

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ НАТРИЯ ПАРА-АМИНОСАЛИЦИЛАТА В ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЕ С ТИЗОЛЕМ

Терентьева Н.Е., Илиев К.И., Кобелева Т.А., Сичко А.И.

ГБОУ ВПО «Тюменская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Тюмень, Россия (625023, Тюмень, ул. Одесская, 54), e-mail:kobeleva@tyumsma.ru

Приведены результаты исследований по установлению оптимальных условий анализа новой лекарственной формы «Пасказоль», изготовленной на основе протекторного, обладающего противомикробным действием геля «Тизоль», обеспечивающего ее стерильность и длительный срок хранения. Предложен высокочувствительный (открываемый минимум составляет 0,617 мкг/мл) спектрофотометрический метод, позволяющий анализировать натрия пара-аминосалицилат при длине волны 300 нм с относительной ошибкой $\pm 1,43$ %. Приведены методики количественного определения фармакологически активного вещества в мази «Пасказоль» способом калибровочного графика и сравнения со стандартом. В качестве объемного метода предложено нитритометрическое титрование, позволяющее количественно определять натрия пара-аминосалицилат в лекарственной форме с относительной погрешностью $\pm 1,10$ %. Разработанные способы количественного определения натрия пара-аминосалицилата в «Пасказоли» найдут применение в работе контрольно-аналитических служб фармацевтических предприятий.

Ключевые слова: натрия пара-аминосалицилат, тизоль, фармацевтический анализ, спектрофотометрия, нитритометрия.

QUANTITATIVE DETERMINATION OF SODIUM PARA-AMINOSALICYLATE IN MEDICINAL FORMS WITH TIZOL

Terenteva N.E., Iliev K.I., Kobeleva T.A., Sichko A.I.

«TjumenStateMedicalAcademy» Ministry of Public Health of Russian Federation, Tjumen', Russia (625023, Tjumen', street Odesskaja, 54), e-mail: kobeleva@tyumsma.ru

Results of research on determination optimal conditions of analysis of new medical form "Paskazoli", made on the basis of gel "Tizoli", which provided its sterility and a long period of storage. It Is Offered highly sensitive (opened minimum forms 0,617 $\mu\text{g/ml}$) spectrophotometry method, allowing analyse the sodiumpara-aminosalicylate at wavelength 300 nm with percentage error $\pm 1,43$ %. The Broughtedmethodses of the quantitative determination pharmacological active material in unguent "Paskazoli" method calibre graphics and comparisons with standard. As three-dementional method is offered nitrite titration, allowing quantitative to define the sodium sodiumpara-aminosalicylate in medicinal form with relative inaccuracy $\pm 1,10$ %. The developed methods of quantitative determination sodiumpara-aminosalicylate in "Paskazoli" will find using in work checking-analytical services pharmaceutical enterprise.

Keywords: sodiumpara-aminosalicylate, tizol, pharmaceutical analysis, spectrophotometry, nitrite titration.

Новая лекарственная форма «Пасказоль» изготовлена на основе протекторного, противомикробного геля «Тизоль», обеспечивающего ее стерильность и длительный срок хранения [6]. Данную мазь предполагается применять в медицинской практике как противотуберкулезное средство при лечении детей. Она будет востребована при желудочно-кишечных расстройствах (рвота, тошнота, боли в животе), наблюдении аллергических реакций при приеме больших доз натрия пара-аминосалицилата внутрь [8, 9]. Поэтому актуальной целью является разработка способов анализа лекарственной формы, позволяющих устанавливать качество ее изготовления.

Материал и методы исследования. В исследованиях использовали мазь, содержащую натрия пара-аминосалицилата 0,5 г и тизоля 9,5 г. Для разработки взаимозаменяемых методик количественного определения натрия пара-аминосалицилата в лекарственной форме применяли физико-химический спектрофотометрический метод и объемное нитритометрическое титрование.

