

Исследование строения химических соединений, методы анализа и контроль производства

© Коллектив авторов, 2008

О. Ю. Васильева, М. С. Гойзман, Г. Б. Тихомирова, А. С. Берлянд,
А. С. Алиханян, А. В. Шевяков

ХИМИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НОВОГО ПРИРОДНОГО БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОГО ВЕЩЕСТВА — ШУНЛИТА

Московский государственный медико-стоматологический университет

Были разработаны методики стандартизации контроля качества нового биологически активного вещества шунлит.

Биологически активную субстанцию — шунлит — выделяют из природного минерала шунгита, месторождение которого находится в Карелии. Проведенные нами исследования показали, что шунлит обладает ярко выраженной антиоксидантной активностью [1].

По результатам рентгенофазового анализа шунлит представляет собой минеральный микст, основной составляющей которого является группа алюмосиликатов: кианит Al_2SiO_5 , микроклин упорядоченный $KAlSi_3O_8$ и шамозит $(Fe, Al, Mg)_6(SiAl)_4O_{10}(OH)_8$. Кроме того, в состав шунлита в значительных количествах входят углерод (С) и кварц (SiO_2) [2]. Согласно классификации [3] по содержанию углерода шунлит может быть отнесен к шунгитам IV разновидности.

Порошок шунлита получают размолотом минерального сырья, предварительно подвергнутого очистке от посторонних включений. Полученный продукт просеивают и упаковывают. По измельченности препарат относится к среднетонким порошкам. В свежеприготовленных образцах препарата содержание частиц с диаметром более 0,310 мм составляло от 0,6 до 1,8 %. Этот показатель в течение 2 лет хранения препарата в обычных условиях практически оставался постоянным. Исходя из этого, раздел “Измельченность” проекта Фармакопейной статьи предприятия (ФСП) на шунлит сформулирован следующим образом: “Определение проводят из 25 г препарата. Остаток на сите 0,310 мм не должен превышать 2 %”.

Настоящая работа имела целью создание методик анализа шунлита, необходимых для оценки качества этого препарата с целью его стандартизации. Исследования проводились на пяти опытных сериях препарата.

Предварительно, помимо раздела “Измельченность”, в проект ФСП мы сочли нужным включить разделы: “Описание”, “Растворимость”, “Подлинность”, “Потеря в массе при высушивании”, “Потеря в массе при прокаливании”, “Растворимые в воде вещества”, “рН водной вытяжки”, “Щелочность”, “Хлориды”, “Вещества, растворимые в кислоте хлористоводородной”, “Тяжелые металлы”, “Сульфаты”, “Мышьяк”, “Микробиологическая чистота”, “Адсорбционная

способность”, “Количественное определение” и “Срок годности”. Для каждого из перечисленных разделов были предложены и апробированы методики определения показателей качества препарата и нормированы допустимые пределы их колебаний.

По внешнему виду препарат представляет собой порошок черного цвета, без запаха. Было показано, что он практически нерастворим в воде, ацетоне и спирте этиловом 95 % (спирте 95 %). Эти данные отражены в разделах “Описание” и “Растворимость” проекта ФСП.

Для создания методик идентификации шунлита нами были сняты инфракрасные (ИК) спектры препарата. Спектры снимали в области от 4000 до 400 cm^{-1} в дисках с калия бромидом (1 мг препарата в 400 мг КВг), при этом для всех пяти серий препарата они совпали по положению и относительной интенсивности основных полос поглощения, что позволило получить усредненный спектр препарата (рис. 1) и явилось доказательством практической применимости ИК-спектроскопии для оценки подлинности шунлита. В раздел “Подлинность” проекта ФСП включено сравнение ИК-спектра препарата с ИК-спектром, представленным на рис. 1.

