативной документации [93-96]. Спектральные характеристики НМС и ГК в зависимости от рН среды представлены в таблице 8.

Таблица 8. Спектральные характеристики НМС и ГК в различных аналитических средах

Компонент	Среда (рН)	λ_{max} , нм	$E^{1\%}_{1\text{см}}$	Спектральные особенности
НМС	Кислая (1–3)	295–300	420–450	Неионизированная форма, менее выраженное поглощение
НМС	Нейтральная (6–7)	300–302	~460–480	Частичная ионизация, незначительный батохромный сдвиг
НМС	Щелочная (8–10)	305–315	490–520	Ионизация сульфонамидной группы, батохромный сдвиг, рост интенсивности
ГК	Кислая (1–3)	245–250	180–220	Протонированная форма, стабильный максимум
ГК	Нейтральная (6–7)	248–252	200–240	Незначительное изменение электронной структуры
ГК	Щелочная (8–10)	250–255	220–260	Ионизация карбоксильных групп, слабый батохромный сдвиг

Для НМС и ГК характерны батохромный сдвиг и увеличение интенсивности поглощения с ростом рН; при этом наблюдается спектральное разобширение максимумов ($\Delta\lambda \approx 50$ нм), что является ключевым условием для их одновременного количественного определения.

Для обеспечения одновременного и полного извлечения действующих веществ из комбинированного лекарственного препарата необходим обоснованный выбор растворителя.

С учётом физико-химических свойств НМС и ГК в качестве оптимальной среды выбрана смесь метанола с 0,1 М раствором NaOH (pH $\approx$ 9).

В щелочной метанольной среде НМС, обладающий слабокислотными свойствами, частично ионизируется, что существенно повышает его растворимость по сравнению с водной и кислой средой, при этом сохраняется интенсивное УФ-поглощение с батохромным сдвигом.

ГК, являясь дикарбоновой кислотой, практически полностью диссоциирует с образованием глицирризината (дианиона), что приводит к резкому увеличению её растворимости. В этих условиях ГК проявляет свойства анионного поверхностно-активного вещества, способного к солюбилизации гидрофобного НМС с образованием ассоциированных систем, что положительно влияет на спектральные характеристики НМС, вызывая незначительный батохромный сдвиг и гиперхромный эффект.

При этом спектр ГК существенно не изменяется, однако возможно некоторое увеличение оптической плотности, обусловленное изменением микросреды (мицеллярный эффект).

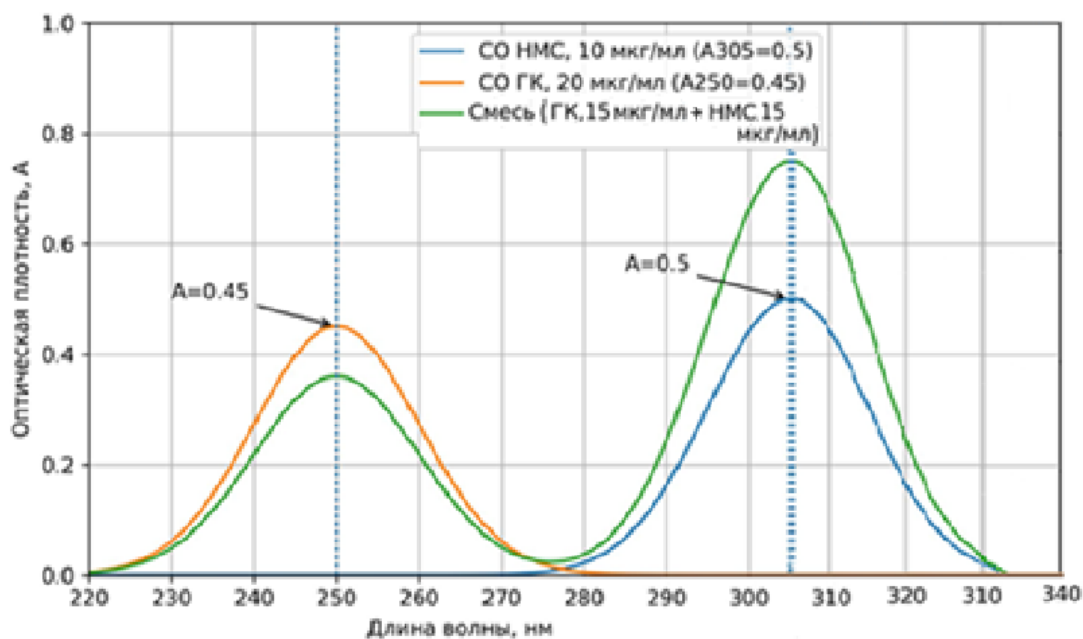


Рисунок 4. Схематическое изображение УФ-спектров стандартных растворов ГК (20 мкг/мл), НМС (10 мкг/мл) и смеси (ГК 15 мкг/мл + НМС 15 мкг/мл) в метанольно-щелочной среде (pH 9,0)

На рисунке представлены УФ-спектры НМС, ГК и их модельной смеси в метанольно-щелочной среде ($\text{pH} \approx 9$). НМС характеризуется максимумом поглощения при 305 нм, тогда как ГК имеет максимум при 250 нм. Спектр модельной смеси представляет собой суперпозицию индивидуальных спектров с сохранением характерных максимумов, что подтверждает отсутствие химического взаимодействия, влияющего на хромофорные системы компонентов.

Для выбора рабочей концентрации испытуемого раствора, в котором возможно одновременное количественное определение обоих действующих веществ, был проведён сравнительный анализ спектральных характеристик НМС и ГК (таб. 9).

Таблица 9. Сравнительный анализ спектральных характеристик НМС и ГК в зависимости от концентрации

Объект	Компонент	Концентрация, мкг/мл	λ , нм	Оптическая плотность (A)	$E^{1\%}_{1\text{см}}$
Стандарт	НМС	10	305	0,50	500
Стандарт	НМС	10	250	0,04	40
Стандарт	ГК	10	250	0,24	240
Стандарт	ГК	10	305	0,02	20
Стандарт	НМС	15	305	0,75	500
Стандарт	НМС	15	250	0,04	30
Стандарт	ГК	15	250	0,36	240
Стандарт	ГК	15	305	0,03	20
Стандарт	НМС	20	305	1,00	500
Стандарт	НМС	20	250	0,05	25
Стандарт	ГК	20	250	0,48	240
Стандарт	ГК	20	305	0,04	20

При выбранных концентрациях (10–20 мкг/мл) наблюдается высокая селективность спектрального определения компонентов: НМС характеризуется максимальным поглощением при 305 нм, тогда как ГК — при 250 нм. При этом значения оптической плотности НМС при 250 нм ($A \leq 0,04$) и ГК при 305 нм ($A \leq 0,03$) являются незначительными по сравнению с аналитическими сигналами основных максимумов. Таким образом, взаимный вклад компонентов в

измерение оптической плотности на аналитических длинах волн минимален и может быть пренебрежимо мал, что подтверждает возможность их одновременного количественного определения без существенного влияния перекрывания спектров.

Учитывая соотношение НМС и ГК 1:1, а также их спектральные характеристики (значения удельных коэффициентов экстинкции), для выбора рабочих концентраций рассмотрены два подхода.

В первом варианте использованы равные концентрации компонентов — по 15 мкг/мл; при этом оптическая плотность НМС составляет около 0,75 (305 нм), ГК — около 0,36 (250 нм), что соответствует линейной области закона Бугера–Ламберта–Бера и исключает значимое спектральное перекрывание.

Во втором варианте применены концентрации НМС — 10 мкг/мл и ГК — 20 мкг/мл; значения оптической плотности (0,50 и 0,48 соответственно) также находятся в оптимальном диапазоне.

Принципиальное различие между подходами заключается в условиях анализа. В первом варианте (рабочие концентрации ГК и НМС по 15 мкг/мл) измерения проводят в одном растворе при двух длинах волн (ГК — 252 нм, НМС — 305 нм) без дополнительной пробоподготовки. Во втором варианте исходно готовят раствор с концентрациями ГК и НМС по 20 мкг/мл и измеряют оптическую плотность ГК при 252 нм; затем раствор разбавляют в два раза (до 10 мкг/мл каждого компонента) и в полученной рабочей концентрации проводят измерение оптической плотности НМС при 305 нм.

