

УДК 615.31:547.466.34.06:543.422.3

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ «ФЕНИГАММЫ» МЕТОДОМ УФ-СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ

Б.В. Боровский, Д.Д. Шабардина

*Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ
Минздрава России, г. Пятигорск*

METHODS OF QUANTITATIVE DETERMINATION OF "PHENIGAMMA" ELABORATION USING UV SPECTROPHOTOMETRY

B.V. Borovskiy, D.D. Shabardina

*Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – a branch of Volgograd State Medical
University, Pyatigorsk
E-mail: boryusikxxl@rambler.ru*

Разработана методика количественного определения нового биологически активного производного ГАМК с использованием УФ-спектрофотометрии. Полученные результаты позволили рекомендовать разработанную методику для использования в фармацевтическом анализе как субстанции, так и в лекарственной форме, для количественного анализа.

Ключевые слова: валидация, стандартизация, УФ-спектрофотометрия.

Значительный рост заболеваний, связанных с нарушением мозгового кровообращения, когнитивных функций головного мозга, делает все более актуальными исследования по внедрению в практику высокоэффективных нейропротекторных лекарственных препаратов.

Сотрудниками кафедры органической химии Российского Государственного Педагогического Университета имени А.И. Герцена (г. Санкт-Петербург) синтезировано новое производное ГАМК «Фенигамма». Исследования, проведенные фармакологами Волгоградского государственного медицинского университета, показали высокую нейропротекторную и ноотропную фармакологическую активность этого химического соединения.

We have elaborated a methodology for quantitative determination of new biologically active derivative of GABA using UV spectrophotometry. The results obtained allowed us recommending this methodology for use in pharmaceutical analysis as excipient, and as drug dosage for quantitative analysis.

Keywords: validation, standardization, UV spectrophotometry.

С учетом важнейшей роли стандартизации как одного из базовых этапов внедрения лекарственного средства в производство, целью наших исследований явилась разработка и валидационная оценка УФС методики «Фенигаммы».

Объектом исследования являлись перекристаллизованные и хроматографически очищенные образцы субстанции «Фенигамма» и стандартные образцы исследуемого вещества, предоставленные разработчиками.

Экспериментальную работу проводили на УФ-спектрофотометре СФ-46.

Использование УФ-спектрофотометрии для количественного определения исследуемого соединения основано на наличии в его структуре ароматического

пиридинового кольца, которое обуславливает поглощение в УФ-свете при длине волны 260 ± 2 нм [1]. Спектры химически

чистого и испытуемого 0,002% растворов «Фенигаммы» представлены на рисунках 1 и 2.

