



Разработка и валидация методики определения 5-фторурацила в составе полимерного комплекса на основе полиметакриловой кислоты методом УФ-спектроскопии

Жукова О. В. ¹, Дубовская Н. А. ¹, Хохлов А. Л. ²

¹ ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет», Нижний Новгород, Российская Федерация

² ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет», Ярославль, Российская Федерация

Аннотация

Актуальность. 5-фторурацил (5-ФУ) является базовым химиотерапевтическим агентом, однако его клиническое применение ограничено быстрым метаболизмом и высокой токсичностью. Разработка систем контролируемого высвобождения на основе полиметакриловой кислоты (ПМАК) позволяет улучшить фармакокинетический профиль препарата, что требует валидации методик анализа полученного соединения для обеспечения требований качества таких полимерных систем.

Цель. Разработка и валидация методики количественного определения 5-ФУ в полимерном комплексе на основе ПМАК методом УФ-спектроскопии в различных средах, имитирующих биологические условия.

Материалы и методы. Объектом исследования служил лиофилизированный полимерный комплекс 5-ФУ и ПМАК, полученный методом жидкофазного синтеза. Анализ проводился методом УФ-спектроскопии на приборе Shimadzu UV-1800 при длине волны 265–267 нм. Методика валидирована в соответствии с ГФ XV по показателям: специфичность, линейность, правильность, повторяемость и внутрилабораторная прецизионность (с участием двух операторов). Исследования велись в трёх средах: очищенная вода, фосфатный буфер (pH 7,4 — кровь) и цитратный буфер (pH 5,1 — внутриклеточная среда).

Результаты. Подтверждено образование комплекса за счет водородных связей между 5-ФУ и карбоксильными группами ПМАК. Методика признана специфичной, так как полимерный носитель не поглощает в аналитической области (265 нм). Установлена линейная зависимость ($R^2 > 0,999$). Показатель открываемости (правильность) составил от 98,48 % для среды цитратного буферного раствора до 99,23 % — для фосфатного буферного раствора. Коэффициент вариации (RSD) при проверке прецизионности не превысил 2 %, что подтверждает, что предложенный метод обладает удовлетворительной повторяемостью (сходимостью) и обеспечивает получение воспроизводимых результатов при многократном анализе проб в идентичных условиях. Расчётные критерии Стьюдента и Фишера подтвердили отсутствие систематических ошибок между операторами. В результате исследования выявлено, что в кислой среде (pH 5,1) высвобождение 5-ФУ на 15,92 % выше, чем при pH 7,4, что подтверждает pH-чувствительность системы.

Выводы. Разработанная спектрофотометрическая методика полностью отвечает требованиям валидности и может быть использована для контроля качества полимерных систем доставки 5-ФУ на основе ПМАК. Выявленная избирательность высвобождения 5-ФУ в кислой среде подтверждает перспективность использования полимерных комплексов для направленной доставки в опухолевые ткани.

Ключевые слова: 5-фторурацил; полиметакриловая кислота; полимерный комплекс 5-фторурацила на основе полиметакриловой кислоты; УФ-спектроскопия; валидация методики количественного определения

Для цитирования: Жукова О. В., Дубовская Н. А., Хохлов А. Л. Разработка и валидация методики определения 5-фторурацила в составе полимерного комплекса на основе полиметакриловой кислоты методом УФ-спектроскопии. *Пациентоориентированная медицина и фармация*. 2026;4(2):5-15. <https://doi.org/10.37489/2949-1924-0136>. EDN: VJZOQW.

Поступила: 01.03.2026. **В доработанном виде:** 05.04.2026. **Принята к печати:** 25.05.2026. **Опубликована:** 30.06.2026.

Development and validation of a method for the determination of 5-fluorouracil in a polymer complex based on polymethacrylic acid using UV spectroscopy

Olga V. Zhukova¹, Natalya A. Dubovskaya¹, Aleksandr L. Khokhlov²

¹ Privolzhsky Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russian Federation

² Yaroslavl State Medical University, Yaroslavl, Russian Federation

Abstract

Background. 5-fluorouracil (5-FU) is a basic chemotherapeutic agent, but its clinical use is limited by rapid metabolism and high toxicity. The development of controlled — release systems based on polymethacrylic acid (PMAA) allows for an improved pharmacokinetic profile of the drug, which requires validation of analytical methods for the resulting compound to ensure the quality requirements of such polymer systems.

Objective. Development and validation of a method for the quantitative determination of 5-FU in a PMAA — based polymer complex using UV spectroscopy in various media simulating biological conditions.

Materials and methods. The object of the study was a lyophilized polymer complex of 5-FU and PMAA, obtained by liquid — phase synthesis. The analysis was performed by UV spectroscopy on a Shimadzu UV-1800 instrument at a wavelength of 265–267 nm. The method was validated in accordance with the State Pharmacopoeia XV for the following parameters: specificity, linearity, accuracy, repeatability, and intralaboratory precision (with the participation of two operators). The studies were conducted in three media: purified water, phosphate buffer (pH 7.4 — blood) and citrate buffer (pH 5.1 — intracellular medium).

Results. Complex formation via hydrogen bonds between 5-FU and the carboxyl groups of PMAA was confirmed. The method was deemed specific, as the polymer carrier does not absorb in the analytical range (265 nm). A linear relationship was established ($R^2 > 0.999$). The recovery rate (accuracy) ranged from 98.48 % for a citrate buffer solution to 99.23 % for a phosphate buffer solution. The coefficient of variation (RSD) during precision testing did not exceed 2 %, confirming that the proposed method has satisfactory repeatability (convergence) and ensures reproducible results with multiple sample analyses under identical conditions. Calculated Student's and Fisher's t-tests confirmed the absence of systematic errors between operators. The study revealed that in an acidic environment (pH 5.1), the release of 5-FU was 15.92 % higher than at pH 7.4, confirming the pH sensitivity of the system.