Оба подхода апробированы на модельных смесях таблеточной массы КЛП ($n = 3$) и показали сопоставимые метрологические характеристики; дополнительная операция разведения во втором варианте не приводит к увеличению погрешности анализа (таб. 10).

Таблица 10. Сравнение вариантов измерения оптической плотности модельных смесей ($n=3$)

Показатель	Вариант 1 (НМС 15 мкг/мл; ГК 15 мкг/мл)	Вариант 2 (НМС 10 мкг/мл; ГК 20 мкг/мл)
А (НМС, 305 нм)	$0,75 \pm 0,01$	$0,50 \pm 0,01$
А (ГК, 250 нм)	$0,36 \pm 0,01$	$0,48 \pm 0,01$
Относительная погрешность, %	1,3	1,2
Воспроизводимость	1,5	1,4

Показатель	Вариант 1 (НМС 15 мкг/мл; ГК 15 мкг/мл)	Вариант 2 (НМС 10 мкг/мл; ГК 20 мкг/мл)
(RSD), %		

Полученные результаты подтверждают эквивалентность вариантов по точности и воспроизводимости и позволяют рекомендовать первый вариант как более предпочтительный с точки зрения простоты выполнения анализа.

Выбранные условия анализа апробированы на модельных смесях таблеток КЛП.

Приготовление растворов

Испытуемый раствор. К точной навеске порошка растёртых таблеток, эквивалентной 50 мг НМС и 50 мг ГК, прибавляют 70 мл метанола и раствор 0,1 М натрия гидроксида до достижения $\text{pH} \approx 9,0$. Смесь обрабатывают на ультразвуковой бане в течение 10 мин (не выше 25°C), фильтруют через мембранный фильтр и доводят объём метанолом до 100,0 мл (раствор А). Из раствора А готовят рабочий раствор: отбирают 3,0 мл раствора А и доводят объём метанолом до 100,0 мл. Концентрации в рабочем растворе составляют: НМС — 15 мкг/мл, ГК — 15 мкг/мл.

Стандартный раствор (а). Точную навеску субстанции НМС (около 50,0 мг) помещают в мерную колбу вместимостью 100,0 мл, растворяют в 50 мл метанола при ультразвуковой обработке (10 мин, 20°C), добавляют 0,1 М раствор натрия гидроксида до $\text{pH} \approx 9,0$ и доводят объём метанолом до метки. Отбирают 2,0 мл полученного раствора и доводят объём до 100,0 мл тем же растворителем. Концентрация НМС - 10 мкг/мл

Стандартный раствор (b). Точную навеску субстанции ГК (около 50,0 мг) помещают в мерную колбу вместимостью 100,0 мл, добавляют 50 мл метанола и раствор 0,1 М натрия гидроксида до $\text{pH} \approx 9,0$, обрабатывают ультразвуком 10 мин, доводят объём до метки метанолом. Отбирают 4,0 мл полученного раствора и доводят объём до 100,0 мл тем же растворителем. Концентрация ГК - 20 мкг/мл

Оптическую плотность измеряют при аналитических длинах волн: 305 нм — для НМС; 250 нм — для ГК, используя в качестве компенсационного раствора метанольно-щелочную среду ($\text{pH} \approx 9,0$).

Результаты определения НМС и ГК при использовании выбранных условий представлены в таблице 11.

Таблица 11. Результаты количественного определения НМС и ГК в модельных смесях ($n = 5$)

Активные ингредиенты	Введено, мг	Найдено, мг	Метрологические характеристики	
НМС	49,8	49,67	$\bar{X}$, мг	49,74
		49,90	Recovery, %	99,87
		49,50	S, мг	0,193
			RSD, %	0,39
		49,97	Δ , %	1,12
		49,55		
ГК	49,9	49,80	$\bar{X}$, мг	49,81
		49,95	Recovery, %	99,82
		49,56	S, мг	0,196
			RSD, %	0,39
		50,05	Δ , %	1,10
		49,68		

Проведенные исследования показали, что средние найденные содержания НМС и ГК составили соответственно 49,74 мг и 49,81 мг при введенных концентрациях, близких к 50 мг.

Относительные ошибки определения не превышали 1,10% и 1,12%, что соответствует допустимым критериям точности и подтверждает корректность выбранных аналитических условий, а также возможность применения метода уравнений для количественного определения компонентов без предварительного разделения.

Валидация

Валидацию разработанной методики УФ-СФ определения проводили в соответствии с требованиями по следующим параметрам: специфичность, линейность, правильность и прецизионность [97].

Установлено, что значения относительного стандартного отклонения (RSD) не превышают 5%, что соответствует установленным критериям приемлемости и характеризует методику как прецизионную. Низкие значения доверительных интервалов подтверждают высокую воспроизводимость полученных результатов. Полученные метрологические характеристики свидетельствуют о надёжности и практической пригодности разработанной УФ-СФ методики для количественного определения ГК и НМС в КЛП.

Линейность и диапазон применения. Зависимость оптической плотности от

концентрации для НМС и ГК в диапазоне 5–25 мкг/мл при аналитических длинах волн 305 и 250 нм описывалась линейными уравнениями регрессии с коэффициентом детерминации не ниже 0,999. Уравнения имели вид: НМС (305 нм): $A = 0,0500C + 0,0010$ ($r^2 = 0,9997$); НМС (250 нм): $A = 0,0040C + 0,0008$ ($r^2 = 0,9994$); ГК (305 нм): $A = 0,0020C + 0,0007$ ($r^2 = 0,9993$); ГК (250 нм): $A = 0,0240C + 0,0009$ ($r^2 = 0,9995$)

Правильность. Метод стандартных добавок (80, 100 и 120%, $n = 6$) показал: НМС: $98,8 \pm 1,3\%$; ГК: $99,1 \pm 1,2\%$

Прецизионность. НМС: $RSD = 1,18\%$; ГК: $RSD = 1,26\%$. Межсерийная воспроизводимость: НМС: $1,67\%$, ГК: $1,74\%$

Специфичность. Вспомогательные вещества не оказывают значимого влияния на поглощение в диапазоне 250–305 нм; спектральное перекрытие отсутствует, что свидетельствует о селективности методики и отсутствии межкомпонентного взаимодействия.

Пределы обнаружения и количественного определения

Пределы обнаружения (LoD) и количественного определения (LoQ), рассчитанные по критериям $3,3\sigma/S$ и $10\sigma/S$, составили: LoD (НМС) = 0,52 мкг/мл; LoQ (НМС) = 1,58 мкг/мл;

LoD (ГК) = 2,20 мкг/мл; LoQ (ГК) = 6,67 мкг/мл. Значения LoQ ниже нижней границы рабочего диапазона, что подтверждает достаточную чувствительность методики.

Таблица 12. Результаты валидации методики

Параметр валидации	НМС	ГК	Метод оценки
Линейный диапазон (мкг/мл)	5–25	5–25	5 уровней, МНК
r^2	0,9997	0,9995	Линейная регрессия
Правильность, %	$98,8 \pm 1,3$	$99,1 \pm 1,2$	Метод стандартных добавок
RSD (повторяемость), %	1,18	1,26	$n=6$
RSD (межсерийная), %	1,67	1,74	3 серии

Параметр валидации	НМС	ГК	Метод оценки
%			
LoD (мкг/мл)	0,52	2,20	3,3σ/S
LoQ (мкг/мл)	1,58	6,67	10σ/S
Специфичность	Отсутствие спектрального перекрывания	Отсутствие спектрального перекрывания	Оценка селективности при аналитических длинах волн

Разработанная УФ-спектрофотометрическая методика количественного определения НМС и ГК валидирована по показателям специфичности, линейности, правильности, прецизионности и чувствительности в соответствии с установленными требованиями.

