

УДК 615.451.234.014.425:543.422.3:547.562.4

## Спектрофотометрическое определение медиборола в масляных растворах

**В.А. Шелехова<sup>а</sup>,**

**М.Б. Плотников<sup>б</sup>, Е.А.Краснов<sup>а\*</sup>**

<sup>а</sup> *Сибирский государственный медицинский университет  
Минздравсоцразвития РФ*

*Россия 634050, Томск, ул. Московский тракт, 2*

<sup>б</sup> *ГУ НИИ фармакологии Томского научного центра СО РАМН  
Россия 634028, Томск, пр. Ленина, 3<sup>1</sup>*

Received 3.06.2011, received in revised form 10.06.2011, accepted 17.06.2011

*В настоящей работе предложено УФ-спектрофотометрическое количественное определение медиборола в масляных растворах, которое основано на методе Фирордта и не требует предварительного отделения активного вещества от компонентов масел. Валидация разработанной методики показала, что зависимость истинного от найденного значения содержания медиборола в диапазоне концентраций 1,6 – 2,4 % имеет линейный характер с коэффициентами корреляции  $R^2=0,999$  для раствора в персиковом масле и  $R^2=0,995$  – в оливковом. Правильность находится в пределах от 98,72 до 100,83 % и от 98,64 до 101,11 % для растворов медиборола в персиковом и оливковом маслах, соответственно. Относительная погрешность определения медиборола составляет от 2,09 до 2,81 %.*

*Ключевые слова: медиборол, масляный раствор, метод Фирордта, спектрофотометрия, валидация.*

### Введение

Существенный рост частоты заболеваемости ишемическим инсультом определяет необходимость создания и применения новых лекарственных препаратов для его лечения. Поскольку одним из основных механизмов повреждения клеток при данном заболевании является оксидантный стресс, то в современной терапии нарушений мозгового кровообращения актуально применение нейропротекторных средств, обеспечивающих метаболическую защиту головного мозга [1].

Перспективным нейропротектором считается новое фармакологически активное вещество 4-метил-2,6-диизоборнилфенол (медиборол), которое было синтезировано в Институте химии

\* Corresponding author E-mail address: krasnov.37@mail.ru

<sup>1</sup> © Siberian Federal University. All rights reserved

Коми НЦ УрО РАН [2]. Фармакологическая активность представителей пространственно-затрудненных фенолов, в том числе медиборолы (диборнолы), исследована в работе [3], в которой показано, что медиборол проявляет антирадикальную, антиромбогенную, гемореологическую, нейропротекторную, умеренную антигипоксическую активность в сочетании с низкой токсичностью. Исследования, выполненные в Сибирском государственном медицинском университете, привели к разработке проекта фармакопейной статьи на субстанцию медиборолы. В НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН была выявлена высокая биодоступность масляных растворов медиборолы.

Таким образом, актуально создание лекарственной формы медиборолы на основе растительного масла и разработка параметров её стандартизации. Цель данного исследования – разработка и валидация спектрофотометрической методики определения содержания медиборолы в масляных растворах с использованием метода Фирордта.

### Материалы и методы

Для получения масляных растворов медиборолы применяли рафинированные масла – персиковое (ТПК «Ароматы Жизни», Россия) и оливковое («Trasimeno» S.p.A, Италия). Плотность 2 %-го масляного раствора медиборолы определяли с помощью пикнометра [4]. Она составляет 0,917 и 0,920 г/см<sup>3</sup> для 2 %-го раствора медиборолы в оливковом и персиковом маслах соответственно. При приготовлении растворов для спектрофотометрии использовали изопропанол марки «ХЧ» (ОАО «Шосткинский завод химических реактивов», Украина).

Методика приготовления исследуемого раствора: около 0,3 г (точная навеска) масляного раствора медиборолы помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляли 20 мл изопропанола, перемешивали до полного растворения и доводили изопропанолом до метки (раствор А). 5 мл раствора А переносили в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили изопропанолом до метки (раствор Б).

Методика приготовления стандартного раствора: около 0,05 г (точная навеска) медиборолы помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 50 мл изопропанола, перемешивали до полного растворения и доводили изопропанолом до метки (раствор В). 5 мл раствора В переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводили изопропанолом до метки (раствор Г).