Conclusions. The developed spectrophotometric method fully meets validity requirements and can be used for quality control of PMAA — based polymeric 5-FU delivery systems. The demonstrated selectivity of 5-FU release in an acidic environment confirms the potential of using polymeric complexes for targeted delivery to tumor tissue.

Keywords: 5-fluorouracil; polymethacrylic acid; polymeric complex of 5-fluorouracil based on polymethacrylic acid; UV-spectroscopy; validation of the quantitative determination method

For citation: Zhukova OV, Dubovskaya NA, Khokhlov AL. Development and validation of a method for the determination of 5-fluorouracil in a polymer complex based on polymethacrylic acid using UV spectroscopy. *Patient-oriented medicine and pharmacy*. 2026;4(2):5-15. (In Russ.). <https://doi.org/10.37489/2949-1924-0136>. EDN: VJZOQW.

Received: 01.03.2026. Revision received: 05.04.2026. Accepted: 25.05.2026. Published: 30.05.2026.

Введение / Introduction

5-фторурацил (5-ФУ) — одно из химиотерапевтических соединений, широко используемое в лечении онкологических заболеваний. 5-ФУ широко используется в практической медицине для лечения ряда солидных опухолей [1]. 5-ФУ быстро метаболизируется в организме, поэтому крайне важно поддержание высокой концентрации в сыворотке крови данного препарата для улучшения его терапевтической активности. Однако использование 5-ФУ в высоких концентрациях связано с высоким риском тяжелых токсических эффектов [2–4].

В литературе представлены многочисленные исследования, целью которых является создание системы для контролируемого высвобождения 5-ФУ, которые улучшают показатели лечения [5–9].

Полиметакрилаты являются широкодоступным классом синтетических полимеров. Полиметакриловая и полиакриловая кислоты являются водорастворимыми полимерами, имеющими в своём составе функциональные карбоксильные группы, позволяющие проводить их модификацию.

В работе, представленной в 2011 году, предложена универсальная модель pH-чувствительных наночастиц для селективной доставки лекарств, одной из составных частей которых является полиметакриловая кислота (ПМАК) [10]. В 2016 году проведено исследование по изучению противоопухолевых свойств *in vitro* и *in vivo* ПМАК, объединённой с золотосодержащими наночастицами, а также с доксорубицином через кислотолабильную цистеиновую связь [11].



Ранее был разработан полимерный комплекс 5-ФУ на основе ПМАК, продемонстрировавший изменение фармакокинетики и профиля биораспределения 5-ФУ после его включения в полимерный комплекс [12].

Валидация аналитических методик для определения лекарственных средств (ЛС) в составе полимерных частиц (мицеллы, полимеросомы), комплексов приобретает особую значимость в современной фармацевтике, однако методологические аспекты валидации для подобных систем освещены в научной литературе фрагментарно [13, 14]. Полимерные комплексы активно разрабатываются для улучшения биодоступности, стабильности и контролируемого высвобождения ЛС, особенно в онкологии, терапии нейродегенеративных заболеваний. Однако интеграция ЛС в полимерную матрицу приводит к сложностям в анализе: матричные эффекты, низкие концентрации активного вещества (часто <1 мкг/мл), неоднородность распределения ЛС требуют строгой валидации методик для обеспечения точности, воспроизводимости и селективности.

Целью (Objective)

данного исследования является разработка и валидация методики количественного определения 5-ФУ с помощью ультрафиолетовой спектроскопии (УФ-спектроскопия) в полимерном комплексе на основе ПМАК.

Материалы и методы / Materials and methods

Объектом исследования являлись образцы экспериментального полимерного комплекса 5-ФУ, представляющие собой лиофилизат для приготовления раствора.

Полимерный комплекс 5-ФУ на основе ПМАК был получен методом жидкофазного синтеза по ранее описанной методике [15].

В качестве метода определения количественного содержания 5-ФУ в составе полимерного комплекса использовали метод УФ-спектроскопии.

Определение проводилось в соответствии с ОФС. 1.2.1.1.0003 «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях» ГФ XV издания [16].

Поскольку полимерное производное 5-ФУ представляет собой 5-ФУ, связанный водородными связями с карбоксильными группами ПМАК, то для анализа готовили растворы исходных веществ.

Приготовление испытуемых растворов

0,00083 % раствор 5-ФУ. Точную навеску субстанции 5-ФУ (~0,01 г) количественно переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяли в воде, после доводили объём колбы тем же растворителем до метки и перемешивали. Отбирали аликвоту 8,3 мл, помещали в мерную колбу

вместимостью 100 мл, доводили объём колбы растворителем до метки, перемешивали.

0,01 % раствор ПМАК. Точную навеску ПМАК (~0,01 г) количественно переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяли в воде, после доводили объём колбы тем же растворителем до метки и перемешивали.

0,01 % раствор полимерного комплекса 5-ФУ. Точную навеску полимерного комплекса 5-ФУ (~0,01 г) количественно переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяли в воде, после доводили объём колбы тем же растворителем до метки и перемешивали.

Ультрафиолетовые спектры поглощения получали с помощью спектрофотометра UV — 1800 (Япония, Shimadzu) в пределе длин волн 190–400 нм (дата последней поверки — 29.09.2025). У полученных растворов измеряли оптическую плотность при длине волны 265 нм (для определения 5-ФУ) в кювете толщиной 1 см.

Линейная зависимость между поглощением и концентрацией образца позволяет проводить количественное определение. Поэтому содержание 5-ФУ рассчитывалось также спектрофотометрически, основываясь на законе Бугера-Ламберта-Бэра. Калибровочная кривая определялась путём измерения поглощения нескольких стандартных растворов известной концентрации.

Приготовление стандартных растворов 5-ФУ для оценки показателя «Линейность»

0,01 % стандартный раствор 5-ФУ в водной среде. Точную навеску субстанции 5-ФУ (~0,01 г) количественно переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяли в воде, доводили объём колбы тем же растворителем до метки и перемешивали.

