



УДК 543.544.943.3.068.7:615.07

А.М. Лазицкая¹, Н.В. Чмелевская¹, Е.А. Илларионова²

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ БРОМДИГИДРОХЛОРФЕНИЛБЕНЗОДИАЗЕПИНА

¹Иркутское областное бюро судебно-медицинской экспертизы,
664022, бул. Гагарина, 4, тел. 8-(3952)-24-37-67;

²Иркутский государственный медицинский университет,
664003, ул. Красного Восстания, 1, тел. 8-(3952)-24-08-26, г. Иркутск

Резюме

Разработана унифицированная методика спектрофотометрического определения бромдигидрохлорфенилбензодиазепаина в субстанции и таблетках, отличающаяся использованием в качестве образца сравнения метилового красного. Обоснованы оптимальные условия определения: выбор раствора сравнения, растворитель – 0,1 М раствор хлористоводородной кислоты, аналитическая длина волны – 290 нм. Определен коэффициент пересчета. Относительное стандартное отклонение разработанной методики для субстанции составило не более 0,003, для таблеток не более 0,008.

Ключевые слова: бромдигидрохлорфенилбензодиазепин, УФ-спектр, спектрофотометрическое определение, оптический образец сравнения, коэффициент пересчета, метиловый красный.

A.M. Lazitskaya¹, N.V. Chmelevskaya¹, E.A. Illarionova²

SPECTROPHOTOMETRIC ANALYSIS OF BROMDIGIDROHLORFENILBENZODIAZEPIN

¹Irkutsk regional agency judicial-medical expert operation;

²Irkutsk State Medical University, Irkutsk

Summary

The unified technique of spektrofotometrichesky definition of a bromdigidrohlorfenilbenzodiazepin in substance and tablets differing in use as an example of methyl red comparison is developed. Optimum conditions of definition are proved: a comparison solution choice, solvent – 0,1 M hydrochloric acid solution, analytical wavelength – 290 nm. The recalculation coefficient is defined. The relative standard deviation of the developed technique for substance made no more than 0,003, for tablets no more than 0,008.

Key words: bromdigidrohlorfenilbenzodiazepin, UV spectrum, spectrophotometric determination, optical reference sample, conversion factor, methyl red.

Широкое применение в медицинской практике в качестве анксиолитического средства находит бромдигидрохлорфенилбензодиазепин (I) [6]. Существующие методы оценки качества I в субстанции и таблетках не соответствуют современным требованиям [3, 7]. Они имеют ряд недостатков: трудоемкость, длительность выполнения, применение токсичных органических растворителей, дорогостоящих реактивов. Это свидетельствует о том, что проблема совершенствования существующих и разработка новых методов анализа I является актуальной. Перспективно использование нового варианта спектрофотометрического метода, осно-

ванного на применении оптических образцов сравнения. Использование этого метода позволит выполнять количественное определение препарата в субстанции и лекарственных формах одним и тем же методом, повысить воспроизводимость результатов определения, уменьшить трудоемкость, стоимость, токсичность и погрешность анализа.

Целью настоящего исследования является разработка новой методики количественного определения I спектрофотометрическим методом с использованием оптического образца сравнения.

Материалы и методы

В работе использовали фармацевтическую субстанцию I и таблетки I по 0,001 г, отвечающие требованиям нормативных документов [3, 7], метиловый красный квалификации «х.ч.», 0,1 М раствор натрия гидроксида, приготовленный из фиксанала, 0,1 М раствор хлористоводородной кислоты, приготовленный из фиксанала, воду очищенную. Оптическую плотность растворов измеряли на спектрофотометре СФ-

2000 в кюветках 1 см на фоне растворителя. Величину рН контролировали с помощью универсального ионометра ИТ-1101.

При статистической обработке результатов анализа использовали методы Стьюдента и Фишера [1]. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез $p=0,05$.

Результаты и обсуждение

Для оптимизации условий спектрофотометрического определения I был изучен спектр поглощения в интервале рН 1,1-13,0 в диапазоне длин волн 220-400 нм. Спектр поглощения I в интервале рН от 10-13,0 характеризуется двумя полосами с максимумами поглощения при длинах волн 230 ± 4 нм и 342 ± 4 нм. При уменьшении кислотности среды (рН 1,1) наблюдается увеличение интенсивности поглощения вещества с одновременным bathochromным смещением максимума поглощения. Спектр поглощения в этом случае имеет два максимума при 245 ± 1 нм и 290 ± 2 нм.

Изучение стабильности растворов I показало, что наиболее устойчив раствор I с рН 1,1. Поэтому в качестве оптимального растворителя для спектрофотометрического определения I нами был выбран 0,1 М раствор хлористоводородной кислоты (рН 1,1).