Оптические плотности растворов Б и Г измеряли на спектрофотометре СФ-2000-02 (Россия) в кюветках с толщиной слоя 1 см, используя в качестве раствора сравнения изопропанол. Содержание медиборолы ( $X$ ) в процентах в масляном растворе вычисляли по формуле

$$X = \frac{(A^{\lambda_2} - n \cdot A^{\lambda_1} - (1-n) \cdot A^{\lambda_3}) \cdot m_{st} \cdot 5 \cdot 25 \cdot 25 \cdot \rho}{(A_{st}^{\lambda_2} - n \cdot A_{st}^{\lambda_1} - (1-n) \cdot A_{st}^{\lambda_3}) \cdot 100 \cdot 50 \cdot m \cdot 5} \cdot 100 =$$

$$= \frac{(A^{\lambda_2} - n \cdot A^{\lambda_1} - (1-n) \cdot A^{\lambda_3}) \cdot m_{st} \cdot 12,5 \cdot \rho}{(A_{st}^{\lambda_2} - n \cdot A_{st}^{\lambda_1} - (1-n) \cdot A_{st}^{\lambda_3}) \cdot m},$$

где  $A^{\lambda_1}$ ,  $A^{\lambda_2}$ ,  $A^{\lambda_3}$  – оптические плотности исследуемого раствора при длинах волн  $\lambda_1$ ,  $\lambda_2$ ,  $\lambda_3$ , соответственно;

$A_{st}^{\lambda_1}$ ,  $A_{st}^{\lambda_2}$ ,  $A_{st}^{\lambda_3}$  – оптические плотности стандартного раствора при длинах волн  $\lambda_1$ ,  $\lambda_2$ ,  $\lambda_3$  соответственно;

$n$  – коэффициент, который находят по уравнению  $n = \frac{\lambda_3 - \lambda_2}{\lambda_3 - \lambda_1}$ ;

$m$  – масса навески масляного раствора медиборолы, г;

$m_{st}$  – масса навески медиборолы для приготовления стандартного раствора, г;

$r$  – плотность 2 %-го масляного раствора медиборолы, г/мл.

Численная модель метода Фирордта и метод наименьших квадратов были реализованы в среде LabVIEW 7 [5].

### Результаты и их обсуждение

Прямая спектрофотометрия не позволяет точно определять концентрацию медиборолы в масляном растворе, поскольку поглощения медиборолы и компонентов масла в ультрафиолетовой области спектра существенным образом перекрываются. Анализ веществ в многокомпонентных смесях, спектры которых перекрываются, без предварительного разделения компонентов основывается на методе Фирордта [6-9].

В работе [5] разработана спектрофотометрическая методика количественного определения медиборолы в растворах оливкового и персикового масел с использованием метода Фирордта и метода наилучшей подгонки. В настоящей работе усовершенствована указанная методика, и, в отличие от [5], пробоподготовка упрощена, исключались следующие этапы работы: экстракция при нагревании и фильтрование; кроме того, проведена валидация разработанной методики.

При подготовке растворов для измерения оптической плотности в работе [5] частично отфильтровывались компоненты масла. При проведении данного исследования операция фильтрования исключалась, что привело к сдвигу аналитических длин волн только для раствора медиборолы в персиковом масле, поэтому для данного раствора были выбраны следующие длины волн:  $\lambda_1=276$ ,  $\lambda_2=282$  и  $\lambda_3=290$  нм. Для раствора медиборолы в оливковом масле они не изменились и составили  $\lambda_1=275$ ,  $\lambda_2=284$  и  $\lambda_3=288$  нм.

Валидацию методики проводили согласно официальным рекомендациям [10, 11]. Оценку разработанной методики осуществляли по следующим параметрам: линейность, правильность, внутренняя (повторяемость) и промежуточная прецизионность.