0,01 % стандартный раствор 5-ФУ в среде фосфатного буферного раствора (pH 7,4). Точную навеску субстанции 5-ФУ (~0,01 г) количественно переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяли в фосфатном буфере, доводили объём колбы тем же растворителем до метки и перемешивали.

0,01 % стандартный раствор 5-ФУ в среде цитратного буферного раствора (pH 5,1). Точную навеску субстанции 5-ФУ (~0,01 г) количественно переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяли в фосфатно-цитратном буфере, доводили объём колбы тем же растворителем до метки и перемешивали.

Из каждого из вышеперечисленных стандартных растворов отбирали аликвоту 5 мл и разводили ее в 2 раза. Затем последовательно отбирали по 5 мл из полученных растворов и также разводили в два раза. Всего процедура повторяется 5 раз. Для получения промежуточных концентраций из

второго, третьего, четвёртого и пятого разведения отбирались аликвоты объёмом 3 мл и смешивались с 1,5 мл соответствующего растворителя.

Приготовление испытываемых растворов для оценки показателя «Правильность»

0,008 % раствор полимерного комплекса 5-ФУ. Точную навеску полимерного комплекса 5-ФУ (~0,01 г) количественно переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяли в воде, доводили объём колбы тем же растворителем до метки и перемешивали. Отбирали аликвоту 80 мл, помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводили объём колбы растворителем до метки, перемешивали.

0,01 % раствор полимерного комплекса 5-ФУ. Точную навеску полимерного комплекса 5-ФУ (~0,01 г) количественно переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяли в воде, доводили объём колбы тем же растворителем до метки и перемешивали.

0,012 % раствор полимерного комплекса 5-ФУ. Точную навеску полимерного комплекса 5-ФУ (~0,012 г) количественно переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяли в воде, доводили объём колбы тем же растворителем до метки и перемешивали.

Каждый из растворов готовился трижды в соответствующем растворителе (вода, фосфатный буферный раствор (рН 7,4), цитратный буферный раствор (рН 5,1)).

Приготовление испытываемых растворов для оценки показателя «Повторяемость»

Точную навеску полимерного комплекса 5-ФУ (~0,01 г) количественно переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяли в растворителе, доводили объём колбы тем же растворителем до метки и перемешивали.

Процедуру повторяли 6 раз.

Приготовление испытываемых растворов для оценки показателя «Прецизионность»

Испытуемые растворы для оценки показателя «Прецизионность» готовили в соответствии с методикой, использованной при определении правильности. Процедуру выполняли независимо два исследователя для трёх концентраций 5-ФУ: 0,0056, 0,0070 и 0,0084 мг/мл. Для каждой концентрации каждый исследователь приготовил по шесть параллельных проб.

Оптическая плотность приготовленных стандартных растворов 5-ФУ, а также испытываемых растворов полимерного комплекса 5-ФУ для определения валидационных показателей (правильность, повторяемость, прецизионность) в разных средах измерялась при длинах волн от 265–267 нм (n=5), в зависимости от рН среды и от использованного буферного раствора.

Содержание 5-ФУ вычисляли по уравнениям калибровочных кривых (формула (1):

$$X = \frac{A}{b}, \text{ где} \quad (1)$$

X — содержание 5-ФУ, мг/мл;

A — оптическая плотность, усл. ед.;

b — коэффициент линейной регрессии соответствующей калибровочной кривой.

Предложенная методика количественного определения 5-ФУ в полимерном производном валидирована в соответствии с ОФС «Валидация аналитических методов» (ГФ XV ОФС. 1.1.0012) по показателям специфичности, линейности, правильности, прецизионности (повторяемость (сходимость), промежуточная (внутрилабораторная) прецизионность).

Результаты и их обсуждение / Results and discussion

В результате межмолекулярного взаимодействия 5-ФУ и карбоксильными группами остатков ПМАК образуется водорастворимый полимерный комплекс (рис. 1).

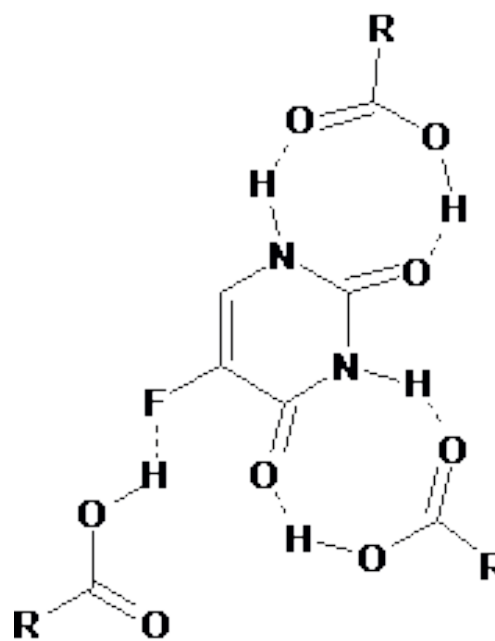


Рис. 1. Межмолекулярное взаимодействие 5-фторурацила с карбоксильными группами ПМАК

Fig. 1. Intermolecular interaction of 5-fluorouracil with the carboxyl groups of PMAA

Примечание: R — остаток ПМАК

Note: R is the residue of PMAA

Межмолекулярное взаимодействие обусловлено образованием водородных связей между электроотрицательным атомом фтора в 5-ФУ и атомом водорода в карбоксильном остатке МАК, имеющем

частично положительный заряд и связанным ковалентной связью с электроотрицательным атомом кислорода. Также водородная связь образуется между атомом водорода в группе $-NH$ -пиримидинового кольца и атомом кислорода в остатке МАК, а также между атомом кислорода и атомом водорода в остатке МАК. Такой механизм свидетельствует о полной комплементарности 5-ФУ остатку МАК. Каждая молекула 5-ФУ связывает полностью два остатка МАК и частично третий остаток.

Данные УФ-спектроскопии (рис. 2) являются методом, подтверждающим образование межмолекулярного комплекса 5-ФУ с полимером ПМАК.