Установлена линейная зависимость оптической плотности от концентрации в диапазоне 5–25 мкг/мл ($r^2 \geq 0,999$), что подтверждает корректность применения метода в выбранном интервале. Показатели правильности (98,8–99,1%) и прецизионности ($RSD \leq 1,26\%$; межсерийная $\leq 1,74\%$) соответствуют критериям приемлемости и свидетельствуют о высокой точности и воспроизводимости результатов.

Перекрывание спектров не выявлено, влияние вспомогательных веществ на аналитический сигнал отсутствует, что подтверждает селективность методики при выбранных аналитических длинах волн. Рассчитанные пределы обнаружения и количественного определения обеспечивают достаточную чувствительность метода и позволяют надежно определять компоненты в пределах рабочего диапазона.

Совокупность полученных валидационных характеристик свидетельствует о надежности, воспроизводимости и практической применимости разработанной методики для количественного анализа НМС и ГК в составе КЛП.

По разработанной методике определяли количественное содержание НМС и ГК в лабораторных образцах таблеток КЛП с последующей статистической обработкой полученных результатов.

Таблица 13. Результаты количественного определения НМС и ГК в лабораторных образцах

НМС	Среднее значение
-----	------------------

№ Измерений	Серия №1	Серия №2	Серия №3	
1	49,02	49,41	49,18	
2	49,88	49,96	49,73	
3	49,27	49,15	49,09	
4	50,02	49,78	49,96	
5	49,36	49,52	49,31	
Параметры				
$\bar{X}$, мг	49,51	49,56	49,45	49,51
SD (НМС)	0,64	0,62	0,65	0,64
RSD (НМС), %	1,29	1,25	1,31	1,28
К. Стьюдента	4,303	4,303	4,303	4,303
ΔX мг	0,62	0,60	0,63	0,62
Δ %	1,25	1,21	1,27	1,24
Найдено, %	99,2 %			
ГК				
1	49,08	49,32	49,15	
2	49,92	50,01	49,76	
3	49,27	49,18	49,12	
4	50,05	49,86	50,02	
5	49,36	49,51	49,42	
Параметры				
$\bar{X}$, мг	49,54	49,58	49,49	49,54
SD (ГК)	0,65	0,61	0,66	0,64
RSD (ГК), %	1,31	1,23	1,33	1,29
К. Стьюдента	4,303	4,303	4,303	4,303
ΔX мг	0,63	0,59	0,64	0,62
Δ %	1,27	1,19	1,29	1,25
Найдено, %	98,9%			

Полученные результаты свидетельствуют о высокой точности и воспроизводимости разработанной УФ-спектрофотометрической методики. Относительная ошибка определения не превышает 1,29 %, что подтверждает корректность выбора аналитических условий и пригодность метода для количественного анализа НМС и ГК в лабораторных образцах таблеток.

3.3 Разработка спецификации качества и стандартизация комбинированного лекарственного препарата

Спецификации качества КЛП разработаны в соответствии с требованиями ГФ РК к лекарственной форме в виде таблеток, приказа МЗ РК от 16 февраля 2021 года № ҚР ДСМ-20: «Об утверждении правил разработки производителем лекарственных средств и согласования государственной экспертной организацией нормативного документа по качеству лекарственных средств при экспертизе лекарственных средств». В соответствии с Приложением 6 данного приказа для таблеток (таблетки на орального применения) включены следующие показатели:

1. Описание
2. Идентификация
3. Родственные примеси
4. Средняя масса и отклонение от массы
5. Однородность дозированных едениц
6. Распадаемость
7. Растворение
8. Истираемость
9. Количественное определение
10. Упаковка
11. Маркировка
12. Хранение

Описание

Таблетки без оболочки однородные, круглые белого цвета, без запаха.

Идентификация

1. Химические методы анализа.

Идентификация осуществлялась с применением качественных химических реакций, включая

- реакцию пенообразования (на сапонины);
- цветную реакцию с ванилином;
- реакцию щелочного гидролиза с последующим диазотированием и азосочетанием (для нимесулида).

Подробное описание методик представлено в разделе 3.1.1 «Методика идентификации активных веществ с помощью химических реакций».

2. Метод тонкослойной хроматографии.

Идентификация действующих веществ проводилась методом тонкослойной хроматографии. Условия проведения анализа и полученные результаты приведены в разделе 3.1.2 «Методика идентификации активных веществ и их родственных примесей методом тонкослойной хроматографии».

Родственные примеси

Определение родственных примесей проводилось методом тонкослойной хроматографии. Подробные условия проведения анализа и полученные результаты представлены в разделе 3.1.2 «Методика определения родственных примесей методом тонкослойной хроматографии».

Средняя масса и отклонение от массы

Для определения средней массы таблеток проводили индивидуальное взвешивание 20 единиц в каждой серии. Средняя масса таблеток составила около 290 мг. Отклонения массы отдельных единиц находились в пределах $\pm 4,9$ %, что соответствует требованиям фармакопеи (± 5 % для таблеток массой более 250 мг). Значения относительного стандартного отклонения не превышают 2,2 %, что свидетельствует о приемлемой однородности массы таблеток, данные представлены в таблице 14.

Таблица 14. Статистическая обработка результатов.

Показатели	ЛО-1	ЛО-2	ЛО-3
Средняя масса, мг	291,1	289,8	290,3
SD, мг	6,21	5,87	4,96
RSD, %	2,13	2,03	1,71
Минимальная масса, мг	276,8	278,9	282,4
Максимальная масса, мг	304,2	301,5	297,6
Отклонение от средней мин, %	-4,91	-3,76	-2,72
Отклонение от средней макс, %	+4,50	+4,04	+2,52
Отклонение от номинала мин, %	-4,91	-3,76	-2,72
Отклонение от номинала макс, %	+4,50	+4,04	+2,52
Соответствие норме ($\pm 5\%$)	Соответствует	Соответствует	Соответствует

Однородность дозированных единиц

В каждой из 10 единиц лекарственной формы определяют количественное

содержание действующего вещества. Затем рассчитывают допустимое значение по формуле:

$$AV = |M - \bar{X}| + k s$$

Допустимое значение AV для НМС не превышает максимально допустимое значение ($L < 15$).

$$AV_1 = |50 - 49,51| + 2,4 \times 0,64$$

$$AV_1 = 0,49 + 1,536 = 2,026$$

Допустимое значение AV для ГК не превышает максимально допустимое значение ($L < 15$).

$$AV_2 = |50 - 49,54| + 2,4 \times 0,64$$

$$AV_2 = 0,46 + 1,536 = 1,996$$

Полученные значения показателя однородности дозирования для НМС и ГК не превышают максимально допустимого значения ($L < 15$), что свидетельствует о соответствии качества таблеток требованиям фармакопеи и равномерном распределении действующих веществ в дозированных единицах.

Распадаемость:

Испытание на *распадаемость* проводили в соответствии с требованиями фармакопейной статьи с ФЕАЭС I том, 2 часть (2.1.9.1)

Таблетки помещали в корзину аппарата и выдерживали в водной среде при температуре $(37 \pm 2) ^\circ\text{C}$. Время распада составило в среднем 5 минут, что значительно ниже предельного значения (≤ 15 минут) и соответствует фармакопейным требованиям. Ниже в таблице 15.

Таблица 15. Статистическая обработка результатов определения времени распадаемости таблеток.

Серия	НМС, % ($M \pm SD$)	ГК, % ($M \pm SD$)
1	$98,12 \pm 0,38$	$97,85 \pm 0,35$
2	$98,45 \pm 0,41$	$98,10 \pm 0,39$
3	$98,30 \pm 0,36$	$97,95 \pm 0,33$
Показатели		

Среднее значение (Мобщ)	98,29	97,97
Стандартное отклонение (SDмежсер.)	0,17	0,13
Коэффициент вариации (RSDмежсер.), %	0,17	0,13

Растворение

Исследование высвобождения проводили с использованием аппарата с лопастной мешалкой (тип II) в условиях, соответствующих требованиям ГФ РК.