А

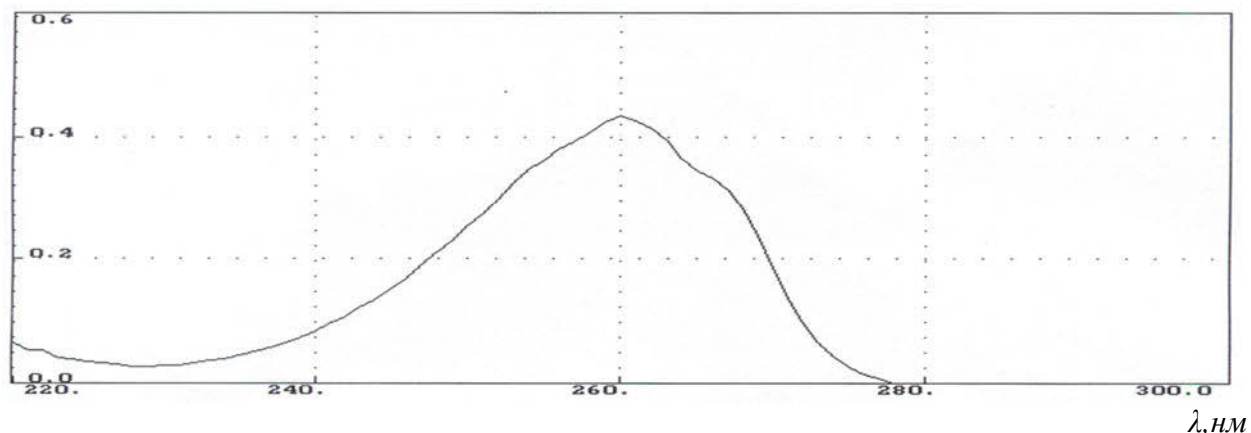


Рисунок 1– Спектр поглощения 0,002% ХЧО раствора «Фенигаммы» в воде

А

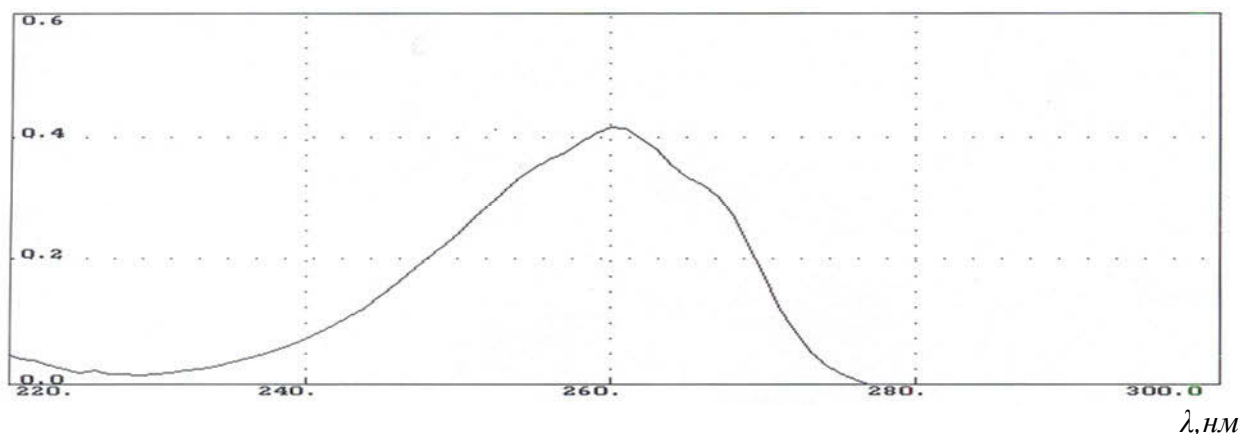


Рисунок 2 – Спектр поглощения 0,002% испытуемого раствора «Фенигаммы» в воде

Методика эксперимента заключалась в следующем: в мерные колбы вместимостью 100 мл помещали точные массы «Фенигаммы», равные 0,02 г (точная навеска) и растворяли в 20–30 мл воды, затем объем раствора доводили до метки тем же растворителем (раствор А). Градуированной пипеткой 10 мл раствора А переносили в мерные колбы вместимостью 100 мл и доводили объемы до метки водой. Растворы перемешивали и измеряли их спектр поглощения в диапазоне длин волн 220–300 нм. Спектр поглощения должен содержать одну полосу поглощения с минимумом при 230 ± 2 нм, максимум при 260 ± 2 нм. Параллельно измеряют оптическую плотность раствора химически чистого образца «Фенигаммы», приготовленного по

вышеописанной методике. Раствором, относительно которого проводят измерения оптических плотностей испытуемого и химически чистого образца «Фенигаммы», является растворитель (вода).

Содержание «Фенигаммы» в субстанции рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{A_x \cdot C_{\text{хчо}} \cdot W_1 \cdot W_2}{A_{\text{хчо}} \cdot a \cdot V_a} \quad (1),$$

где X – содержание «Фенигаммы» в субстанции, %;

A_x , $A_{\text{хчо}}$ – оптическая плотность соответственно анализируемого и химически чистого раствора;

$C_{\text{хчо}}$ – концентрация раствора химически чистого образца «Фенигаммы», %;

W_1, W_2 – объемы мерных колб, используемых для приготовления анализируемого раствора, мл;
 a – величина навески испытуемого образца «Фенигаммы», взятая на анализ, г;
 V_a – объем аликвоты, взятый для приготовления исследуемого раствора, мл.

По разработанной нами методике проводили количественное определение «Фенигаммы». Анализ проводился в шестикратной повторности. Статистически обработанные результаты приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты количественного определения «Фенигаммы» УФ-спектрофотометрическим методом

Внесено, «Фенигаммы», г	Оптическая плотность испытуемого раствора A_x	Концентрация исследуемого раствора C , %	Найдено «Фенигаммы», %	Метрологические характеристики
0,02000	0,415	0,002	97,42	$\bar{X} = 98,91\%$ $S = 1,9310$ $S_{\bar{x}} = 0,7883$ $\Delta x_i = 2,04$ $\varepsilon_i = \pm 2,15\%$ $A_{x_{\text{нч}}} = 0,426$
0,02005	0,421	0,002	98,59	
0,01995	0,410	0,002	101,4	
0,02000	0,432	0,002	96,48	
0,02000	0,430	0,002	100,94	
0,01995	0,419	0,002	98,6	

Как следует из представленных данных, среднее содержание «Фенигаммы» составляет 98,91% при относительной погрешности определения $\pm 2,15\%$. Валидационная оценка методики проводилась по показателям: линейность, сходимость, правильность.

