

Н. Е. Новожилова¹, Н. Н. Кутина¹, Ю. Я. Харитонов²

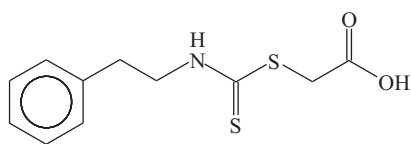
СРАВНЕНИЕ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЙ И ТИТРИМЕТРИЧЕСКОЙ МЕТОДИК ОПРЕДЕЛЕНИЯ 2-ФЕНЭТИЛДИТИОКАРБАМОИЛУКСУСНОЙ КИСЛОТЫ — НОВОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА АНТИКАНЦЕРОГЕННОГО ДЕЙСТВИЯ

¹ ООО НПК "Медбиофарм", Обнинск, Калужская область, Россия² ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова, Москва, Россия

Проведена экспериментальная и расчетная оценка спектрофотометрической и титриметрической методик определения субстанции ФЭТ (2-фенэтилдителиокарбамоилуксусной кислоты) по правильности и воспроизводимости. Показано, что случайная погрешность среднего спектрофотометрической и титриметрической методик не превышает 0,26 % ($n = 8, P = 0,95$) и 0,11 % ($n = 7, P = 0,95$) соответственно. Систематическая погрешность обеих методик меньше случайной погрешности. Обе методики дают воспроизводимые и правильные результаты и могут быть рекомендованы для количественного определения ФЭТ в субстанции.

Ключевые слова: субстанция ФЭТ; спектрофотометрическая, титриметрическая методика; воспроизводимость; правильность; статистическая обработка.

2-фенэтилдителиокарбамоилуксусная кислота (ФЭТ) — новая субстанция, обладающая противоопухолевой активностью [1–4]. ФЭТ способна ингибировать развитие онкологических опухолей в организме человека и животных. Молекула ФЭТ имеет строение:



Субстанция ФЭТ практически нерастворима в воде, но легко растворима в метаноле, этаноле, ацетоне.

Для контроля качества субстанции ФЭТ при ее практическом использовании в лекарственных препаратах разработаны альтернативные методики определения ФЭТ [3, 4].

В данном сообщении излагаются результаты сравнительной оценки спектрофотометрической и титриметрической методик определения субстанции ФЭТ по правильности и воспроизводимости.

Экспериментальная часть

Субстанция ФЭТ, использовавшаяся в данной работе, синтезирована в ООО НПК "Медбиофарм" (Обнинск). Содержание основного вещества составляло 98,20 %. Анализ субстанции проводили 2 методами — спектрофотометрическим и титриметрическим.

Для спектрофотометрического определения точную навеску субстанции ФЭТ (0,01 г) растворяли в метаноле хроматографической чистоты (HPLC, Fisher, Германия) в мерной колбе вместимостью 100 мл. Раствор разбавляли в 10 раз. Измерения проводили на спектрофотометре Helios-γ, 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 приведен спектр поглощения раствора ФЭТ. В качестве аналитической выбрана длина волны 252 нм.

Содержание X , % субстанции ФЭТ рассчитывали по формуле:

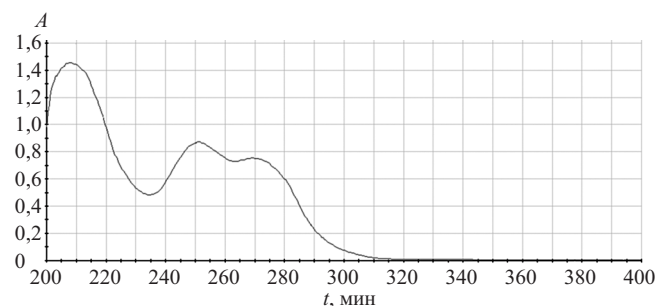
$$X = \frac{1000 \cdot A}{l \cdot E \cdot m},$$

где A — оптическая плотность в максимуме при 252 нм; l — толщина поглощающего слоя, см; $E = 438,89$ — удельный коэффициент погашения; m — масса навески ФЭТ, г.