В качестве среды растворения использовали 0,1 М раствор хлористоводородной кислоты объёмом 900 мл. Температуру среды поддерживали на уровне $(37 \pm 0,5)$ °С, скорость вращения мешалки составляла 50 об/мин. Отбор проб осуществляли через 5, 10, 15, 30, 45 и 60 минут. Данные представлены в таблице 16.

Таблица 16. Профиль высвобождения нимесулида и глицирризиновой кислоты из КЛП.

Вещество	Время, мин	ЛО-1, %	ЛО-2, %	ЛО-3, %
НМС	5	18	17	19
	10	32	31	33
	15	46	45	47
	30	70	69	71
	45	85	84	86
	60	95	94	96
ГК	5	25	24	26
	10	44	43	45
	15	60	59	61
	30	80	79	81
	45	90	89	91
	60	97	96	98

По результатам исследования профиля высвобождения установлено, что процесс высвобождения действующих веществ из трёх лабораторных образцов комбинированного лекарственного препарата характеризуется воспроизводимостью и согласованной кинетикой.

Во всех образцах наблюдается постепенное высвобождение НМС и ГК с сохранением одинаковой динамики изменения концентрации во времени. НМС

демонстрирует более медленное высвобождение на начальных этапах по сравнению с ГК, что связано с различиями в их физико-химических свойствах.

ГК характеризуется более быстрым высвобождением в начальные временные интервалы. К 45–60 минутам достигается практически полное высвобождение обоих компонентов, что свидетельствует о стабильной и воспроизводимой кинетике высвобождения во всех лабораторных образцах.

Истираемость

Испытание на истираемость проводили в соответствии с требованиями ГФ РК (статья 2.9.8) с использованием прибора для определения истираемости (таб. 17).

Таблица 17. Результаты испытания таблеток на истираемость

Показатели	Значение
Масса до испытания, мг	2950
Масса после испытания, мг	2942
Потеря массы (Δm), мг	8
Истираемость, %	0,27
Нормативное значение	$\leq 1,0 \%$

Полученные данные свидетельствуют о незначительной потере массы в процессе испытания, что подтверждает высокую механическую прочность таблеток и их устойчивость к истиранию при моделируемых механических нагрузках.

Количественное определение

Количественное определение содержания активных веществ проводили в соответствии с требованиями ФЕАЭС (статья 2.1.5.1).

Содержание НМС и ГК в таблетках должно находиться в пределах 0,0490–0,0510 г, рассчитанных на среднюю массу одной таблетки.

Расчёты количественного содержания активных веществ выполнены в соответствии с методикой, приведённой в разделе 3.2 «Методика количественного анализа активных веществ методом УФ-спектрофотометрии».

Таблица 18. Спецификация качества КЛП

Показатели	Критерии приемлемости	Методы
------------	-----------------------	--------

качества		
Описание	Таблетки однородные, поверхность гладкая, белого цвета.	ФЕАЭС 1 том, 2.5.1.34. «Таблетки»
Идентификация	ГК На основе химических реакций: - Реакция пенообразования на сапонины (должна образоваться обильная и стойкая пена) - Цветная реакция с ванилином (должно произойти изменение цвета окраски раствора от желтой до красной) НМС На основе химических реакций: - Реакция щелочного гидролиза с последующим диазотированием и азосочетанием ТСХ для ГК и НМС: ПФ: Хлороформ: метанол: уксусная кислота (8:2:0,2), детектирование при 254 нм	ГФ РФ XIII изд. ГФ РФ XIV издание
Родственные примеси	На хроматограмме испытуемого раствора пятно, соответствующее примеси А, должно быть не интенсивнее пятна на хроматограмме раствора сравнения СОВС примеси А.	ФЕАЭС I том, 2.1.2.26. Тонкослойная хроматография
Средняя масса и отклонение от	± 5 % для таблеток массой более 250 мг	ФЕАЭС I том, 2.1.9.5

массы		Однородность дозирования
Однородность единиц дозирования	Допустимое значение AV для активных ингредиентов не превышает максимально допустимое значение ($L < 15$)	ФЕАЭС I том, 2.1.9.5 Однородность дозирования
Распадаемость	Не менее 16 из 18 образцов должны распасться	В соответствии с ФЕАЭС I том, 2 часть (2.1.9.1)
Растворение	В течение 45 минут должно высвобождаться не менее 75 % действующего вещества из таблетки.	В соответствии с ГФ РК I том, (2.2.9.3)
Истираемость	Потеря массы при истирании не должна превышать 1,0 % от первоначальной массы образца	В соответствии с ГФ РК том 1 (2.9.8)
Количественное определение	Метод УФ-спектрофотометрии.	В соответствии с ФЕАЭС (статья 2.1.5.1)
Упаковка	10 таблеток в блистере, заклеенном алюминиевой фольгой, в картонной упаковке	В соответствии с требованиями НД
Маркировка	В соответствии с требованиями ГОСТ 17768-90 Е	В соответствии с требованиями НД
Хранение	Хранить в сухом, защищённом от света месте при температуре не выше 25°C, в недоступном для детей месте	В соответствии с требованиями НД
Срок хранения	2 года	В соответствии с требованиями НД
Транспортировка	Транспортировка в соответствии с приказом РК ДСМ-19	В соответствии с требованиями НД
Основной фармакологический эффект	Противовоспалительный и анальгезирующий	В соответствии с требованиями НД

Выводы

1. Впервые определены основные показатели качества КЛП. Проведены испытания на среднюю массу и отклонение от массы, однородность дозированных единиц, распадаемость, растворение, истираемость.
2. Впервые валидированы методики качественного и количественного анализа действующих веществ при совместном присутствии.
3. С использованием ТСХ и спектрофотометрического анализа установлены особенности поведения нимесулида и глицирризиновой кислоты в составе твёрдой лекарственной формы, что свидетельствует об отсутствии выраженных аналитических взаимодействий в условиях исследования.

Разработанная спецификация соответствует действующим нормативным требованиям и обеспечивает комплексный контроль качества, безопасности и терапевтической эффективности комбинированного лекарственного препарата.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ научных публикаций отечественного и зарубежного происхождения, а также действующей нормативной документации подтвердил обоснованность выбранного направления исследований в области создания комбинированных лекарственных препаратов, содержащих НМС и ГК. Установлено отсутствие зарегистрированных лекарственных форм указанной комбинации в Республике Казахстан и странах ЕАЭС, а также отсутствие профильной фармакопейной монографии, что подчеркивает необходимость разработки валидированных аналитических подходов и нормативных основ для последующей стандартизации.

Сопоставительный анализ физико-химических характеристик исследуемых веществ показал их принципиальную структурно-функциональную неоднородность: НМС относится к слабокислым липофильным соединениям с ограниченной водной растворимостью, тогда как ГК представляет собой высокополярный тритерпеновый сапонин с выраженной поверхностной активностью. Данные различия обусловили необходимость оптимизации условий экстракции и аналитического определения с учетом совместного присутствия компонентов в одной лекарственной форме.

Разработанный комплекс идентификационных методик продемонстрировал возможность подтверждения подлинности НМС и ГК при их одновременном присутствии в составе препарата. Установлено, что химические реакции, применяемые для ГК, обладают высокой информативностью, в то время как для НМС их селективность ограничена, что определило приоритет хроматографического подхода. Оптимизированные условия ТСХ обеспечили стабильное разделение компонентов с воспроизводимыми значениями R_f и достаточной разрешающей способностью системы.

Обоснование спектрофотометрического подхода позволило разработать метод количественного определения НМС и ГК в смешанных системах. Использование метанольно-щелочной среды обеспечило полное растворение компонентов и формирование четко разделенных максимумов поглощения при 305 нм и 250 нм.

Валидационная оценка предложенной УФ-методики подтвердила ее соответствие установленным аналитическим требованиям по основным параметрам качества. Линейность, правильность и прецизионность находились в пределах допустимых критериев, при этом коэффициенты корреляции превышали 0,999, а относительная ошибка не выходила за пределы 1,29%, что свидетельствует о высокой надежности метода.