Для количественного определения I в субстанции спектрофотометрическим методом необходимо выбрать образец сравнения. Выбор оптических образцов сравнения осуществляли исходя из аналитической длины волны лекарственного вещества, оптимального растворителя и оптимальной области поглощения образца сравнения [4, 5].

В качестве оптического образца сравнения для определения I использовали вещество органической природы метиловый красный. Метиловый красный выпускаются серийно промышленностью квалификации хч, на него имеется ТУ (ТУ 6-09-5169-84), регламентирующий его качество, он доступен, имеет низкую стоимость, содержание в нем основного вещества определено химическим методом и составляет не менее 99,9 %.

Спектры поглощения растворов метилового красного в интервале рН 1,1 характеризуются двумя полосами с максимумами поглощения при 290 ± 1 нм и 515 ± 5 нм [2].

Аналитическая длина волны I (290 нм) входит в интервал оптимальный для метилового красного (280-300 нм), поэтому метиловый красный может быть предложен в качестве оптического образца сравнения для спектрофотометрического определения I. Следует отметить, что у метилового красного и I совпадают максимумы поглощения 290 ± 1 нм. Следовательно, можно предположить, что погрешность анализа I при отмеченных выше оптимальных условиях не будет превышать допустимую.

Значения удельных показателей поглощения исследуемого вещества и оптического образца сравнения различаются, поэтому для учета данных факторов в формулу расчета результатов количественного определения I необходимо ввести коэффициент пересчета,

который представляет собой отношение удельного показателя поглощения оптического образца сравнения и удельного показателя поглощения рабочего образца сравнения. Результаты определения коэффициента пересчета для спектрофотометрического анализа I по метиловому красному приведены в таблице 1.

Таблица 1

Результаты определения коэффициента пересчета бромдигидрохлорфенилбензодиазепина по метиловому красному

Метрологические характеристики (n=10, P=95 %)						
K	S ²	S	S $\bar{X}$	DX	E %	S _r
1,0999	0,0828	0,2871	0,0910	0,2056	0,21	0,003

Разработанные оптимальные условия спектрофотометрического определения I были использованы для количественного определения субстанции и таблеток данного препарата. Результаты количественного определения I в субстанции и таблетках приведены в таблице 2.

Таблица 2

Результаты спектрофотометрического определения феназепама в субстанции по оптическому образцу сравнения метиловому красному

Метрологические характеристики (n=10, P=95%)						
Субстанция бромдигидрохлорфенилбензодиазепина						
$\bar{X}$	S ²	S	S $\bar{X}$	ΔX	E%	S _r
99,91	0,0922	0,3037	0,0960	0,2170	0,22	0,003
Таблетки бромдигидрохлорфенилбензодиазепина по 0,001 г						
108,70	0,8424	0,9178	0,3469	0,8326	0,77	0,008
108,90	0,5774	0,7599	0,2872	0,6893	0,63	0,007
108,72	0,1564	0,3955	0,1495	0,3588	0,33	0,004

Из представленных в таблице 2 данных следует, что спектрофотометрическое определение I в субстанции и таблетках по оптическому образцу сравнения метиловому красному соответствует нормативным требованиям. Относительная ошибка определения не превышает 0,22 % для субстанции и 0,77 % для таблеток. Методика спектрофотометрического определения с использованием оптического образца сравнения характеризуется хорошей воспроизводимостью (S_r не превышает 0,008). В таблице 3 представлены результаты сравнительной оценки методов количественного определения I по разработанной методике и методике нормативного документа [3]. Видно, что метод спектрофотометрического определения I по метиловому

красному и метод нормативного документа дают правильные результаты ($t_{\text{выч.}} < t_{\text{табл.}}$) и не различаются по воспроизводимости ($F_{\text{выч.}} < F_{\text{табл.}}$). Однако методика нормативного документа не является правильной, так как имеет систематическую погрешность ($t_{\text{выч.}} > t_{\text{табл.}}$), уступает спектрофотометрическому методу по продолжительности анализа и требует использования токсичных и летучих растворителей (ледяная уксусная кислота, уксусный ангидрид).

Таблица 3

Сравнительная оценка методов количественного определения I ($n=9$, $t(P, f)_{(\text{табл.})}=2,26$; $P=95\%$; $F(P, f_1, f_2)_{(\text{табл.})}=5,47$; $P=99\%$)

Наименование метода	μ	$\bar{X}, \%$	S^2	S	$E, \%$	$t_{\text{выч.}}$	$F_{\text{выч.}}$	Продолжительность анализа, мин.	Число операций
Ацидметрия в ледяной уксусной кислоте	100	98,50	0,25	0,5	0,69	8,49	2,78	40	6
Спектрофотометрия по метиловому красному	100	99,96	0,09	0,3	0,27	0,39		25	6

Валидационную оценку разработанной методики спектрометрического определения бромдигидрохлорфенилбензодиазепина с использованием оптического образца сравнения метилового красного проводили по критериям: специфичность, правильность, прецизионность, линейность результатов, аналитическая область методики. Результаты, представленные в таблице 4, свидетельствуют о пригодности предложенной методики.

