

УДК 543.422.3:54-145.2:615.281.8

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТРИАЗАВИРИНА В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ

Кинев М.Ю., Мельникова О.А., Петров А.Ю., Забояркина Д.В.

Уральский государственный медицинский университет, г. Екатеринбург

ООО «Уральский центр биофармацевтических технологий» – резидент фонда «Сколково», г. Екатеринбург

РЕЗЮМЕ

Авторами статьи разработаны методики количественного определения триазавирина в водных растворах с использованием метода спектрофотометрии. Задействованы три варианта метода спектрофотометрии: прямая спектрофотометрия, спектрофотометрия по А.М. Фирордту, спектрофотометрия с использованием стандартного раствора. Для всех методик проведен расчет метрологических характеристик. Разработанные методики количественного определения оказались применимы для практического использования в фармацевтическом анализе.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: триазавирин, спектрофотометрия, метод Фирордта, количественное определение.

Введение

Метод спектрофотометрии находит широкое применение в фармацевтическом анализе, как для идентификации и определения примесей, так и для количественного определения лекарственных средств. Основными достоинствами данного метода являются: относительная простота эксперимента, специфичность, использование сравнительно небольшого количества вещества [1], достаточная чувствительность и информативность [2]. Помимо стандартного способа определения количественного содержания в водных растворах, к числу наиболее распространенных способов определения концентрации основного вещества в растворе относится метод Фирордта, который позволяет определить концентрацию исследуемого вещества без информации о коэффициентах удельного поглощения компонентов раствора.

Цель исследования – разработать методику количественного определения триазавирина в водных растворах с применением метода обычной спектрофотометрии, спектрофотометрии с использованием стандартного раствора и метода Фирордта с предположением о линейном характере поглощения.

Материал и методы

В работе использовались фармацевтическая субстанция триазавирина (ФС 000279-141211), вода очищенная (ФС 42-2619-97), спектрофотометр СФ-2000 (диапазон спектра от 190 до 1100 нм) с кюветами, дающими толщину слоя 1 см, аналитические весы, электронные весы. Разработка методики количественного определения триазавирина в водных растворах с использованием метода спектрофотометрии проводилась на базе кафедры фармации Уральского государственного медицинского университета (г. Екатеринбург). Аппроксимацию оптической плотности и подбор аналитических длин волн осуществляли с помощью метода наименьших квадратов.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием программы Microsoft Office Excel 2007 на основании ГФ XI (вып. 1, с. 199). Для каждой методики количественного определения проведен расчет следующих метрологических характеристик: среднее арифметическое, выборочная дисперсия, стандартное отклонение (средняя квадратичная ошибка отдельного определения), стандартное отклонение среднего результата (среднее квадратичная ошибка среднего арифметического), доверительный интервал среднего значения (точность прямого измерения), достоверность (правильность), относительная ошибка опы-

✉ Кинев Михаил Юрьевич, тел. 8 (343) 214-85-23, 8-963-031-55-45; e-mail: mkinev2009@yandex.ru

та (относительное стандартное отклонение), интервальное значение определяемой величины (граничные значения доверительного интервала среднего значения).

Методика приготовления исследуемого раствора: навеску фармацевтической субстанции триазавирина массой 0,25 г (точная навеска) помещают в мерную колбу на 25 мл, доводят очищенной водой до метки и тщательно перемешивают в течение 10 мин (раствор А), 1 мл раствора А помещают в мерную колбу на 250 мл. и доводят водой до метки и перемешивают (испытуемый раствор).

Результаты и обсуждение

На рисунках представлены ультрафиолетовый спектр исследуемого водного раствора триазавирина (рис. 1) и ультрафиолетовый спектр исследуемого и стандартного растворов триазавирина (рис. 2), снятый на спектрофотометре СФ-2000 в диапазоне от 190 до 450 нм в кювете с толщиной слоя 1 см.