Определение линейности методики выполняли на пяти уровнях концентраций от теоретического значения содержания медиборолы в масляном растворе. Исследуемые растворы готовили по вышеописанной методике из модельных масляных растворов медиборолы, имеющих следующие концентрации основного вещества: 1,6 %, 1,8 %, 2,0 %, 2,2 %, 2,4 %. Критерием приемлемости линейности является коэффициент корреляции ( $R^2$ ). Для раствора медиборолы в персиковом масле он равен 0,999, и уравнение зависимости истинного от найденного значения концентрации медиборолы в растворе имеет вид  $y=0,924x+0,144$ . А для раствора медиборолы в оливковом масле коэффициент корреляции  $R^2$  линейного регрессионного графика составляет 0,995 при  $y=1,0145x-0,0226$ . Поэтому интервал 1,6 % – 2,4 % можно определить как аналитическую область методики. Линейность методики количественного определения содержания медиборолы в масляных растворах представлена на рис. 1 и 2.

Повторяемость (внутренняя прецизионность) устанавливали на 2 %-х масляных растворах медиборолы по шести определениям (табл. 1 и 2). Относительная погрешность определения

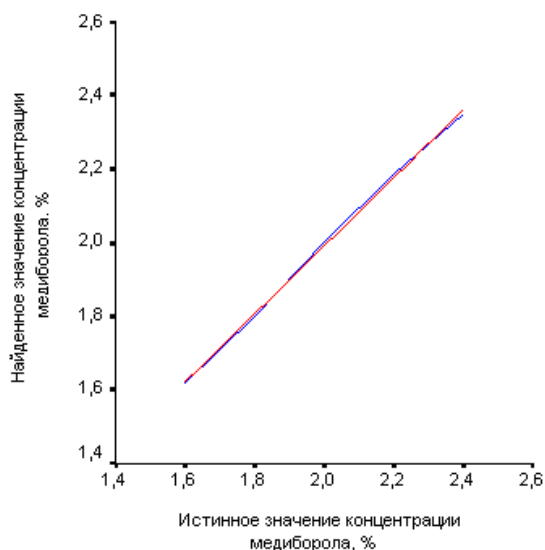


Рис. 1. Зависимость истинного от найденного значения концентрации медиборолы в растворе персикового масла

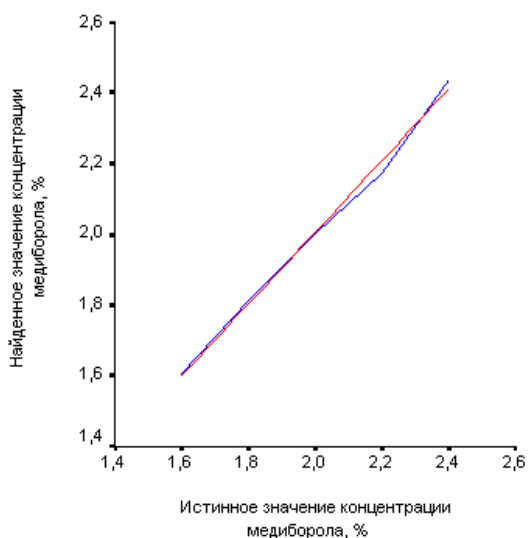


Рис. 2. Зависимость истинного от найденного значения концентрации медиборолы в растворе оливкового масла

медиборолы, в зависимости от характера используемого растительного масла в качестве растворителя, составляет от 2,09 до 2,36 %.

Промежуточная прецизионность отражает внутрिलाбораторную изменчивость. Данный параметр устанавливали путем анализа 2 %-х масляных растворов медиборолы при шести повторностях в другой день (табл. 1 и 2). Полученные результаты показывают, что методика воспроизводима, так как относительная погрешность определения медиборолы в первый и второй дни анализа находится в диапазоне от 2 до 3 %.

Правильность методики определяли на трех уровнях концентраций от теоретического значения содержания медиборолы в масляном растворе, т.е. использовали для оценки данного параметра модельные масляные растворы с содержанием медиборолы 1,8 %, 2,0 %, 2,2 %. Критерием приемлемой правильности является процент восстановления при использовании растворов заданных концентраций, скорректированный на 100 %. Как видно из табл. 3 и 4, процент восстановления составляет в среднем 99,83 и 99,84 % для растворов медиборолы в персиковом и оливковом маслах соответственно.

