

1 – ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 620028, Россия, г. Екатеринбург, ул. Репина, 3

2 – ФГАУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», 620002, Россия, г. Екатеринбург, ул. Мира, 19

1 – Ural State Medical University, Ministry of Healthcare, 3, Repin str., Yekaterinburg, 620028, Russia

2 – Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin, 19, Mira str., Yekaterinburg, 620002, Russia

* адресат для переписки:
E-mail: skosyreva.nataly@mail.ru
Тел.: 8 (912) 651-21-81

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СЕРЕБРА В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ СУБСТАНЦИИ «АРГАМИД»

Н.С. Скосырева^{1*}, Н.А. Малахова², С.Ю. Сараева², О.А. Мельникова¹, А.Ю. Петров¹

Резюме. В статье представлены данные по разработке методики количественного определения серебра в фармацевтической субстанции «Аргамид» на основе серебряной соли сульфадимидина. За основу выбран метод роданометрического титрования с потенциометрической индикацией конечной точки. Приведены результаты валидационной оценки методики.

Ключевые слова: серебряные соли сульфаниламидных препаратов, потенциометрическое титрование, валидация.

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF METHOD FOR POTENTIOMETRIC DETERMINATION OF SILVER IN PHARMACEUTICAL SUBSTANCE «ARGAMID»

N.S. Skosyreva^{1*}, N.A. Malakhova², S.Y. Saraeva², O.A. Melnikova¹, A.Y. Petrov¹

Abstract. The article presents data on the development of an assay method of silver in pharmaceutical substance «Argamid» based on silver salt sulfadimidine. The method is based on the rhodanometric titration with potentiometric indication of the final point. The results of the validation assessment of the method are shown.

Keywords: silver salts of sulfonamides, potentiometric titration, validation.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время российский фармацевтический рынок испытывает острую потребность в эффективных лекарственных препаратах отечественного производства для лечения инфицированных ран различной этиологии. Для решения данной проблемы на базе кафедры фармации УГМУ были синтезированы серебряные соли различных сульфаниламидных препаратов, обладающие противомикробным и ранозаживляющим действием (приоритетная справка на выдачу патента № 2015153574 от 14.12.2015). Результатом данной работы должна стать разработка нормативно-технической документации на фармацевтические субстанции и лекарственные препараты на основе данных солей, включающей важный раздел с методикой определения количественного содержания действующего вещества [1]. При этом согласно [2] необходимо включать в проект ФСП на фармацевтическую субстанцию отдельную методику количественного определения серебра, входящего в состав серебряной соли.

Одним из важнейших методов количественного определения серебра явля-

ется метод роданометрического титрования [3]. Детектировать конечную точку титрования (КТТ) можно двумя способами: визуально (с помощью железоммонийных квасцов) или потенциометрически. Метод потенциометрического установления КТТ по своим возможностям превосходит титриметрические методы с применением цветных индикаторов. Он обладает большей точностью, чувствительностью, позволяет анализировать окрашенные и мутные растворы, допускает возможность дифференцированного определения веществ в одном растворе и позволяет автоматизировать процесс титрования.

Указанный способ потенциометрического титрования регламентирован для определения серебра в серебряной соли существующего сульфаниламидного препарата – сульфадиазина [2].

Однако методика имеет ряд недостатков: в качестве индикаторного электрода используют дорогостоящий серебряный металлический электрод, требуется большая (0,5 г) масса навески субстанции дорогостоящей серебряной соли и длительное время для ее измельчения и растворения без нагревания (не менее 15 мин), что повышает как стоимость рутинного анализа, так

и его продолжительность за счет длительной стадии пробоподготовки.

Целью данного исследования является разработка экспрессной методики роданометрического определения серебра с потенциометрической индикацией КТТ в синтезированных солях сульфаниламидных препаратов с заменой дорогостоящего индикаторного серебряного металлического электрода на более дешевый отечественный аналог и ее валидационная оценка.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлась фармацевтическая субстанция «Аргамид» на основе серебряной соли сульфадимидина (содержание серебра от 27,72% до 28,28%). Для синтеза соли использовалась субстанция сульфадимидина (ЛСР-000140/09).

В работе использовали следующие реактивы и растворы:

- азотная кислота, х.ч. (ООО «АО Реахим», Россия);
- аммоний роданистый, х.ч., массовая доля NH_4SCN не менее 99,5%, (ООО «АО Реахим», Россия).

Все растворы готовили на деионизированной воде, полученной на комбинированной мембранной установке серии ДВС-М/1НА(18)-N («Медиана-Фильтр», г. Москва, Россия).

Титрование проводилось с использованием иономера «Эксперт-pH» (ООО «Эконикс-эксперт», г. Москва, Россия) с функцией измерения ЭДС и интерфейсом RS-232 для измерения потенциала.