Результаты исследования и их обсуждение. Для разработки спектрофотометрического способа количественного определения лекарственного препарата в изучаемой прописи проводили математическую оценку чувствительности анализа натрия пара-аминосалицилата через открываемый минимум, который устанавливали по углу наклона калибровочного графика [1]. Для расчета чувствительности воспользовались теоремой о конечных превращениях Ж.Л. Лагранжа, согласно которой можно записать:

$$A(C_{\max}) - A(C_{\min}) = A(C_{\max} - C_{\min}).$$

Принимая во внимание, что оптическая плотность раствора зависит от концентрации в пределах отрезка $C_{\max} - C_{\min}$, после преобразований получили выражение: $C_{\min} = \frac{A_{\min}}{b}$, где b – угловой коэффициент, который находится по формуле $b = \frac{\sum x_i y_i}{\sum x_i^2}$.

Во избежание субъективного характера в определении чувствительности анализа при нахождении углового коэффициента использовали не сам график, а его аналитическое выражение. Исследования проводили с помощью спектрофотометра СФ-26 при $\lambda = 300$ нм.

Цифры, приведенные в таблице 1, свидетельствуют о том, что чувствительность анализа натрия пара-аминосалицилата, выраженная через открываемый минимум, равна 0,617мкг/мл при $A_{\min} = 0,02$. Следовательно, спектрофотометрию в УФ-области спектра можно использовать для количественного определения лекарственного препарата в мази.

Таблица 1

Результаты расчёта чувствительности анализа

x_i , МКГ/МЛ	y_i	$x_i y_i$	x_i^2	b	C , МКГ/МЛ
5	0,16	0,80	25,0	0,0324	0,617
10	0,33	3,30	100,0		
15	0,48	7,20	225,0		
20	0,65	13,00	400,0		
25	0,81	20,25	625,0		
$\sum x_i = 75,0$	$\sum y_i = 2,43$	$\sum x_i y_i = 44,55$	$\sum x_i^2 = 1375$		

По предварительным исследованиям установлено, что для измерения значений оптических плотностей оптимальной величиной служит длина волны 300 нм, при спектрофотометрировании раствора изучаемого объекта, необходимо отделять мазевую основу. По фармакопейной статье предприятия [9] тизоль образует мутные растворы с 95 % спиртом этиловым в соотношении от 1:1 до 1:3. Это соответствует малой или очень малой

растворимости по ОФС 42-00490-07 [2], поэтому лекарственное вещество, содержащееся в мази, растворяли в этаноле, получали фильтрат и проводили количественное определение. Концентрацию натрия пара-аминосалицилата находили способом калибровочного графика и сравнения со стандартом.

Для построения графика 0,03 г лекарственного препарата растворяли в 30 мл этанола (раствор А). Далее, к 2 мл полученного раствора прибавляли 18 мл этанола (раствор В). К 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 мл раствора В доливали этиловый спирт до получения общего объема жидкости 10 мл и измеряли оптические плотности стандартных растворов с помощью спектрофотометра при длине волны 300 нм ($l=10\text{мм}$). Раствором сравнения служил этанол. По полученным данным опытов строили калибровочный график в координатах: А-С, мкг/мл.

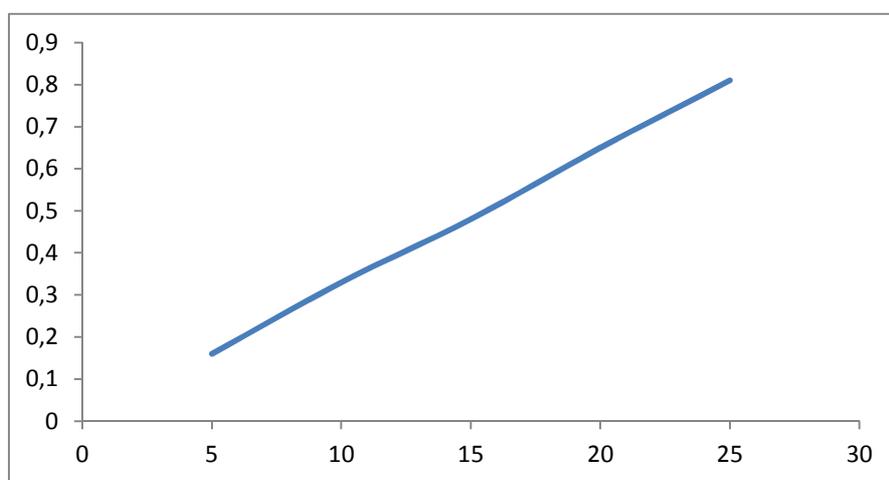


Рис 1. График зависимости оптической плотности от концентрации раствора натрия пара-аминосалицилата

