

# Исследование строения химических соединений, методы анализа и контроль производства

© Коллектив авторов, 2014

Н. Е. Новожилова<sup>1</sup>, Н. Н. Кутина<sup>1</sup>, Ю. Я. Харитонов<sup>2</sup>

## РАЗРАБОТКА СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЙ МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СУБСТАНЦИИ 3-ФЕНИЛПРОДАНИНА

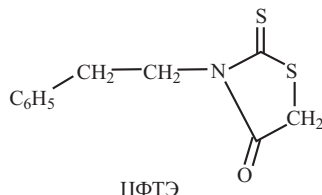
<sup>1</sup> ООО НПК "Медбиофарм", Обнинск, Калужская область, Россия;

<sup>2</sup> ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова, Москва, Россия

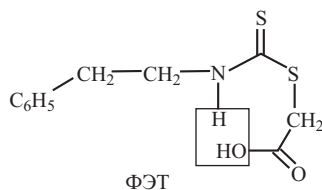
Получены спектры поглощения в области 200 – 400 нм метанольных, этанольных и изопропанольных растворов фармакологически активной субстанции 3-фенэтилроданина – циклической формы 2-фенэтилдитиокарбамоилуксусной кислоты (ЦФЭТ). Определены молярный и удельный коэффициенты погашения ЦФЭТ в этанольных растворах при 262 и 297 нм. Разработана спектрофотометрическая методика определения ЦФЭТ в этанольных растворах при аналитической длине волны 262 нм. Методика обладает хорошей воспроизводимостью, не содержит систематической ошибки и может быть рекомендована для практического применения при количественном анализе содержания ЦФЭТ в субстанции.

**Ключевые слова:** субстанция ЦФЭТ; 3-фенилроданин; молярный и удельный коэффициенты погашения; спектрофотометрическая методика.

3-Фенилроданин (ЦФЭТ) обладает противоопухолевой активностью, способен ингибировать развитие онкологических опухолей в организме человека и животных. Молекула 3-фенилроданина



представляет собой дегидратированную циклическую форму 2-фенэтилдитиокарбамоилуксусной кислоты (ФЭТ), которая также проявляет противоопухолевую активность [1].



Субстанция ЦФЭТ практически нерастворима в воде, растворяется в метаноле, этаноле и изопропанолем.

Для контроля качества ЦФЭТ при практическом использовании этой субстанции в лечебных препаратах необходима разработка тестов на различные показатели качества, в частности, методик количественного определения ЦФЭТ.

В данном сообщении изложены результаты спектрофотометрического изучения растворов ЦФЭТ в метаноле, этаноле и изопропанолем в области

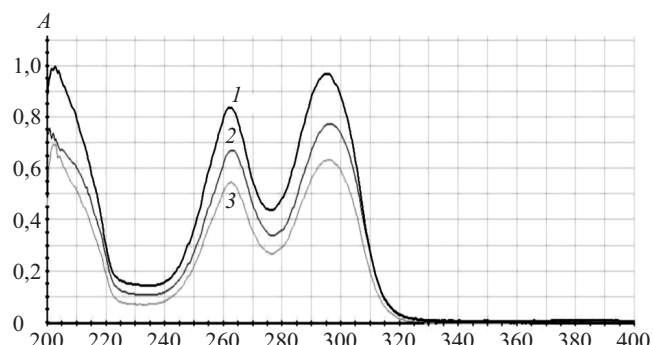
200 – 400 нм с целью разработки спектрофотометрической методики количественного определения ЦФЭТ.

### Экспериментальная часть

В работе использовали субстанцию ЦФЭТ, синтезированную в ООО НПК "Медбиофарм" (г. Обнинск), с содержанием основного вещества 99,00 %. В качестве растворителей применяли этанол (95 %) (Россия), изопропанол фирмы Sharlau (Нидерланды) градиентной чистоты, метанол фирмы Fisher (Англия) хроматографической чистоты.

Спектральные измерения проводили на спектрофотометре Helios  $\gamma$ , фирмы Thermo Electron Corporation (США) в диапазоне длин волн 200 – 400 нм при комнатной температуре с использованием кварцевых кювет с толщиной поглощающего слоя 1 см. На рис. 1 в качестве примера приведены спектры поглощения растворов ЦФЭТ. В каждом спектре имеется по 2 максимума поглощения около 260 и 300 нм.