В качестве индикаторных были использованы: дисковый серебряный электрод (ДЭ-Аг) с диаметром диска 2 мм, кат. № 6.1204.130 (Metrohm, Швейцария), и толстопленочные электроды на основе серебросодержащей пасты ПСХП-1 (ТЭ-Аг) (ООО «НПП Дельта-пасты», г. Зеленоград, Россия), изготовленные методом трафаретной печати ООО «НПП «ЭкоБиоТест» (УрФУ, г. Екатеринбург, Россия) (рисунок 1).

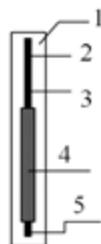


Рисунок 1. Общий вид ТЭ-Аг

- 1 – подложка из стеклотекстолита
- 2 – дорожка из серебросодержащей пасты
- 3 – контактная зона электрода
- 4 – изолирующее покрытие
- 5 – рабочая зона электрода

Электродом сравнения служил двухключевой хлоридсеребряный электрод ($\text{Ag}/\text{AgCl}/3,5\text{M KNO}_3$) ЭСр-10107 (ООО «Измерительная техника», г. Москва, Россия).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При разработке методики за основу был взят метод роданометрического определения серебра с потенциометрической регистрацией КТТ, регламентированный Фармакопеей США (USP). Согласно регламенту пробоподготовку осуществляют следующим образом: точную навеску серебряной соли сульфадиазина массой 500 мг помещают в стакан, прибавляют 150 мл воды и 50 мл 3 М азотной кислоты и растирают в течение 15 мин. Титруют потенциометрически 0,1 М раствором тиоционата калия, используя ДЭ-Аг и двухключевой электрод сравнения [2].

Растирание указанной навески синтезированной нами субстанции «Аргамид» в растворе азотной кислоты рекомендуемой концентрации не обеспечивает полноты растворения пробы. Нагревание навески субстанции в растворе 3 М азотной кислоты на плитке при 100 °С позволило добиться полноты вскрытия пробы и сократить время пробоподготовки в 2,5 раза (5–7 мин вместо 15 мин). Однако в процессе титрования ионов серебра в растворе 3 М азотной кислоты серебряный стержень дискового индикаторного электрода подрастворяется в течение одного определения, что делает его непригодным для дальнейшего использования без дополнительной процедуры механической срезки и полировки поверхности. Помимо экономического ущерба ввиду высокой стоимости материала электрода, это существенно увеличивает время анализа. Кроме того, неконтролируемое растворение материала индикаторного электрода в процессе титрования может приводить к систематическому завышению результатов анализа.

Для оптимизации пробоподготовки масса навески дорогостоящей субстанции серебряной соли сульфадимидина была снижена в 10 раз (0,05 г). Путем последовательного растворения пробы в растворах азотной кислоты различной концентрации (от 3 моль/л и ниже) при 100 °С было установлено, что снижение концентрации азотной кислоты до 0,1 моль/л незначительно увеличивает время растворения пробы при нагревании и способствует полному растворению пробы (таблица 1). Таким образом, концентрация растворителя была снижена в 30 раз. Используемые ТЭ-Аг в подобранных условиях сохраняют рабочие характеристики в течение 5 определений, а ДЭ-Аг – в течение 3 определений при условии механической полировки поверхности.

В результате исследований была разработана следующая методика.

Около 0,05 г (точная навеска) субстанции растворяют в 15 мл 0,1 М азотной кислоты, взятой с помощью градуированной пипетки (ГОСТ 29227-91), в круглодонной колбе емкостью 50 мл. Колбу соединяют с обратным холодильником и кипятят до растворения осад-

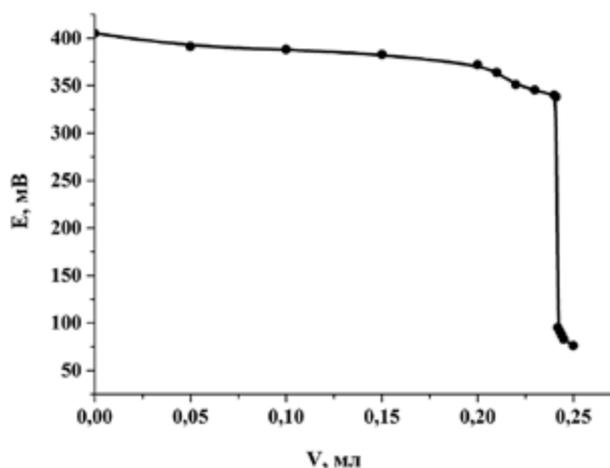
ка (в течение 5–7 мин). При небольшой интенсивности кипения обратный холодильник обеспечивает отсутствие значимых потерь. После охлаждения раствора аликвоту 2,5 мл титруют потенциометрически 0,1 М раствором роданида калия (или роданида аммония). 1 мл 0,1 М раствора роданида соответствует 10,79 мг серебра.