Экспериментальная апробация комбинированного препарата показала стабильность количественного содержания действующих веществ на уровне 98,9–99,2%. Полученные данные подтверждают воспроизводимость технологического процесса и корректность выбранных аналитических условий, обеспечивающих точность определения без предварительного разделения компонентов.

Разработана спецификация качества комбинированного лекарственного препарата, включающая показатели подлинности, однородности массы, распадаемости, истираемости, количественного содержания, примесей и стабильности. Все показатели лабораторных серий соответствуют установленным нормам, что подтверждает пригодность предложенной системы контроля качества.

Следовательно, выполненное исследование позволило разработать и научно обосновать комплекс аналитических методик (ТСХ и УФ-спектрофотометрия) для идентификации и количественного определения НМС и ГК при их совместном присутствии, а также сформировать спецификацию качества КЛП. Полученные результаты подтверждают возможность создания стабильной, воспроизводимой и контролируемой лекарственной формы, а также демонстрируют, что комбинирование НПВС и ГК является перспективным направлением разработки новых лекарственных препаратов с улучшенным балансом эффективности и безопасности.

Список литературы

1. Bindu S., Mazumder S., Bandyopadhyay U. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage: A current perspective. *Biochem. Pharmacol.* 2020;180.
2. Каратеев А. Е., Насонов Е. Л., Яхно Н. Н. Клинические рекомендации «Рациональное применение нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП) в клинической практике». Современная ревматология. 2015;1:4–24.
3. Насонов Е. Л. и др. Применение нестероидных противовоспалительных препаратов. Клинические рекомендации. Москва: Алмаз; 2006. 88 с.
4. Li J. Y., Cao H. Y., Liu P., et al. Glycyrrhizic acid in liver diseases. *Biomed. Res. Int.* 2014;2014:872139.
5. Abo El-Magd N. F., El-Mesery M., El-Karef A., et al. Glycyrrhizin ameliorates obesity via Nrf2. *Life Sci.* 2018;193:159–170.
6. Graebin CS. The Pharmacological Activities of Glycyrrhizinic Acid (“Glycyrrhizin”) and Glycyrrhetic Acid. *Sweeteners.* 2017 Jul 31:245–61. doi: 10.1007/978-3-319-27027-2_15. PMCID: PMC7123798.
7. Laine L., White W.B., Rostom A., Hochberg M. COX-2 selective inhibitors in the treatment of osteoarthritis. *Semin Arthritis Rheum* 2008;38(3):165–87.
8. Yang M., Wang H.T., Zhao M. et al. Network meta-analysis comparing relatively selective cox-2 inhibitors versus coxibs for the prevention of NSAID induced gastrointestinal injury. *Medicine(Baltimore)* 2015;94(40):1592.
9. Lingappan K. NF-κB in oxidative stress. *Curr. Opin. Toxicol.* 2018;7:81–86.
10. Boelsterli UA. Mechanisms of NSAID-induced hepatotoxicity: focus on nimesulide. *Drug Saf.* 2002;25(9):633-48. doi: 10.2165/00002018-200225090-00003. PMID: 12137558
11. Guo XL, Liang B, Wang XW, Fan FG, Jin J, Lan R, Yang JH, Wang XC, Jin L, Cao Q. Glycyrrhizic acid attenuates CCl₄-induced hepatocyte apoptosis in rats via a p53-mediated pathway. *World J Gastroenterol.* 2013 Jun 28;19(24):3781-91. doi: 10.3748/wjg.v19.i24.3781. PMID: 23840116; PMCID: PMC3699029.
12. Selyutina O. Y., Polyakov N. E. *Glycyrrhizic acid as a multifunctional drug carrier — From physicochemical properties to biomedical applications: A modern insight on the ancient drug. International Journal of Pharmaceutics.* 2019;559:271–279. doi:10.1016/j.ijpharm.2019.01.047.
13. Lin J. C. Mechanism of action of glycyrrhizic acid on EBV. *Antiviral Res.* 2003;59(1):41–47.
14. Петрова Е. С., Жукова Н. А., Евсеенко В. И., и др. Уменьшение гепатотоксичности нимесулида в составе композиции с глицирризинатом натрия. *Сибирский научный мед. журнал.* 2023;43(1):71–78.

- 15.Liu W, Huang S, Li Y, Zheng X, Zhang K. Synergistic effect of tolafenamic acid and glycyrrhizic acid on TPA-induced skin inflammation in mice. *Medchemcomm*. 2019 Jul 26;10(10):1819-1827. doi: 10.1039/c9md00345b. PMID: 31814955; PMCID: PMC6839815.
- 16.Cho HJ, Yoon IS. Pharmacokinetic interactions of herbs with cytochrome p450 and p-glycoprotein. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2015;2015:736431. doi: 10.1155/2015/736431. Epub 2015 Jan 6. PMID: 25632290; PMCID: PMC4302358.
- 17.Guangjiao You, Tao Feng, Guoqin Zhang, Meiling Chen, Fan Liu, Lili Sun, Meng Wang, Xiaoliang Ren, Preparation, optimization, characterization and in vitro release of baicalein-solubilizing glycyrrhizic acid nano-micelles, *International Journal of Pharmaceutics*, Volume 601, 2021, 120546, ISSN 0378-5173, <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120546>
- 18.Becker JC, Domschke W, Pohle T. Current approaches to prevent NSAID-induced gastropathy--COX selectivity and beyond. *Br J Clin Pharmacol*. 2004 Dec;58(6):587-600. doi: 10.1111/j.1365-2125.2004.02198.x. PMID: 15563357; PMCID: PMC1884640.
- 19.Semwal DK, Kumar A, Semwal RB, Dadhich NK, Chauhan A, Kumar V. Glycyrrhizin (Glycyrrhizic Acid)—Pharmacological Applications and Associated Molecular Mechanisms. *Drugs and Drug Candidates*. 2025; 4(4):44. <https://doi.org/10.3390/ddc4040044>
- 20.Gunaydin C, Bilge SS. Effects of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs at the Molecular Level. *Eurasian J Med*. 2018 Jun;50(2):116-121. doi: 10.5152/eurasianjmed.2018.0010. Epub 2018 Jun 1. PMID: 30002579; PMCID: PMC6039135.
- 21.Шавловская О. А. Преимущества селективных ингибиторов ЦОГ-2. *Справочник поликлинического врача*. 2014;3:46–49
- 22.Ghlichloo I., Gerriets V. Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs) // *StatPearls [Internet]*. — Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023.
- 23.Van Hecken A, Schwartz JI, Depré M, De Lepeleire I, Dallob A, Tanaka W, Wynants K, Buntinx A, Arnout J, Wong PH, Ebel DL, Gertz BJ, De Schepper PJ. Comparative inhibitory activity of rofecoxib, meloxicam, diclofenac, ibuprofen, and naproxen on COX-2 versus COX-1 in healthy volunteers. *J Clin Pharmacol*. 2000 Oct;40(10):1109-20. PMID: 11028250.
- 24.Bianchi M, Brogгинi M. A randomised, double-blind, clinical trial comparing the efficacy of nimesulide, celecoxib and rofecoxib in osteoarthritis of the knee. *Drugs*. 2003;63 Suppl 1:37-46. doi: 10.2165/00003495-200363001-00006. PMID: 14506910. Немного изменила слова
- 25.da Costa BR, Pereira TV, Saadat P, Rudnicki M, Iskander SM, Bodmer NS,