Для идентификации препарата предложено также использовать характерную окраску и электронный спектр рабочего раствора, приготовленного для количественного определения в препарате содержания кремния. Концентрация этого раствора составляет $\approx 0,00025$ % в пересчете на препарат, раствор окрашен в синий цвет, а его электронный спектр в области от 350 до 900 нм имеет характерные максимум и минимум поглощения при 817 ± 2 нм и 418 ± 2 нм соответственно (рис. 2). Спектр снимают в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения, получаемого из контрольного раствора реагентов для вскрытия шунлита и реактивов, необходимых для определения кремния в виде восстановленной кремнемолибденовой гетерополиоксидной кислоты. Положение экстремумов в электронном спектре рабочего раствора и его цвет подтверждают наличие в испытуемом препарате

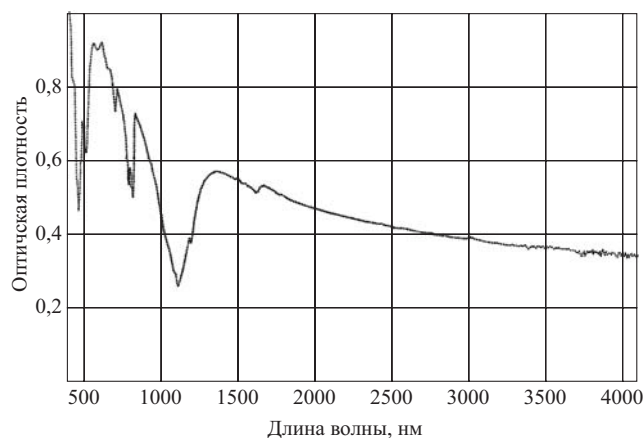


Рис. 1. ИК-спектр шунлита в таблетке с калия бромидом

кремния, что и является характерным для шунлита признаком. В разделе “Подлинность” проекта ФСП нормированы пределы, в которых должны находиться абсциссы экстремумов выше описанного электронно-го спектра.

Для идентификации ионов железа(III) и алюминия в проекте ФСП предложено использовать цветные реакции этих ионов с калия ферроцианидом и ализарином красным № 0 (1,2-диоксиантрахиноном), в результате которых образуются характерно окрашенные комплексы — “берлинская лазурь” ярко-синего цвета и алюминиевый лак красного или красного с фиолетовым оттенком цвета. Однако ионы железа мешают образованию лака. Для предварительного разделения идентифицируемых ионов нами использован метод круговой хроматографии на фильтровальной бумаге. Для этого 5 мл раствора, полученного при определении в препарате веществ, растворимых в кислоте хлористоводородной (см. ниже), упаривают до объема, равного 0,5 мл. Затем на полосу сухой фильтровальной бумаги, предварительно импрегнированной раствором калия ферроцианида, наносят 0,02 мл упаренного раствора. Полосу 3 мин выдерживают над аммиака раствором концентрированным. Затем в центр пятна наносят 0,02 мл 0,1 % спиртового раствора ализарина красного № 0 и вновь выдерживают полосу в течение 3 мин над аммиака раствором концентрированным. Полосу сушат при 150 °С и на 5 с погружают в кислоту уксусную 3 %. В месте нанесения испытуемого раствора наблюдается отчетливое пятно синего цвета (железо) с кольцевым ореолом фиолетово-красного цвета (алюминий). Если фиолетово-красный ореол окрашен слабо, обработку кислотой уксусной и выдержку над раствором аммиака концентрированным можно повторить.