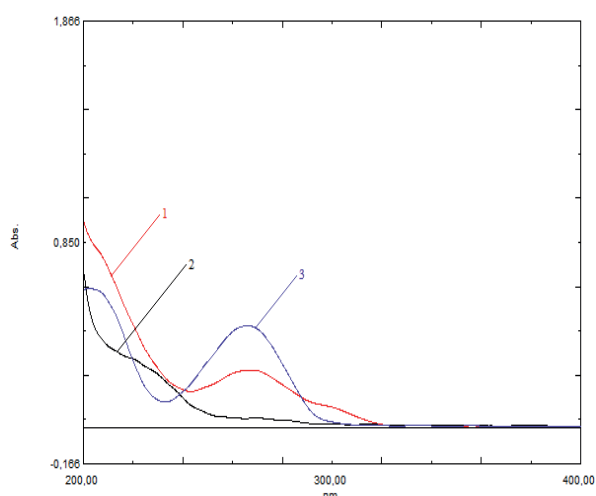


Рис. 2. УФ-спектры полимерного комплекса 5-ФУ (0,1 мг/мл), ПМАК (0,1 мг/мл), 5-ФУ (0,0083 мг/мл)

Fig. 2. UV spectra of the polymer complex 5-FU (0.1 mg/ml), PMAK (0.1 mg/ml), and 5-FU (0.0083 mg/ml)
Примечания: 1 — раствор полимерного комплекса 5-ФУ; 2 — раствор ПМАК; 3 — раствор, содержащий субстанцию 5-ФУ.

Notes: 1—5-FU polymer complex solution; 2 — PMAK solution; 3 — solution containing 5-FU substance.

Для оценки возможности использования полимерного комплекса 5-ФУ в качестве системы

доставки был проведен анализ высвобождения 5-ФУ в средах, имитирующих биосреды организма.

Особенностью интерполимерных комплексов, конъюгатов противоопухолевых ЛС является их устойчивость в среде, имитирующей среду кровяного русла (рН 7,35–7,45) и распадаемость комплекса, конъюгата с высвобождением противоопухолевого ЛС в среде, имитирующей внутриклеточное пространство (рН 6,8–7,2), в среде, имитирующей опухолевое окружение (рН 6,2–6,8) или в среде, имитирующей рН внутриклеточных лизосом (рН 4,0–5,0).

В качестве сред, имитирующих биосреды использовались 2 буферных раствора: ФБ с рН 7,4 — для имитации кровяного русла и ЦБ с рН 5,1 — для имитации внутриклеточного пространства.

Получено, что высвобождение полимерного комплекса с 5-ФУ в кислой среде (при рН 5,1) выше на 15,92 %, чем при рН 7,4. Данное обстоятельство объясняется ускоренным гидролизом рН-чувствительных связей в полимерной матрице при пониженном значении рН; изменением электростатических взаимодействий между носителем и 5-ФУ; увеличением степени набухания полимера в кислых условиях, что облегчает диффузию 5-ФУ.

Полученные данные имеют важное практическое значение для разработки систем направленной доставки противоопухолевых ЛС.

Поэтому в ходе исследования проводилась валидация методики количественного определения 5-ФУ методом УФ-спектроскопии в разных средах: в воде; в фосфатном буферном растворе (рН 7,4); в цитратном буферном растворе (рН 5,1).

Оценка показателя «Специфичность». Специфичность метода определялась путём сравнения УФ-спектров поглощения исследуемых образцов и возможных мешающих компонентов в используемых растворителях.

Первоначально были записаны УФ-спектры всех применяемых в методике растворителей (вода очищенная, фосфатный (рН 7,4) и цитратный (рН 5,1) буферы) в диапазоне 190–400 нм (рис. 3).

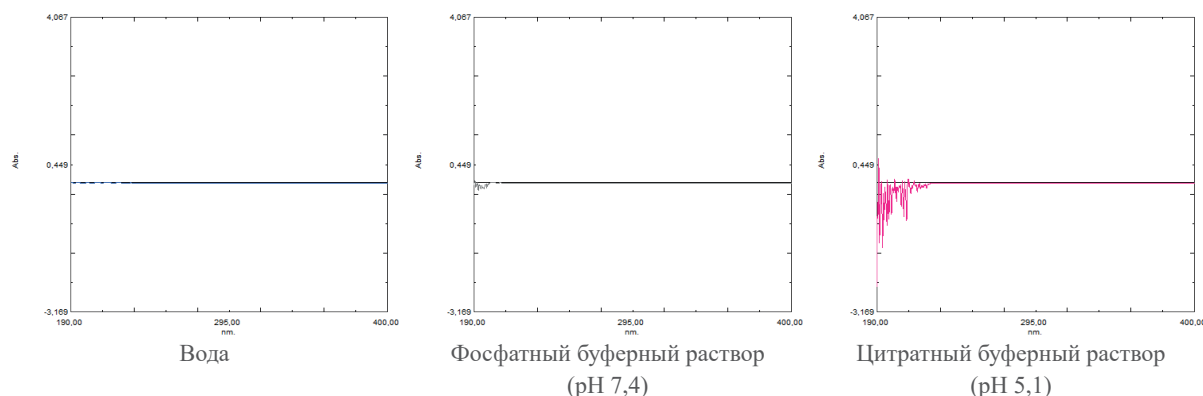


Рис. 3. УФ-спектры используемых растворителей

Fig. 3. UV spectra of the solvents used

Установлено, что ни один из растворителей не поглощает свет в области 260–265 нм, то есть их собственный вклад в сигнал отсутствует.

УФ-спектры растворов стандартного образца 5-ФУ во всех используемых средах показали четкий максимум поглощения при 265–267 нм (рис. 4). Это подтвердило, что данная полоса поглощения

является характерной для 5-ФУ и может использоваться как аналитический сигнал.

Для подтверждения того, что полоса поглощения при 265–267 нм в растворе исследуемого полимерного комплекса 5-ФУ принадлежит именно молекуле лекарственного вещества, а не полимеру или примесям, были записаны его УФ-спектры (рис. 5).