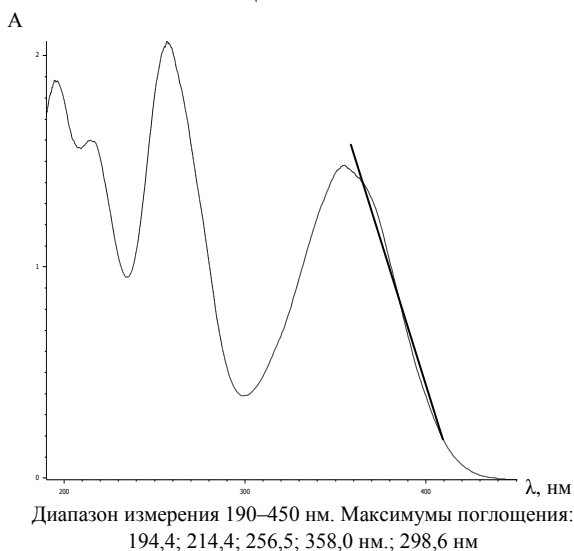


Рис. 1. УФ-спектр исследуемого раствора

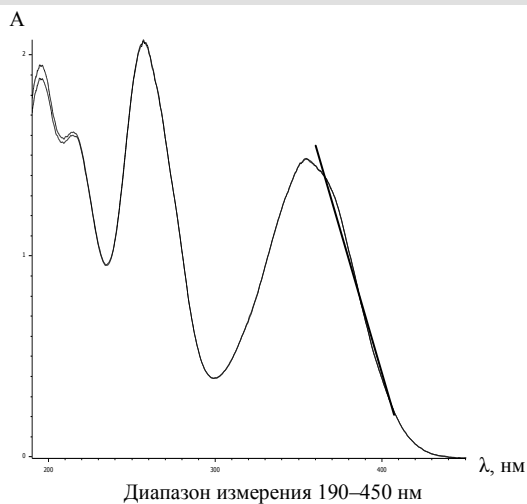


Рис. 2. УФ-спектр исследуемого и стандартного растворов

Первым способом определяем содержание триазавирина методом прямой спектрофотометрии. Для этого измеряем оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре СФ-2000 в максимуме поглощения при длине волны 358 нм в кювете с толщиной слоя 1 см. Приготовление исследуемого раствора описано в разделе статьи «Материал и методы».

Раствор сравнения – вода.

Содержание $C_5H_7N_6NaO_5S$ (триазавирина) в 1 мл испытуемого раствора в граммах (X) вычисляют по формуле:

$$X = A_X \cdot 0,01 \cdot 25 \cdot 250 / A_{1\%1\text{см}} \cdot a \cdot a_1 \cdot 100,$$

где A_X – оптическая плотность испытуемого раствора; 0,01 – содержание в 1 мл раствора теоретическое, г; 25 – объем мерной колбы 1 для разведения, мл; 250 – объем мерной колбы 2 для разведения, мл; $A_{1\%1\text{см}}$ – удельный показатель поглощения триазавирина при 358 нм, равный 404,55; a – навеска образца, г; a_1 – объем аликвоты, мл.

Содержание $C_5H_7N_6NaO_5S$ (триазавирина) в 1 мл испытуемого раствора должно быть 0,01 г.

Результаты количественного определения триазавирина в водных растворах с использованием метода спектрофотометрии представлены в табл. 1.

Вторым способом определяем содержание триазавирина методом прямой спектрофотометрии с использованием стандартного раствора. Для этого измеряем оптическую плотность испытуемого и стандартного раствора на спектрофотометре СФ-2000 в максимуме поглощения при длине волны 358 нм в кювете с толщиной слоя 1 см. Приготовление исследуемого раствора описано в разделе статьи «Материал и методы».

Раствор сравнения – вода.

Приготовление стандартного раствора осуществлялось следующим образом.

Около 0,25 г (точная навеска) фармацевтической субстанции триазавирина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 20 мл воды очищенной, перемешивают, доводят этим же растворителем до метки и перемешивают (раствор А), 1 мл аликвоты (раствор А) помещают в мерную колбу на 250 мл, доводят водой до метки и перемешивают (стандартный раствор).