Для проверки выполнимости закона Бугера — Ламберта — Бера готовили растворы субстанции с массовой (молярной) концентрацией субстанции ЦФЭТ 0,004 – 0,0002 % ( $1,85 \cdot 10^{-4}$  –  $0,093 \cdot 10^{-4}$  моль/л) методом разбавления раствора с содержанием 0,004 % ( $1,85 \cdot 10^{-4}$  моль/л), приготовленного по точной навеске растворением 0,01 г ЦФЭТ в 25 мл растворителя при комнатной температуре. Измерения проводили в каждом случае не менее 5 раз при длине волны, соответствующей максимуму в спектре поглощения. Статистическую обработку полученных результатов измерений проводили при объеме выборки  $n = 5$  и доверительной вероятности  $P = 0,95$  (95 %) [2].



**Рис. 1.** Спектры поглощения субстанции ЦФЭТ в этаноле (1), метаноле (2) и изопропаноле (3). Концентрация раствора субстанции 0,001 %; толщина поглощающего слоя  $l = 1$  см.

На рис. 2 приведен график зависимости оптической плотности  $A$  при 262 и 297 нм от концентрации ЦФЭТ в этанольных растворах, построенный по данным табл. 1.

Прямая пропорциональная зависимость наблюдается во всем исследованном интервале концентраций. Коэффициент корреляции составляет 0,9996 и 0,9999 соответственно.

### Результаты и их обсуждение

При равных концентрациях растворов в спектрах этанольных растворов наблюдаются наиболее интенсивные максимумы поглощения при 262 и 297 нм, причем максимум при 262 нм более четкий, чем при 297 нм. Поэтому в дальнейшей разработке спектрофотометрической методики определения ЦФЭТ измерения проводили при аналитической длине волны 262 нм.

По полученным экспериментальным данным рассчитаны [2] молярные  $\epsilon$  и удельные  $E$  коэффициенты погашения ЦФЭТ в этанольных растворах при 262 и 297 нм и комнатной температуре, оказавшихся равными:

при 262 нм ( $n = 5; P = 0,95$ )

$$\epsilon = (13259,16 \pm 37,54) \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1};$$

$$E = 558,8 \pm 1,66;$$

при 297 нм ( $n = 5; P = 0,95$ )

$$\epsilon = (15290,75 \pm 27,98) \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1};$$

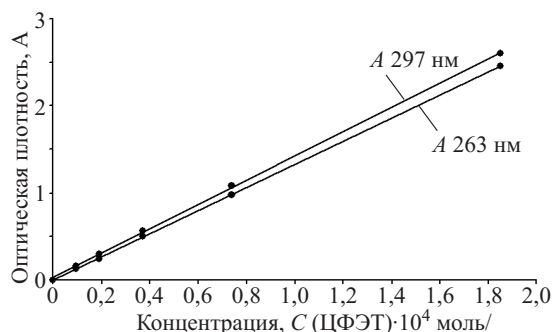
$$E = 644,36 \pm 1,19.$$

Здесь удельные коэффициенты погашения выражены в единицах  $100 \text{ мл} \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ .

Т а б л и ц а 1

**Оптическая плотность растворов субстанции ЦФЭТ ( $n = 5; P = 0,95$ )**

$W$ (ЦФЭТ), %	$C$ (ЦФЭТ), моль/л	$A_{262 \text{ нм}}$	$A_{297 \text{ нм}}$
0,00444	$1,850 \cdot 10^{-4}$	$2,451 \pm 0,006$	$2,830 \pm 0,008$
0,00178	$0,740 \cdot 10^{-4}$	$0,979 \pm 0,001$	$1,087 \pm 0,001$
0,00089	$0,370 \cdot 10^{-4}$	$0,490 \pm 0,002$	$0,567 \pm 0,002$
0,000444	$0,185 \cdot 10^{-4}$	$0,244 \pm 0,001$	$0,283 \pm 0,001$
0,000222	$0,093 \cdot 10^{-4}$	$0,126 \pm 0,002$	$0,141 \pm 0,002$



**Рис. 2.** Зависимость оптической плотности от концентрации этанольных растворов субстанции ЦФЭТ: 1 – 262 нм,  $R^2 = 0,9996$ ; 2 – 297 нм,  $R^2 = 0,9999$ .

На основании полученных данных разработана спектрофотометрическая методика определения ЦФЭТ. Масса навески для приготовления анализируемых растворов выбиралась так, чтобы величина оптической плотности измеряемых растворов соответствовала оптимальной погрешности определения — менее 0,4 % [2].