- Bobos P, Gao L, Kiyomoto HD, Montezuma T, Almeida MO, Cheng PS, Hincapié CA, Hari R, Sutton AJ, Tugwell P, Hawker GA, Jüni P. Effectiveness and safety of non-steroidal anti-inflammatory drugs and opioid treatment for knee and hip osteoarthritis: network meta-analysis. *BMJ*. 2021 Oct 12;375:n2321. doi: 10.1136/bmj.n2321. PMID: 34642179; PMCID: PMC8506236.
26. Bianchi M., Broggini M. Anti-hyperalgesic effects of nimesulide. *Int. J. Clin. Pract. Suppl.* 2002;128:11–19.
 27. Cicala C, Ialenti A, Caiazzo E. The relatively selective cyclooxygenase-2 inhibitor nimesulide: What's going on? *European Journal of Pharmacology*. 2019;848:105-111. doi:10.1016/j.ejphar.2019.01.044
 28. Da Costa Araújo F. A., de Santana Santos T., de Moraes H. H., et al. Comparative analysis of preemptive analgesic effect of tramadol and nimesulide. *J. Craniomaxillofac. Surg.* 2012;40(8):e346–349.
 29. Pouchain E. C., Costa F. W., Bezerra T. P., et al. Comparative efficacy of nimesulide and ketoprofen in third molar surgery. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 2015;44(7):876–884.
 30. De Menezes S. A., Cury P. R. Efficacy of nimesulide versus meloxicam in dental pain. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 2010;39(6):580–584.
 31. Kress H. G., Baltov A., Basiński A., et al. Acute pain: role of nimesulide. *Curr. Med. Res. Opin.* 2016;32(1):23–36.
 32. Bianchi M, Broggini M, Balzarini P, Franchi S, Sacerdote P. Effects of nimesulide on pain and on synovial fluid concentrations of substance P, interleukin-6 and interleukin-8 in patients with knee osteoarthritis: comparison with celecoxib. *Int J Clin Pract.* 2007 Aug;61(8):1270-7. doi: 10.1111/j.1742-1241.2007.01453.x. Epub 2007 Jun 22. PMID: 17590218.
 33. LaForge J. M., Urso K., Day J. M., et al. NSAIDs: Clinical implications, renal impairment risks, and AKI. *Adv. Ther.* 2023;40:2082–2096.
 34. Sriuttha P, Sirichanchuen B, Permsuwan U. Hepatotoxicity of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs: A Systematic Review of Randomized Controlled Trials. *Int J Hepatol.* 2018 Jan 15;2018:5253623. doi: 10.1155/2018/5253623. PMID: 29568654; PMCID: PMC5820561.
 35. Ивашкин В. Т. и др. Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению эрозивно-язвенных поражений желудка и двенадцатиперстной кишки, вызванных НПВП. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.* 2014;5:89–94.
 36. Aithal G. P., Day C. P. Nonsteroidal anti-inflammatory drug induced hepatotoxicity. *Clin. Liver Dis.* 2007;11:563–575.

37. А. П. Переверзев, О. Д. Остроумова, О. В. Головина, А. В. Филиппова, Е. Е. Павлеева Лекарственно-индуцированное поражение печени с холестазом на фоне приема нестероидных противовоспалительных средств. <https://medi.ru/info/27406/> 2022.
38. Bernardes, S. S., Souza-Nogueira, A., Moreira, E. G., Kishima, M. O., Guembarovski, A. F. M. L., Turini, T. L., & Turini, C. A.. (2015). Nimesulide-induced fatal acute liver failure in an elderly woman with metastatic biliary adenocarcinoma. A case report. Sao Paulo Medical Journal, 133(4), 371–376. <https://doi.org/10.1590/1516-3180.2013.7550003>.
39. Лукьянчук Е. Нимесулид: механизм действия и профиль безопасности // Ревматологический журнал. 2013; №54(4).
40. Журавлева М. В., Черных Т. М. Опыт применения нимесулида при остеоартрозе. Consilium Medicum. 2013;15(8):68–74.
41. Котова О. В., Акарачкова Е. С. Нимесулид: эффективность и безопасность. Consilium Medicum. 2016;18(2):100–103.
42. Li F., Liu B., Li T., et al. Review of constituents and biological activities of triterpene saponins from Glycyrrhizae Radix et Rhizoma and its solubilization characteristics. Molecules. 2020;25(17):3904.
43. Asl MN, Hosseinzadeh H. Review of pharmacological effects of Glycyrrhiza sp. and its bioactive compounds. Phytother Res. 2008 Jun;22(6):709-24. doi: 10.1002/ptr.2362. PMID: 18446848; PMCID: PMC7167813.
44. Fiore C, Eisenhut M, Krausse R, Ragazzi E, Pellati D, Armanini D, Bielenberg J. Antiviral effects of Glycyrrhiza species. Phytother Res. 2008 Feb;22(2):141-8. doi: 10.1002/ptr.2295. PMID: 17886224; PMCID: PMC7167979.
45. Rashedinia M., Saberzadeh J., Bakhtiari T. K., et al. Glycyrrhizic acid protects mitochondria. Neurotox. Res. 2019;35(3):584–593.
46. Moro T., Shimoyama Y., Kushida M., et al. Glycyrrhizin suppresses liver fibrosis. Life Sci. 2008;83(15–16):531–539.
47. Tang C, Ding H, Sun Y, Han Z, Kong L. A narrative review of COVID-19: magnesium isoglycyrrhizinate as a potential adjuvant treatment. Ann Palliat Med. 2021 Apr;10(4):4777-4798. doi: 10.21037/apm-20-1971. Epub 2021 Apr 9. PMID: 33894736.
48. Wu F, Xue H, Li X, Diao W, Jiang B, Wang W, Yu W, Bai J, Wang Y, Lian B, Feng W, Sun T, Qu M, Zhao C, Wang Y, Wu J, Gao Z. Enhanced targeted delivery of adenine to hepatocellular carcinoma using glycyrrhetic acid-functionalized nanoparticles in vivo and in vitro. Biomed Pharmacother. 2020 Nov;131:110682. doi: 10.1016/j.biopha.2020.110682. Epub 2020 Sep 15. PMID: 32947204.
49. Душкин А. В., Метелева Е. С., Толстикова Т. Г., и др. Супрамолекулярные

- системы доставки лекарств. Химия в интересах устойчивого развития. 2019.
50. Wei W., Evseenko V. I., Khvostov M. V., et al. Nimesulide dispersions: pharmacokinetics and anti-inflammatory properties. *Molecules*. 2021;26(6):1531.
51. Фосфоглив, капсулы, Р N002528/01, Государственный реестр лекарственных средств России
52. Zha J., Badri P.S., Ding B., Uchiyama N., Alves K., Rodrigues L. Jr, Redman R., Dutta S., Menon R.M. Drug Interactions Between Hepatoprotective Agents Ursodeoxycholic Acid or Glycyrrhizin and Ombitasvir/Paritaprevir/Ritonavir in Healthy Japanese Subjects // *Clinical Therapeutics*. — 2015. — Vol. 37, No. 11. — P. 2560–2571.
53. Ishida T., Jobu K., Kawada K., Morisawa S., Kawazoe T., Shiraishi H., Fujita H., Nishimura S., Kanno H., Nishiyama M., Ogawa K., Morita Y., Hanazaki K., Miyamura M. Impact of Gut Microbiota on the Pharmacokinetics of Glycyrrhizic Acid in Yokukansan, a Kampo Medicine // *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. — 2022. — Vol. 45, No. 1. — P. 1–8.
54. Hu H., Lei Y., Zhang W., Xiong P., Song L., Luo X., Jia B., Zhang F. Anti-inflammatory activity and safety of compound glycyrrhizin in ulcerative colitis: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials // *Journal of Functional Foods*. — 2022. — Vol. 9. — Article ID 105004. — DOI: 10.1016/j.jff.2022.105004
55. Yang J., Wang X., Li Y., Fu D., Gong Y., Shi H. Efficacy and safety of compound glycyrrhizin in combination with conventional therapy in treatment of vitiligo: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials // *Medicine (Baltimore)*. — 2023. — Vol. 102, No. 43. — e35533. — DOI: 10.1097/MD.00000000000035533
56. Комплекс глицирризиновой кислоты с ремантадином, обладающий противовирусной активностью в отношении вирусов гриппа типа А и В и низкой токсичностью. Предварительный патент РК № 19670, опубликовано 15.07.2008 / Авторы: Джиембаев Б. Ж., Арыстанова Т. А., Ирисметов М. П., Шукирбекова А. Б.
57. Фармацевтическая композиция в виде мази под условным названием «Лакримант», обладающая противовирусной активностью. Предварительный патент РК № 21614, опубликовано 15.09.2009 / Авторы: Арыстанова Т. А., Шукирбекова А. Б.
58. Фармацевтические композиции в виде сиропа «Вирустат» и капсул «Вирустат Е», обладающие гепатопротекторной и иммуномодулирующей активностью : предварительный патент РК № 21617, опубликовано