Потерю в массе при высушивании предлагается определять при 120 °С, так как препарат является термостойким, а сушка в этих условиях протекает быстро. Высушивание свежеприготовленных образцов препарата при указанной температуре привело к потере массы в пределах от 0,6 до 1,8 %. В процессе хранения образцов в течение двух лет в обычных условиях этот

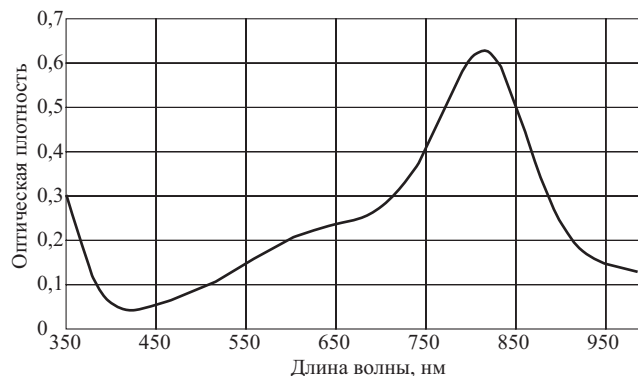


Рис. 2. Электронный спектр раствора с концентрацией $\approx 0,0003\%$ в пересчете на шунлит, приготовленный для количественного определения кремния

показатель практически не изменился. В проекте ФСП потеря в массе при высушивании нормируется на уровне, не превышающем 2 % [4].

Препарат в значительных количествах содержит углерод, который при температуре 500 °С сгорает. Кроме того, в препарате содержится дегидратирующиеся минералы, которые теряют воду только при нагревании до 800 °С и выше. Таким образом показатель “Потери в массе при прокаливании”, определяемый при температуре 1000 °С, следует рассматривать как важную количественную характеристику препарата. Результаты определения элементного состава препарата показали, что сумма содержаний в нем углерода ($\approx 32\%$) и водорода в пересчете на воду (3,0 – 3,5 %) примерно равна величине потери в массе при прокаливании. Следовательно показатель “Потеря в массе при прокаливании” можно рассматривать как меру содержания углерода в препарате, поскольку содержание в нем водорода в пересчете на воду меняется в узких пределах. Надо отметить, что содержащийся в препарате оксид кремния способствует полному удалению двуокси углерода из остатка, получаемого при прокаливании препарата. Определение проводят из 1 г препарата при медленном нагревании образца до 1000 °С. При этой температуре образец выдерживают в течение 30 мин.

Образцы препарата, прокаленные в указанных условиях, имели потерю в массе от 28,9 до 33,8 %. На основании фактических данных в проекте ФСП рекомендуется нормировать “Потери в массе при прокаливании” в пределах от 28 до 34 %.

Основу шунлита составляют минералы, нерастворимые в воде, поэтому целесообразно лимитировать содержание в препарате водорастворимых компонентов, рассматривая этот показатель, как критерий чистоты. Для определения содержания водорастворимых компонентов 6 г препарата (точная навеска) помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл с притертой пробкой, приливают точно 75 мл воды для рН-метрии и выдерживают в течение 30 мин при постоянном перемешивании. Полученную суспензию фильтруют через бумажный фильтр “синяя лента” (ТУ

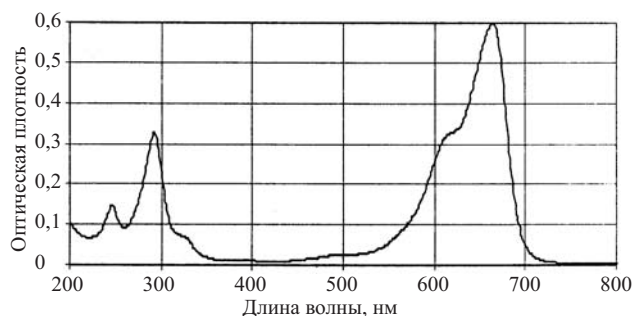


Рис. 3. Электронный спектр 0,0006 % водного раствора метиленового синего

6-09-1678–86). Полученную водную вытяжку используют для описанных ниже четырех определений.

Точно 20 мл водной вытяжки помещают в высушенную до постоянной массы при 100 – 105 °С кварцевую или платиновую чашку и выпаривают на водяной бане досуха. Затем остаток в чашке сушат при 100 – 105 °С до постоянной массы и по полученным данным рассчитывают содержание в препарате растворимых в воде веществ. На основании фактических данных верхний предел содержания растворимых в воде веществ в % в пересчете на сухой препарат предложено нормировать на уровне 0,5 %.