### Методика определения ЦФЭТ

Растворяют 0,01 г ЦФЭТ (точная навеска) в этаноле в мерной колбе на 100 мл. Раствор доводят до метки этанолом и перемешивают. Разбавляют раствор этанолом в 10 раз и измеряют оптическую плотность разбавленного раствора при 262 нм в кварцевой кювете с толщиной поглощающего слоя 1 см, используя в качестве раствора сравнения чистый этанол. Содержание  $X$ , %, субстанции ЦФЭТ рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{A \cdot 1000}{l \cdot E \cdot m} \%, \text{ где } A \text{ — оптическая плотность в}$$

максимуме при 262 нм;  $l$  — толщина поглощающего слоя, см;  $E$  — удельный коэффициент погашения;  $m$  — масса исходной навески ЦФЭТ, г.

Проводят статистическую обработку полученных данных [2] при  $n = 5; P = 0,95$ . В принципе аналогично

Т а б л и ц а 2

**Данные по статистической оценке воспроизводимости методики определения ЦФЭТ ( $n = 8, P = 0,95$ )**

Показатель	Значение
$W_i$ , %	99,10; 99,02; 99,05; 98,00; 99,06; 99,30; 98,03; 99,03
$n$	8
$W$ , %	98,82
$S$	0,51
$\Delta \bar{W}$ , %	0,42
$(\bar{W} \pm \Delta \bar{W})$ , %	98,82 · 0,42
$\bar{\epsilon}$ , % = $\frac{\Delta \bar{W}}{\bar{W}} \cdot 100\%$	0,43

Примечание:  $W_i$  — единичная  $i$ -я варианта;  $n$  — объем выборки;  $W$ , % — среднее;  $s$  — стандартное отклонение;  $\Delta \bar{W}$ , % — полуширина доверительного интервала;  $(\bar{W} \pm \Delta \bar{W})$  — доверительный интервал;  $\bar{\epsilon}$  — случайная процентная ошибка среднего.

можно проводить измерения и расчеты и при длине волны 297 нм.

### Статистическая оценка методики по воспроизводимости и правильности

Для статистической оценки методики на воспроизводимость (оценка случайной ошибки) и правильность (оценка систематической ошибки) использовали рабочий стандартный образец с известным содержанием ЦФЭТ  $W = 99,00\%$ ; измеряемые растворы готовили методом разбавления. Объем выборки (число измерений) составлял  $n = 8$ , доверительная вероятность  $P = 0,95$  (95 %).

Из табл. 2, в которой приведены результаты статистической оценки методики на воспроизводимость результатов параллельных определений, следует, что разработанная методика обладает хорошей воспроизводимостью.

Абсолютная систематическая ошибка  $\Delta W$  равна:

$$\Delta W = W - \bar{W} = 99,00 - 98,82 = 0,18;$$

процентная (относительная) систематическая ошибка

$$\text{составляет } \frac{\Delta W}{W} \cdot 100\% = \frac{0,18}{99,00} \cdot 100\% = 0,18\%.$$

### DEVELOPMENT OF SPECTROPHOTOMETRIC PROCEDURE FOR DETERMINING 3-PHENYLRHODANIN SUBSTANCE

N. E. Novozhilova<sup>1</sup>, N. N. Kutina<sup>1</sup>, Yu. Ya. Kharitonov<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Medbiopharm Company, Obninsk, Kaluga oblast, 249030 Russia;

<sup>2</sup> Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, 119991 Russia

The optical absorption spectra in the region of 200 – 400 nm have been measured for methanol, ethanol, and isopropanol solutions of pharmacologically active 3-phenylrhodanin – a cyclic form of phenethylthiocarbamoyl acetic acid (cPET). The molar and specific extinction coefficients of cPET in ethanol solution have been determined at 262 and 297 nm. A procedure for determining cPET in ethanol solutions by spectrophotometry at 262 nm has been developed. The proposed method is characterized by good reproducibility, does not give a systematic error, and can be recommended for the determinations of cPET in drugs.

**Keywords:** phenethylthiocarbamoyl acetic acid substance, 3-phenylrhodanin, molar and specific extinction coefficients, spectrophotometric method

Величина  $W = 99,00$  (известное значение содержания ЦФЭТ в рабочем стандартном образце) находится внутри доверительного интервала 98,40 – 99,24, т.е. систематическая ошибка меньше случайной ошибки и ее можно не учитывать.

Таким образом, разработанная спектрофотометрическая методика определения ЦФЭТ практически не имеет систематической погрешности. В целом можно заключить, что методика обладает хорошей воспроизводимостью, не содержит систематической ошибки и может быть рекомендована для практического применения при количественном анализе содержания ЦФЭТ в субстанции.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Yang-Ming Yang, Fung-Lung Chung, *Cur. Drug Metabolism*, № 3, 233 – 255 (2002).
2. Ю. Я. Харитонов, *Аналитическая химия. Аналитика 2*, Высшая школа, Москва (2010), с. 559.

Поступила 26.04.13