- 15.09.2009 / Арыстанова Т. А., Айнабаева Ш. К., Филипович Г. С., Рыжиков А. А., Шукирбекова А. Б.
59. Лечебное противовоспалительное средство “Глиаспин” в форме капсул. Предварительный патент РК № 19033, опубликовано 15.01.2008 / Авторы: Арыстанова Т. А., Ирисметов М. П., Ордабаева С. К., Джиембаев Б. Ж., Асильбаева Д. А.
60. Композиция в виде капсул “Биаскин”, обладающая антиоксидантной и гепатопротекторной активностью. Предварительный патент РК № 19034, опубликовано 15.01.2008 / Авторы: Ирисметов М. П., Арыстанова Т. А., Шукирбекова А. Б., Джиембаев Б. Ж., Айнабаева Ш. К.
61. Противотуберкулёзное лекарственное средство в виде сиропа “Глицирразид РР”. Предварительный патент РК № 15674, опубликовано 16.05.2005 / Авторы: Арыстанова Т. А., Жумалина К. Ж., Рахимов К. Д., Ордабаева С. К.
62. Противотуберкулёзное средство “Глицирразид В6” в виде таблеток. Предварительный патент РК № 14409, опубликовано 15.06.2004 / Авторы: Ордабаева С. К., Арыстанова Т. А., Абдиева А. К.
63. Арыстанова Т. А., Желубаева К. Т. Технология и анализ комбинированного противовирусного препарата на основе природного адаптогена // Сандеровские чтения: сб. материалов науч.-метод. конф. с междунар. участием, посвящённой памяти выдающегося отечественного учёного в области технологии лекарств Ю. К. Сандера. — Санкт-Петербург, 2025. — С. 296–300.
64. Isbrucker R. A., Burdock G. A. Risk and safety assessment on the consumption of licorice root (*Glycyrrhiza* sp.), its extract and powder as a food ingredient, with emphasis on the pharmacology and toxicology of glycyrrhizin. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2006;46(3):167–192.
65. Wu T, Yang J, Xia J, Sun G. Effects of Licorice Functional Components Intakes on Blood Pressure: A Systematic Review with Meta-Analysis and NETWORK Toxicology. *Nutrients.* 2024 Nov 2;16(21):3768. doi: 10.3390/nu16213768. PMID: 39519602; PMCID: PMC11547873.
66. Rao NV, Shaik MS, Reddy MP, Reddy GP. Protective effect of licorice (*Glycyrrhiza glabra* Linn) on indomethacin-induced gastric ulcer in male albino rats. *Int J Pharm Sci Res.* 2019;10(11):5018–5024
67. Van Gelderen C. E., Bijlsma J. A., van Dokkum W., Savelkoul T. J. Glycyrrhizic acid: The assessment of safety based on a review of the literature. *Food Chem. Toxicol.* 2000;38(2–3):167–182.
68. Shibata S. A drug over the millennia: Pharmacognosy, chemistry, and pharmacology of licorice. *Yakugaku Zasshi.* 2000;120(10):849–862.

- 69.Государственная Фармакопея Республики Казахстан 2009 г., Т. 2
- 70.Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV изд.
- 71.European Pharmacopoeia 9th edition: Liquorice root - *Liquiritiae radix* 01/2010: 0277 (under minor revision)
- 72.Государственная Фармакопея Республики Беларусь 2016 г. Т.2
- 73.The Japanese Pharmacopoeia, 17th edition. Ministry of Health, Labour and Welfare, Tokyo, Japan Part 2, 2002. P.932-933.
- 74.Pharmacopoeia of the people's republic of China. Vol.1, 2005. P.207-2009.
- 75.Techen N. et al. DNA barcoding of medicinal plant material for identification //Current opinion in Biotechnology. – 2014. – Т. 25. – С. 103-110.
- 76.Rauchensteiner, F.; Matsumura, Y.; Yamamoto, Y.; Yamaji, S.; Tani, T. Analysis and comparison of *Radix Glycyrrhizae* (licorice) from Europe and China by capillary-zone electrophoresis (CZE). *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2005, 38, 594–600.
- 77.Kumbhalkar B. et al. Simultaneous identification and estimation of glycyrrhizin, glabridin, and 18 β -glycyrrhetic acid in de-glycyrrhized Ayurvedic lipid-based formulation of *Glycyrrhiza glabra* using dual wavelength reverse phase-high-performance liquid chromatography //Separation Science Plus. – 2020. – Т. 3. – №.
- 78.Егоров М.В. Стандартизация сырья и препаратов солодки: дис.... канд. фарм. наук:15.00.02 / Егоров Максим Валерьевич. – Пермь, 2005. – 145 с. 10. – С. 460-471.
- 79.Халед Ш. М. Состав и свойства биологически активных веществ шрота *Glycyrrhizae radices* : дис. – Халед Шади Мунир.–Казань, 2017.–150 с.: ил, 2017.
- 80.Yarnykh T. G., Garkavtseva O. A., Chushenko V. N. Development and standardization of dermalic ointment //Pharmaceutical Chemistry Journal. – 2012. – Т. 45. – №. 12. – С. 750-753.
- 81.Шорманов В.К., Герасимов Д.А., Сипливая Л.Е., Галушкин С.Г., Симонов Р.Ю. Распределение нимесулида в организме теплокровных животных. Фармация: Фармакология – эксперимент и клиника, №1, 2013, с. 39–42.
- 82.Юрченко И. О., Буряк В. П., Коротина О. В. Разработка методик изолирования нимесулида из биологических объектов // Фармацевтический часопис. — 2011. — № 2 (14). — С. 96–99.
- 83.Ёршик О.А., Ёршик В.М., Пивовар М.Л., Моисеев Д.В., Фадеев В.И., Жебентяев А.И. Определение нимесулида и 4-гидроксинимесулида в плазме крови // Вестник фармации, №4 (58), 2012, с. 32–36.
- 84.Ваталёв А.А. Химико-токсикологическое исследование некоторых нестероидных противовоспалительных средств. Автореф. дис. на

- соискание ученой степени кандидата фарм. наук. Санкт-Петербург, 2013.
85. Герасимов, Д. А. Химико-токсикологическое исследование нимесулида и близких по структуре соединений: автореф. дис. ... канд. фарм. наук: 14.04.02 «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» / Д. А. Герасимов. — Курск, 2014. — 23 с.
86. Шорманов В.К. и соавт. (2012). Сохраняемость нимесулида в трупном материале. Курский научно-практический вестник "Человек и его здоровье", № 3, С.102–107.
87. P. A. Nikolaychuk, "UV-Spectrophotometric determination of the active pharmaceutical ingredients Meloxicam and Nimesulide in cleaning validation samples with sodium carbonate," Chemical Analysis Laboratory, Quality Assurance Department, LLC "Velpharm", Kurgan, Russia, 2023.
88. Pino K. F. D., Oliveira L. N., Silva M. J., Caon-Filho O., Dadamos T. R. L. Спектрофотометрическое определение нимесулида, Tribulus terrestris и амоксициллина в щелочной среде в клинических и коммерческих образцах // Журнал прикладной спектроскопии. — 2018. — Т. 85, № 6.
89. Пат. RU 2 537 121 C1. Способ определения N-(4-нитро-2-феноксифенил)-метансульфонамида в биологическом материале/Шорманов В.К., Герасимов Д.А., Сипливая Л.Е. и др.авт.; Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 27.12.2014, Бюл №36.
90. Шорманов В.К., Герасимов Д.А., Галушкин С.Г. Изолирование нимесулида из биологического материала. Научные ведомости. Серия «Медицина. Фармация», №22(141), Выпуск 20/1, 2012, с. 24–29.
91. Ваталёв А. А., Киреева А. В., Анисимова Н. А., Куклин В. Н. Определение некоторых опиоидных и неопиоидных анальгетиков в биологических жидкостях. Выпуск 4 (40), 2011, Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия.
92. Фармакопея Евразийского экономического союза. – М.: Евразийская экономическая комиссия, 2020. – Т. 1.
93. Государственная фармакопея Российской Федерации. – 15-е изд. – М.: Минздрав России, 2017. – Т. 1–4. – URL: Федеральная электронная медицинская библиотека
94. Государственная фармакопея Республики Казахстан. – 1-е изд. – Астана: Жибек жолы, 2014. – Т. 3. – 872 с.
95. Шорманов ВК, Кондаурова ДЮ, Янченко АИ, Герасимов ДА. Определение нимесулида на основе поглощения электромагнитного излучения в среде ДМФА. В: Сборник материалов VI Всероссийской

научно-практической конференции с международным участием
«Биомедицинская инженерия и биотехнология»; 2013; Курск. Курск;
2013. с. 76–79.