Содержание $C_5H_7N_6NaO_5S$ в 1 мл исследуемого раствора в граммах (X) вычисляют по формуле:

$$X = A_1 a_2 \cdot 0,01 / A_2 a_1,$$

где A_1 – оптическая плотность исследуемого раствора; A_2 – оптическая плотность раствора РСО; a_1 – навеска фармацевтической субстанции триазавирина взятая для приготовления исследуемого раствора, г; a_2 – на-

веска фармацевтической субстанции триазавирина взятая для приготовления раствора РСО, г; 0,01 – содержание триазавирина в 1 мл препарата теоретическое, г.

Содержание $C_5H_7N_6NaO_5S$ (триазавирина) в 1 мл исследуемого раствора должно быть 0,01 г.

Результаты количественного определения триазавирина в водных растворах (с использованием стандартного раствора) с применением метода спектрофотометрии представлены в табл. 2.

Третьим способом исследуем данную систему методом Фирордта с использованием стандартного раствора. Для этого выбираем область участка, на которой кривая имеет линейную зависимость.

На рис. 1 и 2 данная область изображена жирной линией.

Среднеквадратичная ошибка отклонения спектра поглощения от линейной зависимости равна 0,0024. Установлено, что в области длин волн от 340 до 400 нм спектр поглощения имеет приближенно линейный вид.

Таким образом, в данной области спектра можно использовать метод Фирордта. Аналитические длины волн ($\lambda_1 = 353$ нм, $\lambda_2 = 358$, $\lambda_3 = 363$ нм) для данного метода в области от 340 до 400 нм можно подбирать так, чтобы расчетные концентрации совпадали с концентрациями, полученными методом прямой спектрофотометрии.

Таблица 1

Результаты количественного определения триазавирина в водных растворах с использованием метода спектрофотометрии при длине волны 358 нм в кювете с толщиной слоя 1 см				
Навеска триазавирина, г	Оптическая плотность исследуемого раствора	Найденное содержание, г/мл	Среднее содержание, г/мл	Метрологические характеристики
0,2510	1,43316	0,008821	0,008821	$x = 0,0088475$ г/мл $S^2 = 0,000000000435$ $S = 0,000020857$ $\bar{Sx} = 0,000010428$ $D\bar{x} = 0,000033162$ $\Delta = 0,0011525$ $\varepsilon = 0,37\%$ $x \pm D\bar{x} = 0,0088475 \pm 0,000033162$
	1,42768	0,008787		
	1,43690	0,008844		
	1,43493	0,008832		
0,2516	1,44260	0,008858	0,008849	
	1,43775	0,008828		
	1,44110	0,008849		
	1,44302	0,008861		
0,2505	1,43690	0,008862	0,008872	
	1,44260	0,008897		
	1,43690	0,008862		
	1,43775	0,008867		
0,2510	1,43493	0,008832	0,008848	
	1,44260	0,008879		
	1,43493	0,008832		
	1,43775	0,008849		

Таблица 2

Результаты количественного определения триазавирина в водных растворах (с использованием стандартного раствора) с применением метода спектрофотометрии при длине волны 358 нм в кювете с толщиной слоя 1 см						
Навеска триазавирина, г	Оптическая плотность исследуемого раствора	Навеска РСО триазавирина, г	Оптическая плотность стандартного раствора	Найденное содержание, г/мл	Среднее содержание, г/мл	Метрологические характеристики
0,2510	1,43170	0,2515	1,45129	0,009885	0,009883	$x = 0,0098685$ г/мл $S^2 = 0,00000000021167$ $S = 0,0000145489$ $\bar{Sx} = 0,00000727445$ $D\bar{x} = 0,0000231327$ $\Delta = 0,0001315$ $\varepsilon = 0,14\%$ $x \pm D\bar{x} = 0,0098685 \pm 0,0000231327$
	1,43426		1,45277	0,009892		
	1,43316		1,45650	0,009859		
	1,43991		1,45817	0,009894		
0,2512	1,43998	0,2518	1,46114	0,009879	0,009867	
	1,44027		1,46228	0,009873		
	1,43403		1,45726	0,009864		
	1,43204		1,45709	0,009852		
0,2505	1,43291	0,2511	1,45283	0,009887	0,009875	
	1,42582		1,45228	0,009842		
	1,43215		1,45564	0,009862		
	1,43510		1,45156	0,009910		
0,2510	1,43100	0,2513	1,46021	0,009812	0,009849	
	1,44012		1,45786	0,009890		
	1,42958		1,45768	0,009819		
	1,43652		1,45645	0,009875		