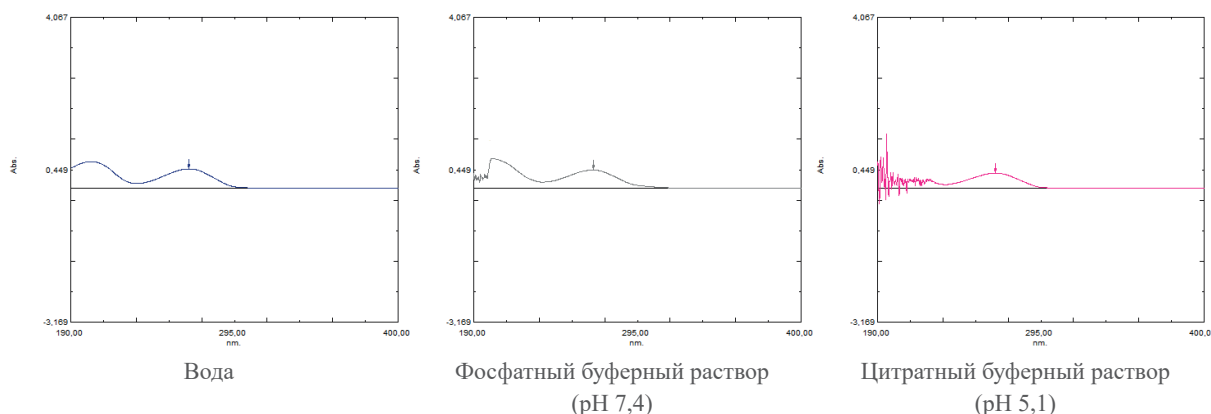


Рис. 4. УФ-спектры растворов 5-фторурацил (0,0083 мг/мл)

Fig. 4. UV spectra of 5-fluorouracil solutions (0.0083 mg/ml)

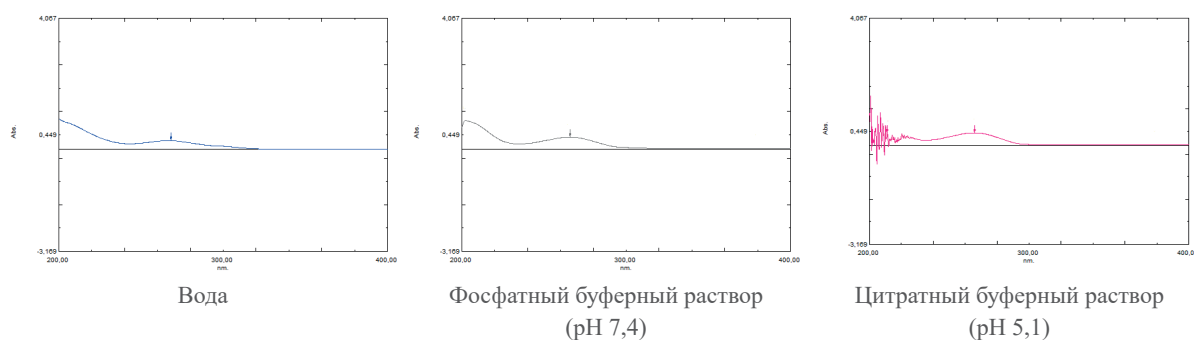


Рис. 5. УФ-спектры растворов полимерного комплекса 5-фторурацила (0,1 мг/мл)

Fig. 5. UV spectra of solutions of the polymer complex 5-fluorouracil (0.1 mg/ml)

Спектры поглощения полимерного комплекса 5-ФУ совпали со спектрами чистого 5-ФУ, демонстрируя такой же максимум при 265–267 нм в зависимости от среды. Совпадение спектров доказывает, что предложенный спектрофотометрический метод является специфичным для определения 5-ФУ в составе полимерного комплекса. Полимерный носитель не мешает измерению концентрации 5-ФУ в выбранном диапазоне длин волны.

Оценка показателя «Линейность». Линейность метода оценивали в рабочем диапазоне концентраций 5-ФУ от 0,0016 до 0,0167 мг/мл.

Перед статистической обработкой данных для построения калибровочной зависимости была

проведена проверка однородности измерений для каждой приготовленной концентрации стандартных растворов. Для выявления грубых ошибок в малых выборках использовали Q-критерий. При доверительной вероятности $p=0,99$ все вычисленные значения Q-критерия для экспериментальных данных не превысили критического табличного значения $Q_{крит.} (0,99; n=0,760)$. Это подтвердило однородность выборки и отсутствие статистических выбросов, что позволило перейти к дальнейшему анализу.

Зависимость оптической плотности от концентрации 5-ФУ в указанном диапазоне хорошо описывается линейным уравнением, которое имеет вид $y = bx + a$ (рис. 6).

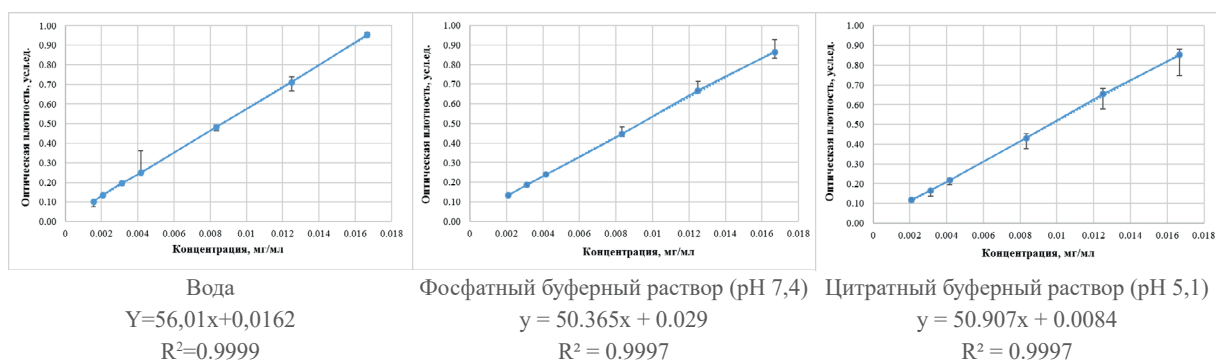


Рис. 6. Калибровочные графики для исследования линейности метода при количественном определении 5-фторурацила методом УФ-спектроскопии

Fig. 6. Calibration graphs for studying the linearity of the method for the quantitative determination of 5-fluorouracil by UV spectroscopy

Проверка значимости коэффициентов была проведена по критерию Стьюдента (табл. 1).