Калибровочный график выражается прямой линией, проходящей через начало координат. Это свидетельствует о подчинении растворов натрия пара-аминосалицилата основному закону светопоглощения в пределах концентраций 1,0–25,0 мкг/мл. Прямая пропорциональная зависимость оптической плотности от содержания лекарственного препарата позволяет его анализировать спектрофотометрически в мягкой лекарственной форме.

Количественное определение натрия пара-аминосалицилата в субстанции проводили аналогично построению калибровочного графика, используя для фотометрирования конечную кратность разбавления растворов $V_1=10$ мл и $V_2 = 1,0$ мл.

Массовую долю натрия пара-аминосалицилата рассчитывали по формуле:

$$W(\text{преп}) = \frac{C(x) \cdot V_{\text{общ}} \cdot V_1 \cdot 100}{1 \cdot 10^6 \cdot a(\text{преп}) \cdot V_2}$$

где: $C(x)$ – масса лекарственного препарата, найденная по калибровочному графику, мкг/мл;

$V_{\text{общ}}$ – объем этанола, в котором растворена навеска препарата (30мл), мл;

V_1, V_2 – объемы пипеток при разбавлении;

$a(\text{преп})$ – навеска лекарственного препарата, г.

Для получения достоверных результатов анализа провели шесть параллельных опытов, измерили оптические плотности растворов натрия пара-аминосалицилата с концентрацией лекарственного препарата около 10 мкг/мл и полученные данные статистически обработали (табл. 2). Из таблицы видно, что относительная ошибка анализа составляет $\pm 1,44 \%$.

Таблица 2

Результаты спектрофотометрического анализа натрия пара-аминосалицилата

Взято, г	Найдено (w_i), %	$\bar{w} - w_i$	$(\bar{w} - w_i)^2$	Метрологические характеристики
0,03	101,00	-1,33	1,7689	$\bar{w} = 99,67 \%$ $S = 1,3663$ $S_{\bar{w}} = 0,5978$ $\epsilon_a = 1,43$ $\Delta = 99,67 \pm 1,43 \%$ $A = \pm 1,44 \%$
0,03	100,00	-0,33	0,1089	
0,03	98,00	1,67	2,7889	
0,03	100,00	-0,33	0,1089	
0,03	98,00	1,67	2,7889	
0,03	101,00	-1,33	1,7689	

Проведенные исследования позволили разработать способ количественного определения натрия пара-аминосалицилата в «Пасказоли». Методика: точную навеску мази (около 0,1 г) помещают в стаканчик, прибавляют 50 мл этанола (раствор А), перемешивают до получения дисперсной системы и фильтруют смесь через складчатый фильтр, отбрасывая первую порцию фильтрата. Далее, 5 мл полученного раствора А переносят в мерную колбу ёмкостью 25 мл, доводят объём колбы этанолом до метки (раствор В). К 5 мл раствора В прибавляют 5 мл этанола и измеряют оптическую плотность смеси с помощью спектрофотометра СФ-26 при длине волны 300 нм ($l = 10\text{мм}$). В качестве раствора сравнения используют этиловый спирт.

Массу и массовую долю лекарственного препарата в мази находят по формулам:

$$m(\text{преп}) = \frac{C(x) \cdot V_{\text{общ}} \cdot V_{\text{к}} \cdot V_1 \cdot P}{1 \cdot 10^6 \cdot a(\text{мази}) \cdot V_{\text{п}} \cdot V_2}, \quad W(\text{преп}) = \frac{C(x) \cdot V_{\text{общ}} \cdot V_{\text{к}} \cdot V_1 \cdot 100}{1 \cdot 10^6 \cdot a(\text{мази}) \cdot V_{\text{п}} \cdot V_2}$$

где: $a(\text{мази})$ – навеска мази, взятая на анализ, г;

P – масса лекарственной формы, г ;

$V_{\text{к}}, V_{\text{п}}$ – объем мерной колбы(25 мл) и пипетки (5 мл);

$V_{\text{общ}}$ – объем этанола, в котором растворена навеска мази (50 мл);

V_1, V_2 – объемы растворов при разведении (10мл и 5мл, соответственно).

