

УДК 615.07:535.622.3

**РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА
N-ГЕКСАДЕЦИЛТРИФЕНИЛФОСФОНИЯ БРОМИДА (C16),
ОБЛАДАЮЩЕГО АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ
И ФУНГИЦИДНЫМ ДЕЙСТВИЕМ**

Орлова О.В., Сидуллина С.А., Егорова С.Н.

*ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет»,
Казань, e-mail: olqa570821@yandex.ru*

Биологически активное вещество (БАВ) С16 синтезировано на кафедре высокомолекулярных и элементоорганических соединений Химического института им. А.М. Бутлерова Казанского (Приволжского) федерального университета и представляет собой с химической точки зрения *n*-гекса-децилтрифенилфосфония бромид. Микробиологические и фармакологические свойства БАВ С16 изучены в Казанской государственной медицинской академии на кафедре микробиологии и в Казанской государственной академии ветеринарной медицины на кафедре ветеринарной хирургии. Выявлены антибактериальный и фунгицидный фармакологические эффекты. Изучены основные физико-химические свойства нового БАВ С16 класса четвертичных солей фосфония с антибактериальной и фунгицидной активностью, и на их основе разработана методика определения его количественного содержания. Изучен УФ-спектр поглощения *n*-гексадецилтрифенилфосфония бромид, выделены характеристические полосы основных функциональных групп. Найдены оптимальные условия спектрофотометрического определения *n*-гексадецилтрифенил-фосфония бромид в субстанции. Разработана методика количественного анализа субстанции *n*-гекса-децилтрифенилфосфония бромид методом УФ-спектрофотометрии, определены оптимальные условия проведения количественного определения, установлено, что концентрации рассчитываются по удельному показателю поглощения, по раствору стандартного образца или по калибровочной кривой. Наименьшая относительная ошибка результата определения при расчете содержания C_{16} по стандартному образцу с доверительной вероятностью 95% составляет $\pm 0,36\%$.

Ключевые слова: *n*-гексадецилтрифенилфосфония бромид, четвертичные соли фосфония, антибактериальная и фунгицидная активность, количественное определение, УФ-спектрофотометрия, статистическая обработка данных

**DEVELOPMENT OF THE TECHNIQUE OF QUALITY CONTROL
N-GEKSADETSILTRIFENILFOSFONIYA BROMIDE (C16), POSSESSING
ANTIBACTERIAL AND FUNGICIDE ACTION**

Orlova O.V., Sidullina S.A., Egorova S.N.

GBOU VPO «Kazan state medical university», Kazan, e-mail: olqa570821@yandex.ru

The C16 Biologically Active Agent (BAA) is synthesized on chair of high-molecular and elementoorganichesky connections of Chemical institute of A.M. Butlerova of the Kazan (Volga) federal university also represents bromide from the chemical point of view of N-geksa-detsiltrifenilfosfoniya. Microbiological and the BAV S16 pharmacological properties are studied in the Kazan state medical academy on chair of microbiology and in the Kazan state academy of veterinary medicine on chair of veterinary surgery. Antibacterial and fungicide pharmacological effects are revealed. The main physical and chemical properties of new BAV S16 of a class of quaternary salts a fosfoniya with antibacterial and fungicide activity are studied, and on their basis the technique of definition of its quantitative contents is developed. UF-spektor of absorption of N-geksadetsiltrifenilfosfoniya of bromide is studied, characteristic strips of the main functional groups are allocated. Optimum conditions of spektrofotometrichesky determination of N-geksadetsiltrifenil-fosfoniya of bromide are found in a substance. The technique of the quantitative analysis of a substance of N-geksa-detsiltrifenilfosfoniya of bromide is developed by UF-spektrofotometriya's method, optimum conditions of carrying out quantitative definition are defined, is established that concentration pay off on a specific indicator of absorption, on solution of a standard sample or on a calibration curve. The smallest relative error of result of definition at calculation of the maintenance of C16 for a standard sample with confidential probability of 95% makes $\pm 0,36\%$.

Keywords: *n*-geksadetsiltrifenilfosfoniya bromide, quaternary salts fosfoniya, antibacterial and fungicide activity, quantitative definition, UF-spektrofotometriya, statistical data processing

Биологически активное вещество (БАВ) С16 синтезировано на кафедре высокомолекулярных и элементоорганических соединений Химического института им. А.М. Бутлерова Казанского (Приволжского) федерального университета и представляет собой с химической точки зрения *n*-гексадецилтрифенилфосфония бромид [2].