Таблица 1. Значимость коэффициентов регрессии a , b
Table 1. Significance of regression coefficients a , b

$t_{\text{расч. } b}$	Стандартная ошибка определения, S_b	$t_{\text{расч. } a}$	Стандартная ошибка определения, S_a	$t_{\text{табл.}}$
Вода				
206,436	0,2713	6,8043	0,0024	4,03
Фосфатный буферный раствор (pH 7,4)				
112,4741	0,4478	6,6811	0,0042	4,60
Цитратный буфер раствор (pH 5,1)				
109,9668	0,4629	1,9277	0,0044	4,60

Установлено, что коэффициенты a и b являются статистически значимыми для среды воды и фосфатного буферного раствора (pH 7,4). Итоговое уравнение прямой для воды — $y=56,01x+0,0162$; для фосфатного буферного раствора (pH 7,4) — $y=50,365x+0,029$. Для среды цитратного буферного раствора (pH 5,1) установлено, что коэффициент b является статистически значимым, в то время как коэффициент a статистически значимым не

является. На основании этого калибровочная зависимость была перестроена в виде уравнения $y=bx$, проходящего через начало координат. Итоговое уравнение прямой для цитратного буферного раствора — $y=51,645x$. Коэффициент детерминации R^2 равен 0,9994.

При изучении линейной зависимости была проведена статистическая обработка экспериментальных данных (табл. 2).

Таблица 2. Результаты статистической обработки экспериментальных данных, полученных при изучении линейной зависимости $y = bx + a$
Table 2. Results of statistical processing of experimental data obtained in the study of the linear dependence $y = bx + a$

f	$x_{\text{ср}}$	$y_{\text{ср}}$	b	a	$t(99,3)$	Δb	Δa	S_0^2	r
Вода									
5	0,0069	0,4037	56,01	0,0162	4,03	1,093	0,0163	0,000015	0,99995
Фосфатный буферный раствор (pH 7,4)									
4	0,0078	0,42	50,365	0,029	4,60	2,0598	0,0193	0,000034	0,9998
Цитратный буфер раствор (pH 5,1)									
4	0,0078	0,4061	51,645	—	4,60	2,1293	—	0,000069	0,9997

Оценка показателя «Правильность». Правильность аналитической методики оценивалась для 9 определений 3-х концентраций (0,0056 мг/мл; 0,0070 мг/мл; 0,0084 мг/мл). Среднее значение отклоняемости 5-ФУ по результатам количественного

определения вещества в среде воды составило 98,91 %, в среде фосфатного буферного раствора (рН 7,4) составило 99,23 %, а для методики в среде цитратного буферного раствора (рН 5,1) — 98,48 % (табл. 3).

Таблица 3. Метрологические характеристики методики количественного определения 5-ФУ в составе полимерного комплекса методом УФ-спектроскопии
Table 3. Metrological characteristics of the method for quantitative determination of 5-FU in the polymer complex using UV spectroscopy

n	f	μ	X _{ср} , %	S ²	S	P, %	T (P, f)	ΔX	ΔX _{ср}	εср., %	RSD, %
Вода											
9	8	100	98,91	2,0617	1,4359	99	3,36	4,8245	1,6082	1,6259	1,4518
Фосфатный буферный раствор (рН 7,4)											
9	8	100	99,23	2,0553	1,4336	99	3,36	4,8169	1,6057	1,6181	1,4447
Цитратный буферный раствор (рН 5,1)											
9	8	100	98,48	0,5284	0,7269	99	3,36	2,4425	0,8142	0,8267	0,7381

Оценка показателя «Аналитическая область». Диапазон применения (аналитическая область) аналитической методики оценивали по результатам оценки показателей «Линейность» и «Правильность». Критерий приемлемости: для количественного определения основного вещества диапазон применения методики должен составлять 80–120 % от номинального содержания.

На основании результатов, полученных при оценке показателей «Линейность» и «Правильность», диапазон применения методики составляет 80–120 %, поскольку показатель «Правильность» определяли при концентрациях 80 % (0,0800 мг/мл полимерного комплекса 5-ФУ и 0,0056 мг/мл по 5-ФУ), 100 % (0,1000 мг/мл полимерного комплекса 5-ФУ и 0,007 мг/мл по 5-ФУ) и 120 % (0,1200 мг/мл полимерного комплекса 5-ФУ и 0,0084 мг/мл по 5-ФУ) от номинального

содержания. Показатель «Линейность» определяли в диапазоне 22,33–238,57 % от концентрации стандартного образца, используемой в аналитической методике.

Заключение: валидируемый показатель соответствует критерию приемлемости.

Оценка показателя «Прецизионность». Прецизионность исследовалась на однородных образцах и оценивалась в двух вариантах: повторяемость (сходимость) и внутрилабораторная (промежуточная) прецизионность.

Повторяемость (сходимость).

Показатель повторяемости оценивали по результатам шести параллельных определений концентрации с известным содержанием 5-ФУ (табл. 4). Все измерения были выполнены одним исследователем на одном приборе в течение короткого промежутка времени.