96. Способ количественного определения нимесулида. Патент RU2333489C2.

97. Государственная фармакопея Республики Казахстан. – 1-е изд. – Астана:
Жибек жолы, 2008. – Т. 1. – 592 с.

течение 20 минут. После охлаждения при необходимости фильтруют.

Отбирают 5,0 мл полученного раствора, добавляют 2,0 мл раствора хлороводородной кислоты (1 М) и охлаждают. Затем прибавляют 1,0 мл раствора натрия нитрита (0,1 М), выдерживают 2–3 минуты, после чего добавляют 1,0 мл 1% раствора сульфаминовой кислоты. Далее вносят 1,0 мл раствора β -нафтола (0,1%) и при необходимости создают слабощелочную среду добавлением 1–2 мл раствора натрия гидроксида (1 М). Появление интенсивного оранжево-красного окрашивания свидетельствует о наличии НМС.

С. Тонкослойная хроматография.

Испытуемый раствор. К точной навеске порошка растёртых таблеток, эквивалентной 50 мг НМС и 50 мг ГК, добавляют 10 мл метанола и подвергают ультразвуковой обработке в течение 10 минут. Полученный раствор фильтруют. Концентрации в растворе составляют: НМС — 5,0 мг/мл, ГК — 5,0 мг/мл. Количество вещества при нанесении 10 мкл составляет: НМС — 50 мкг/пятно, ГК — 50 мкг/пятно.

Стандартный раствор сравнения (а). 20 мг ГК растворяют в 5 мл метанола, выдерживают на ультразвуковой бане в течение 2 мин, объем доводят метанолом до 10 мл.

Стандартный раствор сравнения (б). 20 мг НМС растворяют в 5 мл метанола, выдерживают на ультразвуковой бане в течение 2 мин, объем доводят метанолом до 10 мл.

Стандартный раствор сравнения (с). 10 мг субстанции НМС растворяют в 10 мл метанола. Затем 1 мл полученного раствора доводят метанолом до 50 мл.

Раствор сравнения (д). Смешивают по 1 мл раствора сравнения (а) и раствора сравнения (б) и добавляют 2 мл метанола.

Методика хроматографирования

На линию старта наносят: 10 мкл испытуемого раствора (а) (50 мкг НМС и 50 мкг ГК), 5 мкл раствора сравнения (а) (10 мкг ГК), 5 мкл раствора сравнения (б) (10 мкг НМС), 5 мкл раствора сравнения (с) (0,1 мкг НМС) и 5 мкл раствора сравнения (д) (5 мкг ГК + 5 мкг НМС).

Пластинку высушивают на воздухе помещают в камеру, предварительно насыщенную парами подвижной фазы, и хроматографируют восходящим способом до прохождения фронта растворителя на расстояние около 8–10 см от линии старта. Детектирование проводят в УФ-свете при 254 нм.

На хроматограмме испытуемого раствора (а) должны обнаруживаться два основных пятна, соответствующие по положению основным пятнам на хроматограммах растворов сравнения (а) и (б), любое дополнительное пятно, кроме основных двух пятен, не должно превышать по интенсивности и размеру пятно раствора сравнения (с) (не более 2%).

Пригодность хроматографической системы. Хроматографическая

система считается пригодной, если на хроматограмме раствора сравнения (d) четко разделены два пятна.

Родственные примеси:

Определение проводят методом тонкослойной в условиях, описанных в разделе «3.1.2 Методика идентификации активных веществ и их родственных примесей методом тонкослойной хроматографии»

Любое дополнительное пятно, кроме основных двух пятен, не должно превышать по интенсивности и размеру пятно раствора сравнения (с) (не более 2%).

Однородность единиц дозирования. В соответствии с ФЕАЭС I том, (2.1.9.5)

Распадаемость. В соответствии с ФЕАЭС I том, 2 часть (2.1.9.1)

Растворение. В соответствии с ГФ РК I том, (2.2.9.3)

Истираемость. В соответствии с ГФ РК I том, (2.9.8)

Количественное определение.

Определение проводили методом УФ-спектрофотометрии в соответствии с ФЕАЭС (статья 2.1.5.1).

К точной навеске порошка растёртых таблеток, эквивалентной 50 мг НМС и 50 мг ГК, прибавляют 70 мл метанола и раствор 0,1 М натрия гидроксида до достижения $pH \approx 9,0$. Смесь обрабатывают на ультразвуковой бане в течение 10 мин (не выше $25\text{ }^{\circ}\text{C}$), фильтруют через мембранный фильтр и доводят объём метанолом до 100,0 мл (раствор А). Из раствора А готовят рабочий раствор: отбирают 3,0 мл раствора А и доводят объём метанолом до 100,0 мл. Концентрации в рабочем растворе составляют: НМС — 15 мкг/мл, ГК — 15 мкг/мл.

Стандартный раствор (a). Точную навеску субстанции НМС (около 50,0 мг) помещают в мерную колбу вместимостью 100,0 мл, растворяют в 50 мл метанола при ультразвуковой обработке (10 мин, $20\text{ }^{\circ}\text{C}$), добавляют 0,1 М раствор натрия гидроксида до $pH \approx 9,0$ и доводят объём метанолом до метки. Отбирают 2,0 мл полученного раствора и доводят объём до 100,0 мл тем же растворителем. Концентрация НМС - 10 мкг/мл

Стандартный раствор (b). Точную навеску субстанции ГК (около 50,0 мг) помещают в мерную колбу вместимостью 100,0 мл, добавляют 50 мл метанола и раствор 0,1 М натрия гидроксида до $pH \approx 9,0$, обрабатывают ультразвуком 10 мин, доводят объём до метки метанолом. Отбирают 4,0 мл полученного раствора и доводят объём до 100,0 мл тем же растворителем. Концентрация ГК - 20 мкг/мл

Оптическую плотность измеряют при аналитических длинах волн: 305 нм — для НМС; 250 нм — для ГК, используя в качестве компенсационного раствора метанольно-щелочную среду ($pH \approx 9,0$).

Содержание действующих веществ рассчитывали по универсальной формуле, основанной на сравнении оптических плотностей испытуемого и стандартного растворов. Коэффициент пересчёта К учитывает все стадии разбавления и особенности пробоподготовки и составляет 666,7 для НМС и 1333,3 для ГК.

$$X = D_0/D_1 \cdot m_0/m_1 \cdot K$$

Где, X— содержание действующего вещества в таблетке, мг

- D1 — оптическая плотность испытуемого раствора
- D0— оптическая плотность стандартного раствора (РСО)
- m1 — масса навески препарата, г
- m0 — масса навески стандартного образца, г
- K — общий коэффициент пересчёта,

Содержание НМС и ГК должно быть от 0,0490 до 0,0510 г, считая на среднюю массу одной таблетки.

Упаковка.

10 таблеток в блистере, заклеенном алюминиевой фольгой, вместе с инструкцией по применению на государственном и русском языках в картонной упаковке.

Хранение.

Хранить в сухом, защищенном от света месте, при температуре не выше 25°C в. Срок годности – 2 года. Хранить в недоступном для детей месте!