Микробиологические и фармакологические свойства БАВ С16 изучены в Казанской государственной медицинской академии на кафедре микробиологии

и в Казанской государственной академии ветеринарной медицины на кафедре ветеринарной хирургии. Выявлены антибактериальный и фунгицидный фармакологические эффекты [4].

Эти свойства лекарства необходимы, в частности, при лечении мастита. Мастит – воспаление молочной железы, возникающее в ответ на воздействие факторов внешней и внутренней среды при снижении резистентности организма. Маститы представляют собой не только местный процесс,

но и сопровождаются более или менее ярко выраженной реакцией всего организма. Воспалительный процесс в молочной железе, так же как и в любом другом органе, является сложной реакцией организма, возникающей в ответ на действие болезнетворных факторов – экзогенной и эндогенной инфекции [1].

Для введения в медицинскую практику нового БАВ необходимо разработать надежные методики контроля его качества. В современном фармацевтическом анализе органических лекарственных веществ широко применяются физические и физико-химические методы, такие как ЯМР-, УФ- и ИК-спектроскопия, элементный анализ, позволяющие проводить идентификацию лекарственных веществ, оценивать чистоту и количественное содержание по фармакологически активной части молекулы [5].

Цель: разработать оптимальную методику количественного определения *n*-гексадецил-трифенилфосфония бромиды спектрофотометрическим методом.

Материалы и методы исследования

В качестве объекта исследования использовалась соль фосфония $[(C_6H_5)_3P^+C_{16}H_{33}]Br^-$ *n*-гексадецил-трифенилфосфония бромид (С16).

По внешнему виду это кристаллический порошок белого цвета, без запаха, горького вкуса, ограниченно растворим в воде, хорошо растворим в эфире, хлороформе и спирте.

УФ-спектры поглощения БАВ С16 снимали на двухлучевом регистрирующем спектрофотометре Lambda 25 («Perkin Elmer», США) с использованием сервисного пакета программ «Perkin Elmer UV WinLab 5.2.0.0646/Lambda 25 1.27».

Количественное содержание *n*-гексадецил-трифенилфосфония бромиды в субстанции определяли методом прямой УФ-спектрофотометрии на регистрирующем спектрофотометре Lambda 25 («Perkin Elmer», США). Статистическая обработка результатов количественного определения проводилась по методике, рекомендованной ГФ XI [3].

Результаты исследования и их обсуждение

УФ-спектр поглощения 0,008% раствора субстанции С16 в области от 240 до 283 нм имеет максимумы поглощения при 267 нм, что объясняется электронными переходами в ароматических кольцах (рис. 1).

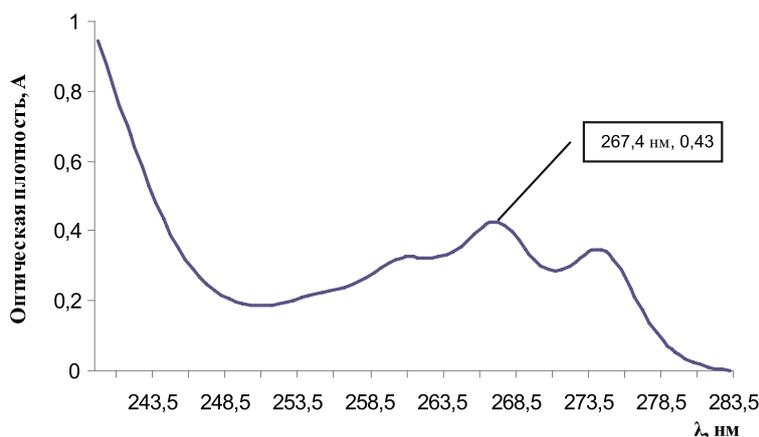


Рис. 1. УФ-спектр поглощения раствора субстанции *n*-гексадецилтрифенилфосфония бромиды

Изучение зависимости между оптической плотностью и концентрацией раствора С16 показало, что она имеет линейный характер, значение оптической плотности укладываются в интервал 0,2–0,8 мг/мл (табл. 1), значение коэффициента корреляции составляет 0,9998, что позволяет использовать данный градуировочный график для количественного определения С16 (рис. 2).

Для построения калибровочного графика готовили 7 растворов разведением стандартного раствора А (табл. 1).

Рассчитанный средний удельный показатель поглощения водных растворов БАВ С16 при длине волны 267 нм равен 60,62.

Методика. Около 0,08 г субстанции (точная навеска) помещают в мерную колбу вместимостью 200 мл, растворяют в 50 мл воды очищенной, доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают. 10 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора до метки водой очищенной и перемешивают (испытуемый раствор).

Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 267 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

В качестве раствора сравнения используют воду очищенную.

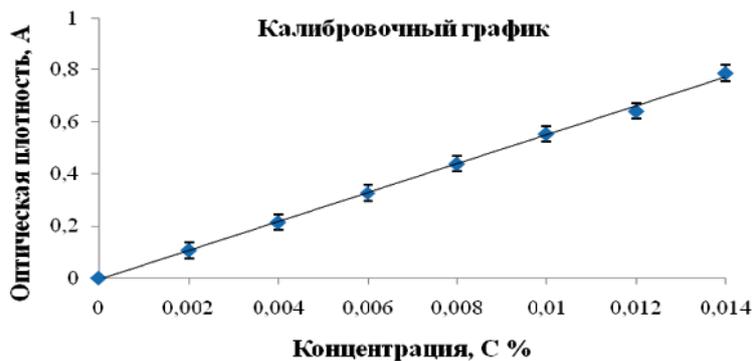


Рис. 2. Определение подчиненности водного раствора субстанции n-гексадецилтрифенилфосфония бромид основному закону светопоглощения

Таблица 1

Определение подчиненности раствора субстанции n-гексадецилтрифенилфосфония бромид основному закону светопоглощения и расчет удельного показателя поглощения

Концентрация, %	Объем стандартного раствора, мл	Общий объем разведения, мл	Оптическая плотность (среднее)	$E^{1\%, 1\text{ см}}$	$E^{1\% \text{ ср.}}_{1\text{ см}}$
0,002	5	100	0,1323	66,17	60,62
0,004	10	100	0,2533	63,33	
0,006	15	100	0,3651	60,83	
0,008	10	50	0,4751	59,38	
0,010	25	100	0,5897	58,97	
0,012	15	50	0,6911	57,50	
0,014	35	100	0,8147	58,19	

Содержание $[(C_6H_5)_3P^+C_{16}H_{33}]Br^-$ в субстанции в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{C_{\text{ст}} \cdot A_x \cdot 200 \cdot 50}{A_{\text{ст}} \cdot a \cdot 10} = \frac{C_{\text{ст}} \cdot A_x \cdot 1000}{A_{\text{ст}} \cdot a},$$

где A_x – оптическая плотность испытуемого раствора; $A_{\text{ст}}$ – оптическая плотность РСО; $C_{\text{ст}}$ – концентрация РСО; a – навеска субстанции, в граммах.

В качестве РСО использовали 0,008% водный раствор $[(C_6H_5)_3P^+C_{16}H_{33}]Br^-$ с известным содержанием основного вещества.

По разработанной методике проанализировали 5 образцов БАВ С16, результаты расчета количественного содержания показаны в табл. 2.

Расчеты количественного определения БАВ С16 проводили с помощью калибровочного графика, удельного показателя поглощения и сравнения оптических плотностей стандартного и анализируемого растворов.

Таблица 2

Результаты количественного определения субстанции n-гексадецилтрифенилфосфония бромид

По калибровочному графику		По стандартному образцу	По удельному показателю поглощения
Образец	Содержание, %	Содержание, %	Содержание, %
1	99,07	99,11	99,01
2	99,75	99,71	100,01
3	99,01	99,05	99,03
4	99,03	99,02	99,03
5	99,03	99,21	99,95
$\bar{X}, \%$	99,18	99,22	99,41

При оценке воспроизводимости результатов количественного содержания БАВ С16 методом УФ-спектрофотометрии на основе разработанной нами методики уста-

новлено, что выборка признана однородной и не отягощенной грубой ошибкой. Метрологические характеристики представлены в табл. 3, 4 и 5.

Таблица 3

Метрологические характеристики результатов спектрофотометрического количественного определения С16 при расчете по калибровочному графику

Наименование	n	F	P (%)	$t(P, f)$	$\bar{X}, \%$	S^2	S	$\Delta\bar{X}$	$\bar{E}\%$
Показатели	5	4	95	2,78	99,18	0,113	0,3215	0,41	0,42

Таблица 4

Метрологические характеристики результатов спектрофотометрического количественного определения С16 при расчете по стандартному образцу

Наименование	n	F	P (%)	$t(P, f)$	$\bar{X}, \%$	S^2	S	$\Delta\bar{X}$	$\bar{E}\%$
Показатели	5	4	95	2,78	99,22	0,081	0,2834	0,35	0,36

Таблица 5

Метрологические характеристики результатов спектрофотометрического количественного определения С16 при расчете по удельному показателю поглощения

Наименование	n	F	P (%)	$t(P, f)$	$\bar{X}, \%$	S^2	S	$\Delta\bar{X}$	$\bar{E}\%$
Показатели	5	4	95	2,78	99,4	0,275	0,5245	0,65	0,66

Достоверность предложенной методики количественного определения подтверждена опытами с добавками. Результаты опытов представлены в табл. 6. Относитель-

ная ошибка опытов с добавками находится в пределах случайной ошибки предложенной методики, что свидетельствует об отсутствии систематической ошибки методики.