Таблица 4. Метрологические характеристики определения повторяемости количественного определения 5-ФУ методом спектроскопии
Table 4. Metrological characteristics for determining the repeatability of the quantitative determination of 5-FU by spectroscopy

n	f	X _{ср} , %	S	P, %	T (P, f)	ΔX	ΔX _{ср}	RSD, %
Вода								
6	5	99,76	1,5189	99	4,03	6,1214	2,4991	1,5226
Фосфатный буферный раствор (рН 7,4)								
6	5	98,19	1,4509	99	4,03	5,8473	2,3871	1,4777
Цитратный буферный раствор (рН 5,1)								
6	5	97,46	1,0448	99	4,03	4,2106	1,7189	1,0720

Полученное значение RSD не превысило 2 %, что подтверждает, что предложенный метод обладает удовлетворительной повторяемостью

(сходимостью) и обеспечивает получение воспроизводимых результатов при многократном анализе проб в идентичных условиях.



Внутрилабораторная прецизионность.

Оценка внутрилабораторной прецизионности проводилась для оценки воспроизводимости результатов метода в условиях, допускающих некоторые варьируемые факторы внутри одной лаборатории. Исследование было выполнено на кафедре фармацевтической химии и фармакогнозии ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России в течение короткого промежутка времени при использовании одного и того же аналитического оборудования.

Ключевым варьируемым фактором в данном исследовании выступил исполнитель (оператор). Анализ

проводили два разных исследователя, каждый из которых выполнил серию определений для трёх различных концентраций стандартного раствора 5-фторурацила: 0,0056 мг/мл; 0,0070 мг/мл; 0,0084 мг/мл.

Для каждой концентрации и каждого оператора были рассчитаны основные статистические показатели (табл. 5).

Воспроизводимость оценивалась по критерию Стьюдента. Поскольку $t_{расч} < T$ (99 %, 5), то результаты двух выборок следует считать свободными от систематической ошибки, а значит, воспроизводимыми.

Таблица 5. Метрологические характеристики определения внутрилабораторной прецизионности при количественном определении 5-ФУ методом спектроскопии
Table 5. Metrological characteristics for determining intralaboratory precision in the quantitative determination of 5-FU by spectroscopy

Концентрация, мг/мл	Исследователь	μ	f	Xср, %	S	P	t (P, f) табл.	Δx	ε	tвыч	F (99,5,5)	F (выч)
Вода												
0,0056	1	100	5	98,19	1,5802	99	4,03	6,3683	6,4859	2,8117	3,45	1,0838
	2	100	5	98,35	1,5179	99	4,03	6,1171	6,2200	2,6699	3,45	
0,0070	1	100	5	99,76	1,5189	99	4,03	6,1214	6,1361	0,3853	3,45	0,8159
	2	100	5	98,74	1,6816	99	4,03	6,7767	6,8631	1,8341	3,45	
0,0084	1	100	5	98,89	1,3692	99	4,03	5,5180	5,5795	1,9711	3,45	0,7306
	2	100	5	99,00	1,6019	99	4,03	6,4556	6,5205	1,5224	3,45	
Фосфатный буферный раствор (pH 7,4)												
0,0056	1	100	5	98,27	1,9214	99	4,03	7,7431	7,8794	2,2046	3,45	1,2102
	2	100	5	98,68	1,7466	99	4,03	7,0387	7,1326	1,8451	3,45	
0,0070	1	100	5	99,09	1,3623	99	4,03	5,4899	5,5406	1,6431	3,45	1,1001
	2	100	5	98,38	1,2988	99	4,03	5,2341	5,3205	3,0608	3,45	
0,0084	1	100	5	99,59	1,0952	99	4,03	4,4135	4,4316	0,9160	3,45	1,4505
	2	100	5	99,28	0,9093	99	4,03	3,6646	3,6914	1,9522	3,45	
Цитратный буфер раствор (pH 5,1)												
0,0056	1	100	5	97,85	1,7899	99	4,03	7,2137	7,3720	2,9393	3,45	1,0565
	2	100	5	100,91	1,7415	99	4,03	7,0181	6,9551	1,2749	3,45	
0,0070	1	100	5	98,38	1,7111	99	4,03	6,8959	7,0092	2,3158	3,45	0,9341
	2	100	5	99,90	1,7705	99	4,03	7,1350	7,1419	0,1333	3,45	
0,0084	1	100	5	98,66	1,1843	99	4,03	4,7731	4,8379	2,7736	3,45	0,5126
	2	100	5	97,39	1,6542	99	4,03	6,6665	6,8451	3,8631	3,45	

Выводы / Conclusions

Доказано, что разработанная методика удовлетворяет требованиям валидности по показателям специфичности, линейности, правильности,

прецизионности (повторяемость (сходимость), промежуточная (внутрилабораторная) прецизионность) в соответствии с ОФС «Валидация аналитических методов» (ГФ XV ОФС. 1.1.0012).

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Участие авторов

Все авторы внесли существенный вклад в подготовку работы, прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией.

Финансирование

Данная статья подготовлена без привлечения спонсорских средств или финансовой поддержки третьих лиц. Работа выполнена за счёт собственных ресурсов авторов.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Жукова Ольга Вячеславовна — д. фарм. н., доцент, зав. кафедрой фармацевтической химии и фармакогнозии ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет», Нижний Новгород, Российская Федерация.

Автор, ответственный за переписку

e-mail: ov-zhukova@mail.ru

ORCID ID: 0000-0002-6454-1346

РИНЦ SPIN-код: 4167-1496

Дубовская Наталья Александровна — ассистент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет», Нижний Новгород, Российская Федерация.

e-mail: nata.dubovskaya.99@bk.ru

ORCID ID: 0000-0002-2110-5317

РИНЦ SPIN-код: 9137-3844

Хохлов Александр Леонидович — д. м. н., профессор, академик РАН, зав. кафедрой фармакологии и клинической фармакологии, ректор ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет», Председатель Совета по этике при Министерстве здравоохранения РФ, Ярославль, Российская Федерация

e-mail: rector@ysmu.ru

ORCID ID: 0000-0002-0032-0341

РИНЦ SPIN-код: 9389-8926

ADDITIONAL INFORMATION

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interest.