Таблица 1.

Результаты оптимизации условий пробоподготовки

Концентрация раствора HNO_3 , М	Результаты обработки пробы при массе навески 0,05 г и нагревании до 100 °С		Количество возможных параллельных определений на одном электроде	
	Время растворения пробы, мин	Степень растворения пробы	ДЭ-Аг	ТЭ-Аг
3,0	2–3	Полное растворение	1	1
1,5	3–5	Полное растворение	1–2	1
0,7	4–6	Полное растворение	2–3	3
0,1	5–7	Полное растворение	3	5

В субстанции «Аргамид» (серебряной соли сульфадимидина) должно быть найдено не менее 27,72% и не более 28,28% серебра.



По полученным результатам потенциометрического титрования серебра в субстанции «Аргамид» строили интегральные и дифференциальные кривые титрования (рисунок 2).

ВАЛИДАЦИЯ

Валидацию разработанной методики потенциометрического определения серебра проводили по всем требуемым характеристикам: специфичности, аналитической области, линейности, правильности, прецизионности (повторяемости) – в соответствии с ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» [4]. Статистическая обработка полученных результатов проводилась в соответствии с ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента» [4].

Специфичность

Для подтверждения специфичности титровали растворитель – 0,1 М азотную кислоту, являющуюся «плацебо», по вышеописанной методике. Во всех опытах отсутствовал скачок потенциала, характерный для титрования серебра раствором роданида аммония, что подтверждает специфичность методики.

Линейность

Для установления линейной зависимости между количеством определяемого вещества в анализируемой пробе и расходом титранта проводили статистическую обработку выборки, полученной в результате количественного анализа навесок на девяти уровнях концентрации (в диапазоне 80–120% с шагом 5% от количества исследуемого вещества, принятого за 100%, – 0,05 г) в трех параллелях для каждой (n=27). В результате статистической обработки полученных данных (таблица 2) был построен график зависимости объема

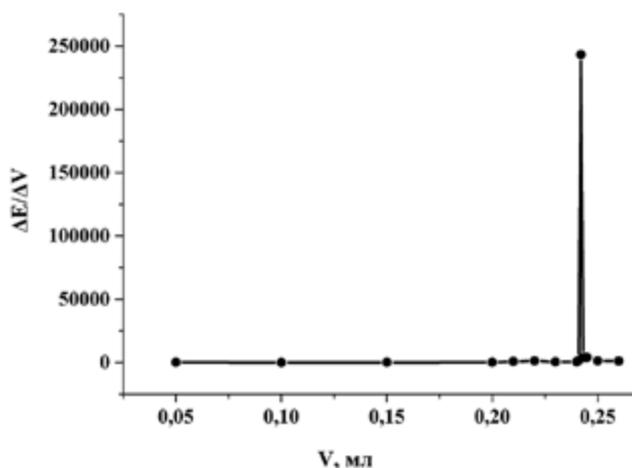


Рисунок 2. Интегральная (1) и дифференциальная (2) кривые потенциометрического титрования раствора сульфадимидина серебра 0,1 М раствором роданида аммония

титранта от количества исследуемого вещества (рисунок 3).

Как следует из представленных результатов, график зависимости объема 0,1 М раствора роданида аммония, затрачиваемого на титрование серебра, прямо пропорционально зависит от массы навески субстанции «Аргамид», используемой в опыте. Коэффициент корреляции – более 0,99.

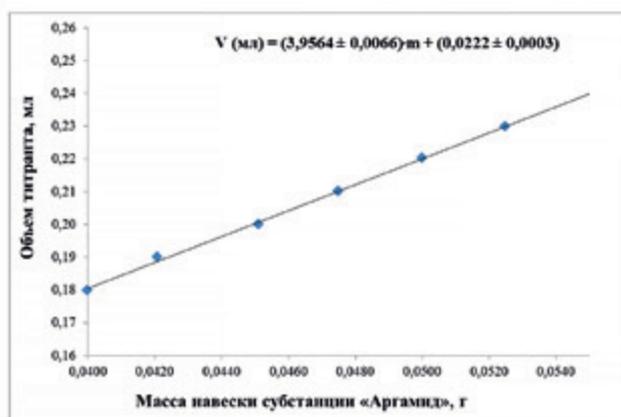


Рисунок 3. График линейной зависимости объема 0,1 М раствора роданида аммония от массы субстанции «Аргамид»

Таблица 2.