Таблица 6

Результаты количественного определения субстанции *n*-гексадецилтрифенилфосфония бромида с добавками

Введено, мкг/мл	Найдено, мкг/мл	Ошибка	
		Абсолютная, мкг/мл	Относительная, %
80	79,66	+0,34	+0,43
	80,24	-0,24	-0,30
	79,50	+0,50	+0,63
Результат анализа $C_x \pm \Delta$, мкг/мл		79,81 \pm 0,36	

Разработаны методики контроля качества нового БАВ с выраженной антибактериальной и фунгицидной активностью с применением качественных и количественных методов анализа. Подлинность подтверждается УФ-спектром. По полученным данным раствор субстанции *n*-гексадецилтрифенилфосфония бромида имеет максимум поглощения при длине волны 267 ± 1 нм. Установлена возможность применения метода УФ-спектрофотометрии для количественной оценки субстанции БАВ С16 и разработана оптимальная методика. Результаты статистической обработки проведенных опытов свидетельствует о том, что расчет содержания по стандартному образцу более точный (ошибка $\pm 0,36\%$).

Выводы

1. Изучены физико-химические свойства субстанции *n*-гексадецилтрифенилфосфония бромида с выраженной антибактериальной и фунгицидной активностью, на основе которых установлена его подлинность по УФ-спектру.

2. Разработана методика количественного определения субстанции *n*-гексадецилтрифенилфосфония бромида в пересчете на РСО методом спектрофотометрии. Наименьшая относительная ошибка результата определения при расчете содержания БАВ С16 по стандартному образцу с доверительной вероятностью 95% ($\pm 0,36\%$).

Список литературы

1. Анасевич В.И. Синдромальная диагностика заболеваний молочной железы: руководство для врачей /

В.И. Анасевич, С.О. Юдин. – Владивосток, 2003. – 121 с.

2. Взаимодействие солей фосфония с липидными компонентами мембран / И.В. Галкина, Н.Б. Мельникова, Е.В. Тудрий и др. // Фармация. – 2009. – № 4. – С. 35–38.

3. Государственная Фармакопея СССР. – 11-е изд. – Т.1. – М.: Медицина, 1987. – 336 с.

4. Орлова О.В. Влияние новых четвертичных фосфониевых солей с высшими алкильными заместителями на проницаемость клеточных мембран для ионов натрия *in vitro* / О.В. Орлова, В.Н. Ослопов, С.А. Сидулина // Казанский медицинский журнал. – 2012. – Т. 93, № 3. – С. 505–507.

5. Шмидт В. Оптическая спектроскопия для химиков и биологов / В. Шмидт. – М.: Техносфера, 2007. – 368 с.

References

1. Anasevich V.I. Sindromal'naja diagnostika zabojevanij molochnoj zhelezy: rukovodstvo dlja vrachej / V.I. Anasevich, S.O. Judin. Vladivostok, 2003. 121 p.

2. Vzaimodejstvie solej fosfonija s lipidnymi komponentami membran / I.V. Galkina, N.B. Mel'nikova E.V. Tudrij i dr. // Farmacija. 2009. no. 4. pp. 35–38.

3. Gosudarstvennaja Farmakopeja SSSR, 11-e izd. T.1. M.: Medicina, 1987. 336 p.

4. Orlova O.V. Vlijanie novyh chetvertichnyh fosfonievych solej s vysshimi alkil'nymi zamestiteljami na pronicaemost' kletochnyh membran dlja ionov natrija *in vitro* / O.V. Orlova, V.N. Osloпов, S.A. Sidullina // Kazanskij medicinskij zhurnal. 2012. T. 93, no. 3. pp. 505–507.

5. Shmidt V. Opticheskaja spektroskopija dlja himikov i biologov. Moskva: Tehnosfera, 2007. 368 p.

Рецензенты:

Шакирова Д.Х., д.ф.н., профессор кафедры, УЭФ ГБОУ ВПО «КазГМУ», г. Казань;
Фролова О.А., д.м.н., профессор кафедры общей гигиены, ГБОУ ДПО «КазГМА», г. Казань.

Работа поступила в редакцию 04.04.2013.