Результаты анализа приведены в таблице 3.

Таблица 3

Результаты спектрофотометрического определения натрия пара-аминосалицилата
способом калибровочного графика

Навеска мази, г	Масса, мкг/мл	Найдено препарата, г	Отклонение, %	Допустимые нормы отклонений	
				%	г
0,1045	9,70	0,464	-7,2	±10%	0,450 - 0,550
0,1045	9,50	0,454	-9,2		
0,1045	9,80	0,468	-6,4		
0,1045	9,80	0,468	-6,4		

Для достоверности анализа осуществляли расчет концентраций лекарственного препарата способом сравнения со стандартом. При проведении анализа использовали исходный стандартный раствор, содержащий 0,001 г/мл лекарственного препарата. При исследовании натрия пара-аминосалицилата в мази брали 5 мл полученного раствора и поступали аналогично методике построения калибровочного графика. Массу лекарственного препарата в мкг/мл и массовую долю в процентах рассчитывали по формулам: $A(ст)/A(x) = m(ст)/m(x)$

$$m(преп) = \frac{A(x) \cdot m(ст) \cdot V_{общ} \cdot V_k \cdot V_1 \cdot P}{A(ст) \cdot 1 \cdot 10^6 \cdot a(мази) \cdot V_{п} \cdot V_2}, \quad W(преп) = \frac{A(x) \cdot m(ст) \cdot V_{общ} \cdot V_k \cdot V_1 \cdot 100}{A(ст) \cdot 1 \cdot 10^6 \cdot a(мази) \cdot V_{п} \cdot V_2}$$

где: m(ст) – масса стандарта в фотометрируемом растворе (10мкг/мл);

A(ст) – оптическая плотность стандартного раствора;

A(x) – оптическая плотность исследуемого раствора.

Результаты анализа натрия пара-аминосалицилата по стандарту приведены в таблице 4.

Таблица 4

Результаты анализа натрия пара-аминосалицилата способом сравнения со стандартом

Оптическая плотность, A(ст)	Оптическая плотность, A(x)	Масса, мкг/мл m(ст)	Масса, мкг/мл m(x)	Найдено препарата, г	Отклонение, %	Допустимые нормы отклонений	
						%	г
0,375	0,365	10,0	9,733	0,466	-6,8	±10%	0,450-0,550
0,375	0,360	10,0	9,600	0,459	-8,2		
0,375	0,370	10,0	9,867	0,472	-5,6		
0,375	0,370	10,0	9,867	0,472	-5,6		

Согласно полученным данным, приведенных в таблицах 3 и 4, содержание натрия пара-аминосалицилата в лекарственной форме «Пасказоль» находится в пределах 0,454–0,468 г при расчете способом калибровочного графика, 0,459–0,472 г – по сравнению со стандартом. Содержание соответствует допустимым отклонениям, представленным в приказе МЗ РФ от 16.10.1997г №305 «О нормах отклонений допустимых при изготовлении лекарственных средств и фасовке промышленной продукции в аптеках». Следовательно, спектрофотометрию, как современный физико-химический метод [4, 5], рационально применять для количественного определения натрия пара-аминосалицилата в мази с тизолом.

При разработке способа анализа натрия пара-аминосалицилата в мягкой лекарственной форме нитритометрическим титрованием учитывали его физические и химические свойства. По Государственной фармакопее СССР X издания [3] лекарственный препарат очень легко растворим в воде, этаноле и глицерине, практически нерастворим в эфире и хлороформе. Поэтому готовили искусственную смесь с точной концентрацией ингредиентов согласно прописи, заменяя основу тизоль на этанол: натрия пара-аминосалицилата 0,5 г и спирта этилового 95 % до 10,0.