Authors' participation

All authors made a significant contribution to the preparation of the work, read and approved the final version of the article before publication.

Financing

This article was prepared without the use of sponsorship funds or financial support from third parties. The work was carried out using the authors' own resources.

ABOUT THE AUTHORS

Olga V. Zhukova — Dr. Sci. (Pharm.), Associate Professor, Head of the Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy at the Volga Region Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russian Federation.

Corresponding author

e-mail: ov-zhukova@mail.ru

ORCID ID: 0000-0002-6454-1346

RSCI SPIN-code: 4167-1496

Natalya A. Dubovskaya — Assistant Professor, Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy, Privolzhsky Research Medical University, Nizhny Novgorod, Russian Federation.

e-mail: nata.dubovskaya.99@bk.ru

ORCID ID: 0000-0002-2110-5317

RSCI SPIN-code: 9137-3844

Aleksandr L. Khokhlov — Dr. Sci. (Med.), Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Head of the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Rector of the Yaroslavl State Medical University, Chairman of the Ethics Council under the Ministry of Health of the Russian Federation, Yaroslavl, Russian Federation

e-mail: rector@ysmu.ru

ORCID ID: 0000-0002-0032-0341

RSCI SPIN-code: 9389-8926



Список литературы / References

1. Diasio RB, Harris BE. Clinical pharmacology of 5-fluorouracil. *Clin Pharmacokinet.* 1989 Apr;16(4): 215-37. doi: 10.2165/00003088-198916040-00002
2. Kennedy BJ. 5-fluorouracil toxicity: old or new? *Cancer.* 1999 Oct 1;86(7):1099-100.
3. Alter P, Herzum M, Soufi M, et al. Cardiotoxicity of 5-fluorouracil. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem.* 2006 Jan;4(1):1-5. doi: 10.2174/187152506775268785.
4. Naren G, Guo J, Bai Q, et al. Reproductive and developmental toxicities of 5-fluorouracil in model organisms and humans. *Expert Rev Mol Med.* 2022 Jan 31;24:e9. doi: 10.1017/erm.2022.3.
5. Szota M, Reczyńska-Kolman K, Pamuła E, et al. Poly(amidoamine) Dendrimers as Nanocarriers for 5-Fluorouracil: Effectiveness of Complex Formation and Cytotoxicity Studies. *Int J Mol Sci.* 2021 Oct 16;22(20):11167. doi: 10.3390/ijms22011167.
6. Wang W, Joyce P, Bremmell K, et al. Liposomal 5-Fluorouracil Polymer Complexes Facilitate Tumor-Specific Delivery: Pharmacokinetics Using Microdialysis. *Pharmaceutics.* 2022 Jan 18;14(2):221. doi: 10.3390/pharmaceutics14020221.
7. Mashaqbeh H, Obaidat R, Al-Shar'i NA, et al. Weak complexation of 5-fluorouracil with β -cyclodextrin, carbonate, and dianhydride crosslinked β -cyclodextrin: in vitro and in silico studies. *Res Pharm Sci.* 2022 Jul 14;17(4):334-349. doi: 10.4103/1735-5362.350235.
8. Szota M, Wolski P, Carucci C, et al. Effect of Ionization Degree of Poly(amidoamine) Dendrimer and 5-Fluorouracil on the Efficiency of Complex Formation-A Theoretical and Experimental Approach. *Int J Mol Sci.* 2023 Jan 3;24(1):819. doi: 10.3390/ijms24010819.
9. Grant JJ, Pillai SC, Perova TS, et al. Enhancement of 5-Fluorouracil Drug Delivery in a Graphene Oxide Containing Electrospun Chitosan/Polyvinylpyrrolidone Construct. *Materials (Basel).* 2024 Oct 31;17(21):5300. doi: 10.3390/ma17215300/
10. Tang H, Guo J, Sun Y, et al. Facile synthesis of pH sensitive polymer-coated mesoporous silica nanoparticles and their application in drug delivery. *Int J Pharm* 2011;421:388-96.
11. Yilmaz G, Demir B, Timur S, Becer CR. Poly (methacrylic acid)- coated gold nanoparticles: functional platforms for theranostic applications. *Biomacromolecules* 2016;17:2901-11.
12. Zhukova OV, Dubovskaya NA, Zykova DA, et al. Specifics of Pharmacokinetics and Biodistribution of 5-Fluorouracil Polymeric Complex. *Molecules.* 2023 Dec 15;28(24):8096. doi: 10.3390/molecules28248096.
13. Razavi L, Raissi H, Farzad F. Validation of an MD simulation approach for electrical field responsive micelles and their application in drug delivery. *Sci Rep.* 2023 Feb 15;13(1):2665. doi: 10.1038/s41598-023-29835-y.
14. Galbis E, Iglesias N, Lucas R, Tinajero-Díaz E, de Paz MV, Muñoz-Guerra S, Galbis JA. Validation of Smart Nanoparticles as Controlled Drug Delivery Systems: Loading and pH-Dependent Release of Pilocarpine. *ACS Omega.* 2018 Jan 31;3(1):375-382. doi: 10.1021/acsomega.7b01421.
15. Дубовская Н.А., Жукова О.В. Получение и оценка комплекса полимера метакриловой кислоты и 5-фторурацила при различных условиях pH среды. *Современные проблемы естественных наук и фармации.* Сборник статей Всероссийской научной конференции; 20–23 мая 2025 г.; Марийский гос. ун-т, Йошкар-Ола; 2025;(14):332-335. [Dubovskaya N.A., Zhukova O.V. Preparation and evaluation of a complex of methacrylic acid polymer and 5-fluorouracil under different pH conditions. *Modern problems of natural sciences and pharmacy.* Collection of articles of the All-Russian scientific conference; May 20–23, 2025; Mari State University, Yoshkar-Ola; 2025; (14): 332–335.].
16. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV издание. — Москва, 2023. — URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15> (дата обращения: 05.02.2026). — Текст: электронный. [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 15th edition. Moscow, 2023.].