Таблица 3

Результаты количественного определения триазавирина в водных растворах с использованием метода Фирордта									
Масса навески, г	Оптическая плотность исследуемого раствора			Масса навески РСО	Оптическая плотность стандартного раствора			Найденное содержание, г/мл	Метрологические характеристики
	$\lambda_1 = 353$ нм	$\lambda_2 = 358$ нм	$\lambda_3 = 363$ нм		$\lambda_1 = 353$ нм	$\lambda_2 = 358$ нм	$\lambda_3 = 363$ нм		
0,2510	1,44523	1,4317	1,38801	0,2515	1,42184	1,45129	1,40851	0,010988	$x = 0,010402$ г/мл
0,2510	1,42703	1,43426	1,38829	0,2515	1,44727	1,45277	1,41193	0,011503	$S^2 = 0,000001453735$
0,2510	1,42709	1,43316	1,39647	0,2515	1,45120	1,45650	1,41813	0,009811	$S = 0,001205709$
0,2510	1,43072	1,43991	1,40296	0,2515	1,45455	1,45817	1,42062	0,011229	$Sx = 0,0003812787$
0,2512	1,43695	1,43998	1,40317	0,2518	1,45888	1,46114	1,41899	0,008988	$Dx = 0,0008624524$
0,2512	1,42722	1,44027	1,39614	0,2518	1,45514	1,46228	1,42224	0,012148	$\Delta = 0,000402$
0,2512	1,43204	1,43403	1,38860	0,2518	1,44962	1,45726	1,41408	0,009353	$\varepsilon = 8,29\%$
0,2505	1,41719	1,42582	1,37924	0,2511	1,44735	1,45228	1,40849	0,011086	$x \pm Dx =$
0,2505	1,42664	1,43291	1,39073	0,2511	1,44733	1,45283	1,41199	0,010480	$= 0,0098685 \pm 0,0008624524$
0,2512	1,42597	1,43204	1,39535	0,2518	1,44945	1,45709	1,41391	0,0084341	

В табл. 3 представлены результаты измерений содержания триазавирина в водных растворах с использованием метода Фирордта.

Содержание $C_5H_7N_6NaO_5S$ в 1 мл исследуемого раствора в граммах (X) по методу Фирордта вычисляются по формулам:

$$n = \frac{I_3 - I_2}{I_3 - I_1},$$

где $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$ – длина волны 353, 358, 363 нм соответственно;

$$A = A^{I_2} - n \Gamma A^{I_1^{min}} - (1 - n) \Gamma A^{I_3^{max}},$$

где $A^{\lambda_1}, A^{\lambda_2}, A^{\lambda_3}$ – оптическая плотность исследуемого раствора при длине волны 353, 358, 363 нм соответственно; n – коэффициент;

$$A_{ст} = A_{ст}^{I_2} - n \Gamma A_{ст}^{I_1^{min}} - (1 - n) \Gamma A_{ст}^{I_3^{max}},$$

где $A_{ст}^{\lambda_1}, A_{ст}^{\lambda_2}, A_{ст}^{\lambda_3}$ – оптическая плотность стандартного раствора при длине волны 358, 353, 363 нм соответственно;

$$X = A_1 \cdot a_2 \cdot 0,01 / A_2 \cdot a_1,$$

где A_1 – оптическая плотность исследуемого раствора; A_2 – оптическая плотность раствора РСО; a_1 – навеска фармацевтической субстанции триазавирина взятая для приготовления исследуемого раствора, г; a_2 – на-

веска фармацевтической субстанции триазавирина взятая для приготовления раствора РСО, г; 0,01 – содержание триазавирина в 1 мл препарата теоретическое, г.