Для проведения прямого нитритометрического титрования натрия пара-аминосалицилата готовили исходный 0,1 моль/л раствор нитрита натрия. При выполнении анализа точную массу лекарственного препарата (около 0,75 г) растворяли в 15 мл этанола. К 1 мл полученного раствора прибавляли 5–10 мл хлороводородной кислоты, 0,5 г бромида калия, 4 капли тропеолина 00, 2 капли метиленового синего, и полученную смесь медленно титровали из микробюретки раствором нитрита натрия по методике, приведенной в Государственной фармакопее Российской Федерации (ОФС 42-0054-07), до перехода окраски раствора из фиолетовой в сине-зелёную. Массовую долю лекарственного препарата в процентах находили по формуле:

$$W(\text{преп}) = \frac{t(\text{NaNO}_2/\text{преп}) \cdot V(\text{NaNO}_2) \cdot K(\text{NaNO}_2) \cdot V_{\text{общ}} \cdot 100}{a(\text{преп}) \cdot V_{\text{т}}}$$

где: $V_{\text{общ}}$ – объем раствора, в котором растворена навеска лекарственного препарата (15 мл);

$t(\text{NaNO}_2/\text{преп})$ – титр нитрита натрия по натрия пара- аминосалицилату (0,02112г/мл);

$V(\text{NaNO}_2)$ – объём нитрита натрия, мл;

$K(\text{NaNO}_2)$ – поправочный коэффициент к титрованному раствору;

$a(\text{преп})$ – навеска препарата, взятая на анализ, г;

$V_{\text{т}}$ – объем раствора, взятый на титрование (1 мл).

Таблица 5

Результаты нитритометрического анализа натрия пара-аминосалицилата

Взято, г	Найдено,		$\bar{w} - w_i$	$(\bar{w} - w_i)^2$	Метрологические характеристики
	г	%			
0,7489	0,7540	100,68	-0,76	0,5776	$\bar{w} = 99,92 \%$ $S = 1,0465$ $S_{\bar{w}} = 0,4272$ $\epsilon_{\alpha} = 1,0979$ $\Delta = 99,92 \pm 1,10 \%$ $A = \pm 1,10 \%$
0,7489	0,7502	100,18	-0,26	0,0676	
0,7489	0,7389	98,66	1,26	1,5876	
0,7489	0,7577	101,18	-1,26	1,5876	
0,7489	0,7502	100,18	-0,26	0,0676	
0,7489	0,7389	98,66	1,26	1,5876	

Для получения достоверных результатов предлагаемого способа анализа провели шесть параллельных титрований, и полученные данные статистически обработали (табл. 5). Из таблицы видно, что относительная ошибка количественного определения равна $\pm 1,10 \%$.

Это дает основание проводить прямое нитритометрическое титрование натрия пара-аминосалицилата в лекарственной форме «Пасказоль».

Тизоль растворяется в разбавленных растворах минеральных кислот и оснований, мало растворим в этаноле, поэтому натрия пара-аминосалицилат, содержащийся в мази, и основу растворяли в хлороводородной кислоте и титровали лекарственный препарат аналогично анализу его в растворе субстанции. Методика: около 0,5 г (точная масса) мази переносят в стакан, добавляют 15 мл воды очищенной, 15 мл 8 % (или 2 моль/л) раствора хлороводородной кислоты, перемешивают жидкость до растворения натрия пара-аминосалицилата и основы, добавляют индикаторы, бромид калия. Затем медленно титруют из микробюретки 0,1 моль/л раствором нитрита натрия согласно способу, приведенному при анализе лекарственного препарата в искусственной смеси до перехода окраски исследуемого раствора с фиолетовой в сине-зелёную. Как показали экспериментальные данные, при титровании такой же навески тизоля в аналогичных условиях затрачивается одна-три капли раствора нитрита натрия. Поэтому данный объём титранта может повлиять на результаты анализа. Расчет массовой доли натрия пара-аминосалицилата в процентах и массы в лекарственной прописи находят по формулам:

$$W(\text{преп}) = \frac{t(\text{NaNO}_2/\text{преп}) \cdot V(\text{NaNO}_2) \cdot K(\text{NaNO}_2) \cdot 100}{a(\text{мази})}$$

$$m(\text{преп}) = \frac{t(\text{NaNO}_2/\text{преп}) \cdot V(\text{NaNO}_2) \cdot K(\text{NaNO}_2) \cdot P}{a(\text{мази})}$$