Таблица 4

Результаты валидационной оценки методики спектрофотометрического определения бромдигидрохлорфенилбензодиазепина

Параметры	Критерии валидности	Результаты испытания
Специфичность		Специфична
Правильность	$t_{\text{выч.}} < t_{\text{табл.}}$	$t_{\text{выч.}}=0,39$, ($t_{\text{табл.}}=2,36$), $n=9$
Прецизионность	$RSD < 2\%$	0,30 %
Линейность результатов	$r \geq 0,999$	$r=0,9990$; $y=0,2683 \cdot x - 0,2273$
Аналитическая область методики	интервал концентраций	0,008-0,012 г/мл

Разработанная методика спектрофотометрического определения бромдигидрохлорфенилбензодиазепина по оптическому образцу сравнения метиловому красному отличается доступностью, экспрессностью, высокой воспроизводимостью, отсутствием высокотоксичных реактивов.

Литература

1. Государственная Фармакопея. – Т. 1. – 13-е. изд. – 2015. – 1470 с.
2. Илларионов А.И., Чмелевская Н.В., Илларионова Е.А., Сыроватский И.П. Количественное определение натриевой соли 4-(никотиноиламино) масляной кислоты спектрофотометрическим методом // Известия высших учебных заведений. Физика. – 2011. – № 2. – С. 174-179.
3. Нормативный документ 42-14110-06. Феназепам. – 5 с.
4. Теплых А.Н., Илларионова Е.А. Количественное определение метронидазола спектрофотометриче-

- ским методом // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2009. – Т. 88, № 5. – С. 48-50.
5. Теплых А.Н., Илларионова Е.А. Количественное определение тинидазола спектрофотометрическим методом // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2010. – Т. 99, № 8. – С. 64-66.
6. Регистр лекарственных средств России. – 19-е изд., перераб., испр. и доп. – М.: РЛС-МЕДИА, 2010. – 1368 с.
7. Фармакопейная статья предприятия ОАО «Валента Фармацевтика» № 42-5293-08 Таблетки феназепама по 0,5 мг, 1 мг и 2,5 мг.

Literature

1. State Pharmacopoeia. – Vol. 1. – 13 ed. – 2015. – 1470 p.
2. Illarionov A.I., Chmelevskaya N.V., Illarionova E.A., Syrovatskii I.P. Quantitative determination of sodium salt of 4-(nicotinoyl amino) butyric acid by spectrophotometric method // News of Higher Educational Establishments. Physics. – 2011. – № 2. – P. 174-179.
3. Normative document 42-14110-06. Phenazepam. – M., 2006. – 5 p.
4. Teplykh A.N., Illarionova E.A. Quantitative definition of Metronidazole by spectrophotometrical method //

- Siberian Medical Journal (Irkutsk). – 2009. – Vol. 88 (№ 5). – P. 48-50.
5. Teplykh A.N., Illarionova E.A. Quantitative definition of Tinidazole by spectrophotometrical method // Siberian Medical Journal (Irkutsk). – 2010. – Vol. 99 (№ 8). – P. 64-66.
6. Register of Medicines of Russia. – 19 ed., Revised and updated. – Moscow: RLS-MEDIA 2010. – 1368 p.
7. Pharmacopoeial monograph of the JSC «Valenta Pharmaceuticals» No. 42-5293-08 Tablets of phenazepam 0,5 mg, 1 mg and 2,5 mg.

Координаты для связи с авторами: Лазичка Анна Марковна – аспирант, врач судебно-медицинский эксперт ГБУЗ МЗ «Иркутское областное бюро судебно-медицинской экспертизы», тел. 8-(3952)-22-93-90, e-mail: anlaz2005@yandex.ru; Чмелевская Наталья Владимировна – канд. фарм. наук, зав. судебно-химическим отделением ГБУЗ МЗ «Иркутское областное бюро судебно-медицинской экспертизы», тел. 8-(3952)-22-93-90, e-mail: Illelena24@rambler.ru; Илларионова Елена Анатольевна – д-р хим. наук, профессор, зав. кафедрой фармацевтической и токсикологической химии ИрГМУ, тел. +7-914-876-09-23, e-mail: Illelena24@rambler.ru.