В проекте ФСП рН водной вытяжки из препарата, исходя из фактических данных, предлагается нормировать в пределах от 7,0 до 8,0.

Содержание щелочных компонентов в препарате, т. е. “Щелочность”, определяют путем прямого титрования 0,01 М раствором кислоты хлористоводородной 20 мл водной вытяжки из препарата по метиловому красному. В исследованных образцах щелочность, в пересчете на натрия оксид (Na_2O) и на сухой препарат, составляла от 0,075 до 0,090 %. В проекте ФСП предлагаем нормировать “Щелочность” на уровне, не превышающем 0,1 % в пересчете на Na_2O и на сухой препарат.

Содержание хлоридов в препарате определялось в 0,5 мл из водной вытяжки, как указано в [4]. На основании фактических данных содержание хлоридов в препарате нормировано в проекте ФСП на уровне, не превышающем 0,05 %.

Учитывая, что препарат может использоваться перорально, в проект ФСП вводится раздел “Вещества, растворимые в кислоте хлористоводородной”. Содержание их определяют в кислой вытяжке, для приготовления которой около 5 г препарата помещают в стакан вместимостью 250 мл, прибавляют 100 мл 0,1 М раствора кислоты хлористоводородной и выдерживают 30 мин при постоянном перемешивании. Полученную суспензию фильтруют через бумажный фильтр “синяя лента”. Полученная кислая вытяжка используется в следующих трех определениях.

20 мл кислой вытяжки упаривают в предварительно взвешенной платиновой или кварцевой чашке досуха, после чего сушат при 100 – 105 °С до постоянной массы и проводят необходимые расчеты. Образцы шунли-

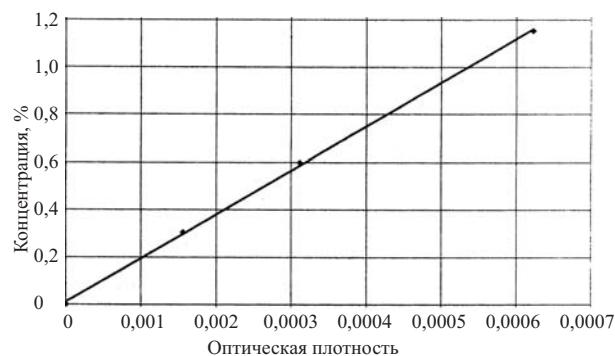


Рис. 4. Зависимость оптической плотности растворов метиленового синего от концентрации при 664 нм

та в пересчете на сухой препарат содержали от 1,1 до 1,6 % веществ, растворимых в кислоте хлористоводородной. В проекте ФСП содержание таких веществ нормировано на уровне, не превышающем 2 % в пересчете на сухой препарат.

Содержание тяжелых металлов в препарате определяют из кислой вытяжки. С целью исключения мешающего влияния ионов железа 10 мл кислой вытяжки выпаривают досуха, сухой остаток растворяют в 3 мл воды и к полученному раствору прибавляют 4 % раствор натрия фторида. При этом ионы железа связываются с ионами фтора в бесцветный комплекс и раствор обесцвечивается, его фильтруют через бумажный фильтр, который затем промывают водой до получения 10 мл фильтрата. Этот фильтрат должен выдерживать испытание на тяжелые металлы [4] в сравнении с эталоном, содержащим 2 мл эталонного раствора Б. В этом случае содержание тяжелых металлов в препарате не превышает 0,002 %. Все образцы шунлита выдержали это испытание, что позволило нормировать содержание тяжелых металлов на уровне, не превышающем 0,002 %. Эта норма введена в проект ФСП.