При титровании около 0,5 г (точная навеска) субстанции растворяли в 20 мл этанола, предварительно нейтрализованного по фенолфталеину. Титровали 0,1 М раствором натрия гидроксида в присутствии спиртового раствора фенолфталеина до появления розового окрашивания, сохраняющегося в течение ~ 30 с. Содержание субстанции ФЭТ, %, вычисляли по формуле:

$$W = \frac{C_{\text{NaOH}} V_{\text{NaOH}} M_{\text{ФЭТ}}}{1000 m_{\text{ФЭТ}}} \cdot 100,$$

где C_{NaOH} — концентрация раствора гидроксида натрия (0,1 моль/л); V_{NaOH} — объем гидроксида натрия, пошедший на титрование субстанции ФЭТ, мл; $M_{\text{ФЭТ}}$ — молярная масса субстанции ФЭТ (255 г/моль); $m_{\text{ФЭТ}}$ — масса навески субстанции ФЭТ, г.



Спектр поглощения раствора субстанции ФЭТ в метаноле. Концентрация раствора субстанции 0,001 %; диапазон длин волн 200–400 нм; толщина поглощающего слоя $l = 1$ см.

Статистическую обработку полученных результатов измерений проводили обычным способом [5] при объеме выборки $n = 8$ и доверительной вероятности $p = 0,95$ (95 %).

В таблице приведены данные статистической обработки результатов двух методов.

Результаты и их обсуждение

Сравним оба метода по воспроизводимости с использованием F-критерия Фишера [5], получаем рассчитанное значение $F_{\text{расч}}$:

$$F_{\text{расч}} = \frac{V_1}{V_2}, (V_1 > V_2); F_{\text{расч}} = \frac{0,0975}{0,0132} = 7,39.$$

Табличное значение $F_{\text{табл}}$ при доверительной вероятности $p = 0,99$ и числах степеней свободы $f_1 = 7$ и $f_2 = 6$ составляет 8,26. Поскольку $F_{\text{расч}} < F_{\text{табл}}$, то дисперсии однородны; различие между V_1 и V_2 статистически незначимо. Оба метода дают воспроизводимые результаты. Воспроизводимость титриметрического метода несколько лучше воспроизводимости метода спектрофотометрии.

Исходное содержание ФЭТ (98,20 %) укладывается внутри доверительных интервалов обоих методов, т.е. систематическая погрешность меньше случайной.

Сравним оба метода по правильности. Поскольку дисперсии V_1 и V_2 однородны, то используем t -критерий Стьюдента [5]. Рассчитаем средневзвешенную дисперсию \bar{V} согласно [5]:

$$\begin{aligned} \bar{V} = \bar{s} &= \frac{[(n_1 - 1)V_1 + (n_2 - 1)V_2]}{(n_1 + n_2 - 2)} = \\ &= \frac{[(8 - 1) \cdot 0,0975 + (7 - 1) \cdot 0,0132]}{8 + 7 - 2} = 0,059. \end{aligned}$$

Вычислим критерий Стьюдента $t_{\text{расч}}$:

$$\begin{aligned} t_{\text{расч}} &= \left(\frac{\bar{W}_1 - \bar{W}_2}{\sqrt{\bar{V}}} \right) \sqrt{\frac{n_1 n_2}{(n_1 + n_2)}} = \\ &= \frac{98,29 - 98,21}{\sqrt{0,059}} \cdot \sqrt{\frac{8 \cdot 7}{8 + 7}} = 0,64. \end{aligned}$$

Табличное значение $t_{\text{табл}}$ при доверительной вероятности $p = 0,99$, числе степеней свободы $f = n_1 + n_2 -$

Статистические характеристики спектрометрического и титриметрического методов определения ФЭТ