Определение линейности. Линейность устанавливали по шести навескам «Фенигаммы»; от 0,01 до 0,035 г веще-

ства помещали в мерные колбы вместимостью 100 мл и проводили спектрофотометрический анализ по вышеописанной методике. В каждой точке измерения выполняли в трехкратной повторности и определяли среднюю оптическую плотность. По полученным данным строили график линейной зависимости оптической плотности от концентрации «Фенигаммы» в растворе.

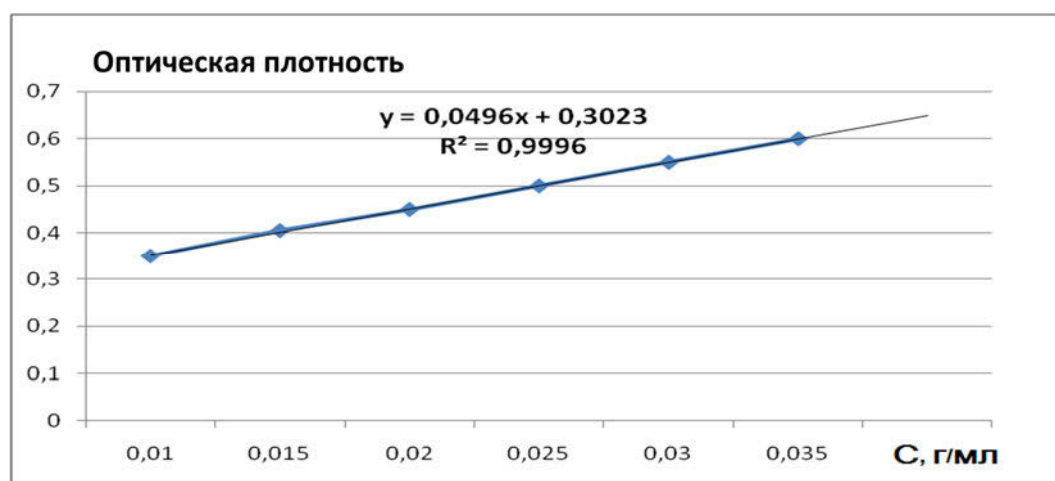


Рисунок 3 – График линейной зависимости оптической плотности от концентрации «Фенигаммы» в растворе

Регрессионным анализом методом наименьших квадратов установлено, что зависимость аппроксимируется уравнением $y = 0,0496x + 0,3023$. Коэффициент корреляции при этом составляет 0,9996, что свидетельствует хорошей линейности предлагаемой методики [2].

Определение сходимости. Сходимость результатов определения по разработанной методике устанавливали по величине RSD, которую определяли по 18 результатам определения «Фенигаммы», полученным в ходе установления линейности методики. Результаты расчета RSD приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Определение сходимости результатов количественного определения «Фенигаммы» методом УФ-спектрофотометрии

Найдено «Фенигаммы», %			Расчет RSD
99,08	97,97	97,85	$n = 18; \bar{X} = 98,33\%;$ $\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 = (3,512)^2 = 12,33$ $SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{12,33}{18-1}} = 0,7252$ $RSD = \frac{SD}{\bar{X}} \cdot 100\% = \frac{0,7252}{98,33} \cdot 100 = 0,74\%$
98,30	98,25	98,32	
99,07	98,19	98,15	
97,68	98,47	99,05	
98,12	98,38	98,17	
97,98	99,18	98,28	

Как следует из результатов таблицы, значение RSD равно 0,74%, что не превышает предельного критерия, установленного ICH (1%). Таким образом, предлагаемая

методика характеризуется удовлетворительной сходимостью результатов определения (RSD).

Выводы

Разработана и валидирована методика количественного определения «Фенигаммы» методом УФ-спектрофотометрии, среднее содержание составило 98,91%, методика валидна по показателям сходимости и линейности.

Библиографический список

1. Боровский Б.В. Изучение физико-химических свойств, разработка методик анализа и стандартизация 4-амино-3-(пиридил-3)-бутановой кислоты дигидрохлорида: Автореф. дис. канд. фармацев. наук. – Пятигорск, 2011. – 24 с.
2. Государственная фармакопея РФ. Методы анализа. ОФС/ Минздравсоцразвития. – 12-е изд., доп. – М.: Медицина, 2008. – Вып. 1. – С. 56–61.

* * *

Боровский Борис Владимирович – кандидат фармацевтических наук, преподаватель кафедры физической и коллоидной химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов: разработка методик фармацевтического анализа и стандартизация производных ГАМК, адсорбция ПАВ на разделе фаз. E-mail: boryusikxxl@rambler.ru

Шабардина Дарья Сергеевна – студентка IV курса Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России.