Содержание $C_5H_7N_6NaO_5S$ (триазавирина) в 1 мл исследуемого раствора должно быть 0,01 г.

Заключение

Разработаны методики количественного определения триазавирина в водных растворах с использованием метода спектрофотометрии (прямая спектрофотометрия, спектрофотометрия по А.М. Фирордту, спектрофотометрия с использованием стандартного раствора). Относительная ошибка количественного определения составила 0,37; 0,14 и 8,29% соответственно для прямой спектрофотометрии, спектрофотометрии с использованием стандартного раствора, спектрофотометрии по А.М. Фирордту.

Литература

1. Блинникова А.А. Спектрофотометрия и фотоэлектроколориметрия в анализе лекарственных средств: учебное пособие. Томск, 2005. 96 с.
2. Дубкова Н.С., Мельникова О.А., Петров А.Ю. Изучение межмолекулярного взаимодействия в системе триазавирин – лимонная кислота спектрофотометрическим методом // Вестник магистратуры. 2013. № 2 (17). С. 4–6.

Поступила в редакцию 30.01.2014 г.

Утверждена к печати 07.05.2014 г.

Кинев Михаил Юрьевич (✉) – ст. преподаватель кафедры фармации УГМУ (г. Екатеринбург)

Мельникова Ольга Александровна – д-р фарм. наук, доцент кафедры фармации УГМУ (г. Екатеринбург).

Петров Александр Юрьевич – д-р фарм. наук, зав. кафедрой фармации УГМУ, ведущий науч. сотрудник ООО «УЦБТ» (г. Екатеринбург).

Забояркина Дарья Владимировна – студентка 5-го курса фармацевтического факультета УГМУ (г. Екатеринбург).

✉ Кинев Михаил Юрьевич, тел. 8 (343) 214-85-23, 8-963-031-55-45; e-mail: mkinev2009@yandex.ru

DEVELOPMENT OF THE TECHNIQUE OF QUANTITATIVE DEFINITION OF TRIAZAVIRIN IN WATER SOLUTIONS WITH USE OF THE SPECTROPHOTOMETRY METHOD

Kinev M.Yu., Melnikova O.A., Petrov A.Yu., Zaboyarkina D.V.

Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russian Federation

JSC "Ural's Centrum of biofarmaceutical technology", Yekaterinburg, Russian Federation

ABSTRACT

Authors of article developed techniques of quantitative definition Triazavirin in water solutions with use of a method of a spectrophotometry. Three options of a method of a s spectrophotometry are used: direct spectrophotometry, spectrophotometry according to A.M. Firordt, a spectrophotometry with use of standard solution. For all techniques calculation of metrological characteristics is carried out. The developed techniques of quantitative definition were applicable for practical use in the pharmaceutical analysis. The relative error of quantitative definition Triazavirin in water solutions made 0.37%, 0.14% and 8.29% respectively for a direct spectrophotometry, a spectrophotometry with use of standard solution, a spectrophotometry according to A.M. Firordt.

KEY WORDS: Triazavirin, spectrophotometry, Firordt's method, quantitative definition.

Bulletin of Siberian Medicine, 2014, vol. 13, no. 3, pp. 132–136

References

1. Blinnikova A.A. *Spektrofotometriya and photoelectrocolorimetry in the analysis of medicines: Manual*. Tomsk, 2005. 96 p. (in Russian).
2. Dubkova N.S., Melnikov O.A., Petrov A.Yu. Studying of intermolecular interaction in system триазавирин – lemon acid spektrofotometrichesky the method. *Messenger of a magistracy*, 2013, no. 2 (17), pp. 4–6 (in Russian).

Kinev Mikhail Yu. (✉), Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russian Federation.

Melnikova Olga A., Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russian Federation.

Petrov Aleksandr Yu., Ural State Medical University; JSC "Ural's Centrum of biofarmaceutical technology", Yekaterinburg, Russian Federation.

Zaboyarkina Dar'ya V., Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russian Federation.

✉ **Kinev Mikhail Yu.**, Ph. +7 (343) 214-85-23; +7-963-031-55-45; e-mail: mkinev2009@yandex.ru