Результаты статистической обработки экспериментальных данных, полученных при изучении линейной зависимости $y=bx+a$

Статистические характеристики	Результаты
Уравнение прямой	$y=3,9564x+0,0222$
Угловой коэффициент линейной зависимости (b)	3,9564
Свободный член линейной зависимости (a)	0,0222
Среднее значение массы навески, г	0,0500
Среднее значение объема титранта, мл	0,22
Табличное значение критерия Стьюдента $t_{\text{табл}}$ (P=95%, f=n-2=25)	2,06
Доверительный интервал Δa	0,0003
Доверительный интервал Δb	0,0066
Дисперсия s_0^2	0,00000019
Коэффициент корреляции r	0,9997

Правильность

Исследовались растворы 3 концентраций (80, 100 и 120%) в 3 параллелях для каждой (n=9). Оценка проводилась путем расчета процента определения

известной концентрации (отклик), стандартного отклонения, коэффициента вариации (КВ, относительное стандартное отклонение среднего результата) и доверительного интервала среднего значения (таблицы 3, 4).

Таблица 3.

Результаты установления правильности методики

Уровень концентрации, %	Навеска субстанции «Аргамид», г	Объем титранта, мл	Найденное содержание серебра, %	Отклик, %
80	0,0401	0,17	27,90	99,64
	0,0401	0,17	27,91	99,68
	0,0402	0,18	28,06	100,22
100	0,0502	0,22	28,00	100,00
	0,0501	0,22	28,04	100,14
	0,0503	0,22	28,06	100,21
120	0,0602	0,26	27,89	99,61
	0,0603	0,26	27,92	99,70
	0,0604	0,26	27,93	99,75

Таблица 4.

Результаты статистической обработки экспериментальных данных, полученных при изучении правильности (P=95%)

Статистические характеристики	Результаты
Среднее значение, %	99,88
Стандартное отклонение	0,26
КВ, %	0,09
Нижняя граница доверительного интервала среднего результата, %	99,68
Верхняя граница доверительного интервала среднего результата, %	100,08

Как видно из таблицы 4, коэффициент вариации составляет менее 2,0%. Среднее значение составило 99,88% и находится внутри регламентированного диапазона 99–101% [4, 5]. Доверительный интервал среднего результата анализа включает 100%-е значение.

**Прецизионность
[повторяемость (сходимость)]**

Для оценки прецизионности проводили оценку 6 проб при 100%-й концентрации действующего вещества (n=6). Полученные результаты представлены в таблицах 5 и 6.

Таблица 5.

Результаты установления повторяемости (сходимости) методики

Обозначение пробы	Навеска субстанции «Аргамид», г	Объем 0,1 М NH ₄ SCN, мл	Найденное содержание серебра, %
Проба 1	0,0496	0,22	27,78
Проба 2	0,0499	0,22	27,87
Проба 3	0,0498	0,22	27,93
Проба 4	0,0501	0,22	28,02
Проба 5	0,0502	0,22	27,96
Проба 6	0,0503	0,22	28,03

Таблица 6.

Результаты статистической обработки экспериментальных данных, полученных при изучении повторяемости (сходимости)

Статистические характеристики	Результаты
Наименьшее значение, %	27,78
Наибольшее значение, %	28,03
Среднее значение \bar{x} , %	27,93
Стандартное отклонение среднего результата	0,094
КВ, %	0,14
Граничные значения доверительного интервала среднего результата ($\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$)	27,93 \pm 0,10

Коэффициент вариации менее 1,5% (при n=6).

Аналитическая область методики

В рамках выбранного диапазона концентраций (от 80 до 120%) была доказана правильность, прецизионность и линейность методики.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработана экспрессная методика количественного определения серебра в фармацевтической субстанции «Аргамид» методом роданометрического титрования с потенциометрической индикацией КТТ. Обоснованность методики подтверждена результатами определения таких валидационных характеристик, как специфичность, аналитическая область, линейность, правильность и прецизионность. Для каждого из выполненных тестов получены положительные результаты. Данная методика может быть рекомендована к включению в нормативно-техническую документацию для контроля качества разрабатываемого лекарственного средства.

ЛИТЕРАТУРА

1. Правила составления, изложения и оформления стандартов качества на фармацевтические субстанции: Методические рекомендации. – М. 2009. 68 с.
2. Фармакопея США: USP 29; Национальный формуляр: NF24: в 2 т.: пер. с англ. Т. 1. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. 1720 с.
3. И.В. Пятницкий, В.В. Сухан. Аналитическая химия серебра. – М.: Наука. 1975. 264 с.
4. Государственная фармакопея Российской Федерации, XIII издание: в 3 т. – М.: ФЭМБ, 2015.
5. Валидация аналитических методик для производителей лекарств: Типовое руководство предприятия по производству лекарственных средств / Под ред. В.В. Береговых. – М.: Литерра, 2008. 132 с.