Сульфаты в препарате определяют из 2 мл кислой вытяжки нефелометрически [4]. Содержание сульфатов во всех испытанных образцах не превышало 0,1 %. Соответствующая норма введена в проект ФСП.

Определение мышьяка проводилось из 0,05 г препарата [4] (метод 1). Во всех образцах шунлита содержание мышьяка не превышало 0,002 %. Соответствующая норма введена в проект ФСП.

Испытание на микробиологическую чистоту проводили в соответствии с ОФС [5] и Изменением № 3 к ГФ XI. Все серии препарата удовлетворяли требованиям категории 3.2.

Адсорбционная способность препарата определялась по поглощению метиленового синего из 0,15 % водного раствора этого красителя. Определение концентрации метиленового синего проводили спектрофотометрически. Оптическую плотность измеряли в максимуме поглощения при 664 нм (рис. 3).

В области концентраций от 0 до 0,0065 % растворы метиленового синего подчиняются закону Бугера — Ламберта — Бера (рис. 4). Зависимость оптической плотности (D) растворов красителя от его concentra-

ции (c) выражается уравнением $D = Ec + a$ (E — удельный показатель поглощения, равный 1845; a — свободный член). Величина a статистически достоверно не отличается от нуля. Коэффициент корреляции R равен 0,9997.

Предложено определять адсорбционную способность препарата с использованием одного и того же исходного раствора метиленового синего в основном и контрольном опыте. Показано, что стабильные и достоверные результаты могут быть получены тогда, когда остаточная концентрация красителя лежит в пределах от 0,05 до 0,12 %.

Величина адсорбционной способности различных серий препарата колебалась от 0,010 до 0,013 г в пересчете на 1 г сухого препарата. В проекте ФСП адсорбционная способность препарата нормирована по нижнему пределу — она должна быть не менее 0,010 г метиленового синего в пересчете на 1 г сухого препарата.

Количественное определение элементов, составляющих шунлит, подробно рассмотрено в работе [2]. На основании фактических данных в проекте ФСП нормируется содержание кремния в пересчете на SiO_2 и сухой препарат в пределах от 55 до 65 %, алюминия в

пересчете на Al_2O_3 и сухой препарат — в пределах от 3 до 5 %. Содержание железа в пересчете на сухой препарат не должно превышать 1 %

На основании результатов анализа пяти серий препарата, хранившихся 27 месяцев в обычных условиях, для него установлен срок годности, равный 2 годам.

Таким образом, разработаны методы стандартизации природного биологического активного вещества шунлита, позволяющие надежно контролировать его качество.

ЛИТЕРАТУРА

1. О. Ю. Васильева, А. А. Прокопов, А. С. Берлянд, В. А. Дубинская, в сб. "Естествознание и гуманизм", Сибирский государственный медицинский университет, Томск (2005), 2(3), сс. 63 – 64.
2. О. Ю. Васильева, М. С. Гойзман, Г. Б. Тихомирова и др., *Хим.-фарм. журн.*, 41(10), 46 – 50 (2007).
3. Ю. К. Калинин, *Научные труды Института геологии карельского филиала АН СССР "Шунгиты — новое углеродистое сырье"*, Петрозаводск (1981), сс. 22 – 45.
4. *Государственная Фармакопея XI*, вып. 1 (1985), сс. 176, 165.
5. *Государственная Фармакопея XI*, вып. 2 (1985), с. 187.

Поступила 13.02.07

CHEMICAL AND PHARMACEUTICAL INVESTIGATION OF THE NEW BIOLOGICALLY ACTIVE NATURAL SUBSTANCE SHUNLITE

O. Yu. Vasil'eva, M. S. Goizman, G. B. Tikhomirova, A. S. Berlyand, A. S. Alikhanyan, and A. V. Shevyakov

Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia

Methods of quality control standardization for the new biologically active substance shunlite have been developed. Results of the chemical and pharmaceutical investigation of shunlite are presented.