Определяемые величины	Спектрофотометрический метод, найдено	Титриметрический метод, найдено
$W_i, \%$	98,02, 98,04, 98,04, 98,10, 98,20, 98,40, 98,70, 98,80	98,06, 98,10, 98,20, 98,20, 98,20, 98,30, 98,40
n	8	7
$f = n - 1$	7	6
$\bar{W}, \%$	98,29	98,21
V	0,0975	0,0132
\bar{s}	0,3122	0,1148
$\Delta \bar{W}, \%$	0,26	0,11
$(\bar{W} \pm \Delta \bar{W}), \%$	98,29 \pm 0,26	98,21 \pm 0,11
$\bar{\varepsilon}$	0,26	0,11

Примечание. W_i — единичная i -я варианта; n — объем выборки; f — число степеней свободы; $\bar{W}, \%$ — среднее значение выборки; V — дисперсия; \bar{s} — стандартное отклонение; $\Delta \bar{W}$ — полуширина доверительного интервала; $(\bar{W} \pm \Delta \bar{W}), \%$ — доверительный интервал; $\bar{\varepsilon}$ — случайная процентная ошибка среднего.

$- 2 = 13$ составляет 3,06. Поскольку $t_{\text{расч}} < t_{\text{табл}}$, расхождение между средними статистически незначимо. Результаты, полученные обоими методами, можно рассматривать как одну выборочную совокупность. Оба метода дают правильные результаты.

Таким образом, для количественного определения ФЭТ в субстанции можно использовать как спектрофотометрическую, так и титриметрическую методику; систематическая погрешность меньше случайной в обеих методиках. Случайная погрешность не превышает 0,26 и 0,13 % соответственно.

ЛИТЕРАТУРА

1. Н. Е. Новожилова, Н. Н. Кутина, Ю. Я. Харитонов, *Ж. физ. химии*, **87**(7), 1146 – 1148 (2013).
2. Н. Е. Новожилова, Н. Н. Кутина, Ю. Я. Харитонов, *Фармация*, **4**, 37 – 39 (2013).
3. Н. Е. Новожилова, Н. Н. Кутина, Ю. Я. Харитонов, *Хим.-фарм. журн.*, **48**(1), 54 – 56 (2014); *Pharm. Chem. J.*, **48**(1), 68 – 71 (2014).
4. Н. Е. Новожилова, Н. Н. Кутина, Ю. Я. Харитонов, *Фармация*, № 1, 5 – 7 (2014).
5. Ю. Я. Харитонов, *Аналитическая химия. Аналитика 2*, Высшая школа, Москва (2010), сс. 7 – 37.

Поступила 15.04.14

COMPARISON OF SPECTROPHOTOMETRIC AND TITRIMETRIC PROCEDURES FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF 2-PHENETHYLDITHIOCARBAMOYLACETIC ACID – A NEW SUBSTANCE WITH ANTICARCINOGENIC ACTION

N. E. Novozhilova¹, N. N. Kutina¹, and Yu. Ya. Kharitonov²

¹ Research and Production Company “Medbiopharm,” Obninsk, Kaluga oblast, 249031 Russia;

² Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, 119991 Russia

Spectrophotometric and titrimetric procedures for the quantitative determination of 2-phenethyldithiocarbamoylacetic (PET) acid have been compared by experimental and mathematical statistics methods with respect to reproducibility and accuracy. The random errors of average for spectrophotometric and titrimetric procedures do not exceed 0.26% ($n = 8, P = 0.95$) and 0.11% ($n = 7, P = 0.95$), respectively. The systematic error for both methods is below the statistical error. Both procedures give reproducible and accurate results and can be recommended to application for the quantitative determinations of PET acid in the parent drug substance.

Keywords: 2-phenethyldithiocarbamoylacetic acid; quantitative determination; titrimetric procedure; spectrophotometric procedure; reproducibility; accuracy; statistical processing.