Таким образом, предложенная спектрофотометрическая методика позволяет определить содержание медиборолы в масляных растворах в присутствии компонентов масел. В ходе исследований установлено, что данная методика проста, доступна, не требует дорогостоящих реактивов, а также позволяет получать результаты с требуемой точностью.

## Выводы

1. Разработана методика количественного определения медиборолы в масляных растворах с использованием метода Фирордта, которая не требует предварительного отделения активного вещества от компонентов масел.

Таблица 1. Определение внутренней и промежуточной прецизионности методики определения содержания медиборолы в растворе на персиковом масле

№	1-й день определения		2-й день определения	
	Масса навески, г	Содержание медиборолы в масляном растворе, %	Масса навески, г	Содержание медиборолы в масляном растворе, %
1	0,2958	2,014	0,2974	2,075
2	0,3040	2,031	0,2953	2,007
3	0,2986	2,003	0,2947	1,974
4	0,2994	1,990	0,2919	1,965
5	0,2961	1,912	0,2934	2,030
6	0,3028	2,033	0,2960	1,923
	Метрологическая характеристика		Метрологическая характеристика	
	$X = 1,997$ $S^2 = 0,002010167$ $S = 0,044835$ $S_x = 0,018304$ $P = 0,95$ $T(P,f) = 2,571$ $\Delta X = 0,047$ $X \pm \Delta X = 1,997 \pm 0,047$ $\varepsilon = 2,36 \%$		$X = 1,996$ $S^2 = 0,002858267$ $S = 0,053463$ $S_x = 0,021826$ $P = 0,95$ $T(P,f) = 2,571$ $\Delta X = 0,056$ $X \pm \Delta X = 1,996 \pm 0,056$ $\varepsilon = 2,81 \%$	

Таблица 2. Определение внутренней и промежуточной прецизионности методики определения содержания медиборолы в растворе на оливковом масле

№	1-й день определения		2-й день определения	
	Масса навески, г	Содержание медиборолы в масляном растворе, %	Масса навески, г	Содержание медиборолы в масляном растворе, %
1	0,3006	2,033	0,2993	2,026
2	0,2968	2,002	0,2984	1,943
3	0,2989	2,015	0,2936	2,025
4	0,2990	2,088	0,3065	1,918
5	0,2979	1,993	0,2946	1,959
6	0,3027	1,973	0,2928	1,960
	Метрологическая характеристика		Метрологическая характеристика	
	$X = 2,017$ $S^2 = 0,001607467$ $S = 0,040093$ $S_x = 0,016368$ $P = 0,95$ $T(P,f) = 2,571$ $\Delta X = 0,042$ $X \pm \Delta X = 2,017 \pm 0,042$ $\varepsilon = 2,09 \%$		$X = 1,972$ $S^2 = 0,001958967$ $S = 0,04426$ $S_x = 0,018069$ $P = 0,95$ $T(P,f) = 2,571$ $\Delta X = 0,046$ $X \pm \Delta X = 1,972 \pm 0,046$ $\varepsilon = 2,36 \%$	

Таблица 3. Оценка правильности методики определения содержания медиборолы в растворе на персиковом масле

Ожидаемое содержание медиборолы в масляном растворе, %	Полученное содержание медиборолы в масляном растворе, %	Процент восстановления, %	Средний процент восстановления, % (n=3)	Относительное стандартное отклонение, % (RSD)
1,800	1,806	100,33	99,96	1,103
	1,777	98,72		
	1,815	100,83		
2,000	2,014	100,70	100,45	0,277
	2,003	100,15		
	1,990	100,50		
2,200	2,182	99,18	99,39	0,536
	2,200	100,00		
	2,178	99,00		
Средний процент восстановления (n=9) = 99,83 % (RSD=0,778)				

Таблица 4. Оценка правильности методики определения содержания медиборолы в растворе на оливковом масле

Ожидаемое содержание медиборолы в масляном растворе, %	Полученное содержание медиборолы в масляном растворе, %	Процент восстановления, %	Средний процент восстановления, % (n=3)	Относительное стандартное отклонение, % (RSD)
1,800	1,820	101,11	100,65	0,501
	1,802	100,11		
	1,813	100,72		
2,000	2,002	100,10	100,17	0,552
	2,015	100,75		
	1,993	99,65		
2,200	2,170	98,64	98,79	0,190
	2,172	98,73		
	2,178	99,00		
Средний процент восстановления (n=9) = 99,84 % (RSD=0,921)				