где: а(мази) – навеска мази, взятая на анализ, г;

V(NaNO₂) – разница объемов титранта, затраченных на титрование мази и тизоля, мл;

P – масса лекарственной формы (10,0 г).

Результаты анализа натрия пара-аминосалицилата прямым нитритометрическим титрованием в мази «Пасказоль» приведены в таблице 6.

Таблица 6

Результаты нитритометрического анализа натрия пара-аминосалицилата в лекарственной форме «Пасказоль»

Взято мази, г	V(NaNO ₂), мл		Найдено препарата, г	Отклонение, %	Допустимые нормы отклонений	
	мазь	тизоль			г	%
0,5085	1,12	0,10	0,4999	-0,02	0,450 - 0,550	± 10 %
0,5089	1,11	0,10	0,4946	-1,08		
0,5069	1,13	0,10	0,5064	+1,28		
0,5076	1,14	0,10	0,5106	+2,12		

Из таблицы видно, что содержание лекарственного препарата в прописи соответствует допустимым нормам отклонений по нормативной документации.

Заключение. Разработанные способы количественного определения натрия пара-аминосалицилата в мази спектрофотометрически и прямым нитритометрическим титрованием, достаточно точны, просты в выполнении, не требуют дорогостоящей аппаратуры, в объемном методе – отделения мазевой основы [7], поэтому их можно рекомендовать для фармацевтического анализа новой лекарственной формы «Пасказоль».

Список литературы

1. Булатов М.И. Практическое руководство по фотометрическим методам анализа / М.И. Булатов, И.П. Калинин. – Ленинград: Химия, 1986. – 432 с.
2. Государственная фармакопея Российской Федерации. – XII изд. – М.: Научный центр экспертизы средств медицинского применения, 2008. – 704 с.
3. Государственная фармакопея СССР. – X изд. – М.: Медицина, 1968. – 1080 с.
4. Захарова А.А., Кобелева Т.А., Сичко А.И. Спектрофотометрический анализ натрия диклофенака и лидокаина гидрохлорида в новой мягкой лекарственной форме «Диклизоль» // Казанская наука. Сборник статей. – Казань, 2010. – № 3. – С. 239-244.
5. Мельник К.Л., Сичко А.И., Кобелева Т.А. Спектрофотометрический анализ трансдермальной лекарственной формы «Новоанезоль» // Материалы Евразийского Конгресса с международным участием «Медицина, фармация и общественное здоровье». – Екатеринбург, 2013. – С. 80-85.
6. Новые технологии в медицине. Тизоль: сб. науч. статей /УГМА; [под ред. В.И. Шилко]. – Екатеринбург: УГМА, 2003. – 152 с.
7. Сичко А.И., Кобелева Т.А. Анализ препаратов с противовоспалительным и местноанестезирующим действием в мягких лекарственных формах с тизолем. // Методические указания. Ч. 2. Количественный анализ. – Тюмень, 2013. – 22 с.
8. Смагина Т.А., Бекетов Б.Н. Перспективы использования в медицине аквакомплексглицеросольвата титана и препаратов на его основе // Бюллетень сибирской медицины. – 2006. – Прил. 2. – С. 131-132.
9. Фармакопейная статья предприятия (ФСП) 42-3157-06. Тизоль – гель для местного и наружного применения.

Рецензенты:

Нохрин Д.Ф., д.ф.н., профессор, заведующий кафедрой фармацевтической химии ГБОУ ВПО «ТюмГМА» МЗ РФ, г. Тюмень.

Кныш О.И., д.ф.н., профессор, заведующая кафедрой управления и экономики фармации
ГБОУ ВПО «ТюмГМА» МЗ РФ, г. Тюмень.