2. Установлены параметры линейности, внутренней и промежуточной прецизионности и правильности разработанной методики. Методика показала линейную характеристику для масляных растворов медиборолы при концентрациях от 1,6 до 2,4 % ( $R^2=0,999$  и  $R^2=0,995$ ). Правильность находится в пределах от 98,72 до 100,83 % и от 98,64 до 101,11 % для растворов медиборолы в персиковом и оливковом маслах соответственно. Относительная погрешность определения медиборолы, в зависимости от характера используемого растительного масла в качестве растворителя, составляет от 2,09 до 2,81 %.

### Список литературы

1. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. М.: Медицина, 2001. 328 с.
2. Чукичева И.Ю., Кучин А.В. Природные и синтетические терпенофенолы // Российский химический журнал. 2004. Т. 48, № 3 С. 21-37.
3. Иванов И.С. Нейропротекторная и антиромбогенная активность 4-метил-2,6-диизоборнилфенола: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Томск, 2009. 23 с.
4. Государственная фармакопея Российской Федерации. Часть 1. 12-е изд. М.: Научный центр экспертизы средств медицинского применения, 2008. 704 с.
5. Краснов Е.А., Шелехова В.А. Методика количественного определения медиборола в лекарственном препарате // Бюллетень сибирской медицины. 2011. Т. 10, №5.
6. Берштейн И.Я., Каминский Ю.Л. Спектрофотометрический анализ в органической химии. Л.: Химия, 1975. 232 с.
7. Илларионова Е.А., Теплых А.Н. Применение модифицированного метода Фирордта в анализе таблеток «Ибуклин» // Сибирский медицинский журнал. 2008. № 8. С. 29-32.
8. Проскурнин М.А., Волков М.Е. Применение метода Фирордта в термолинзовой спектрометрии для определения компонентов двухкомпонентных смесей // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2000. Т. 41, № 3. С. 182-185.
9. Саушкина А.С., Карпенко В.А. Совершенствование количественного анализа препарата «Олазоль» // Химико-фармацевтический журнал. 2005. Т. 39, № 11. С. 54-56.
10. ICH (1995) International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Guideline for Industry. Text on Validation of Analytical Procedures (Q2A) [Электронный ресурс]. – Электрон. дан. – Режим доступа: [http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatory Information/Guidances/UCM073381.pdf/](http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM073381.pdf/). – Загл. с экрана.
11. ICH (1996) International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Guideline for Industry. Validation of Analytical Procedures: Methodology (Q2B) [Электронный ресурс]. – Электрон. дан. – Режим доступа: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatory Information/Guidances/UCM073384.pdf/>. – Загл. с экрана.

## **Spectrophotometric Determination of Mediborol in its Oil Solutions**

**Vera A. Shelekhova<sup>a</sup>,  
Mark B. Plotnikov<sup>b</sup> and Efim A. Krasnov<sup>a</sup>**

*<sup>a</sup> Siberian State Medical University  
2 Moscovski Trakt st., Tomsk, 634050 Russia*

*<sup>b</sup> Institute of Pharmacology, Tomsk Scientific Center,  
Siberian Branch, Russian Academy of Medical Sciences  
3 Lenin Avenue, Tomsk, 634028 Russia*

---

*The present study suggests the UV-spectrophotometric assay of mediborol in its oil solutions, which is based on the Firordt's method and does not require previous separation of the active substance from the oil components. The validation data of the developing method showed that the dependence of real content from observed content of mediborol in the concentration range 1,6 – 2,4 % is linear with correlation coefficients of  $R^2 = 0,999$  for the solution in peach oil and  $R^2 = 0,995$  – in the olive. Accuracy is in the range of 98,72 to 100,83 % and from 98,64 to 101,11 % for mediborol's solutions in peach and olive oils, respectively. The relative error in determination of mediborol ranges from 2,09 to 2,81 %.*

*Keywords: mediborol, oil solution, the Firordt's method, spectrophotometry, validation.*

---