

УДК

## О ВЫБОРЕ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ МЕТИЛПАРАГИДРОКСИБЕНЗОАТА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПРОЦЕДУРЫ ВАЛИДАЦИИ

© 2005 г. М.А.Сумцов, А.В.Титова, Н.П.Садчикова

*ИКЛС ФГУ “НЦЭСМП” МЗ РФ, Москва  
НИИ Фармации ММА им И.М.Сеченова, Москва*

С помощью процедуры валидации изучены две методики количественного определения метилпарагидроксибензоата, описанные в Eur.Ph. и Br.Ph. (методика 1) и USP и ФС 42-1460-80 “Нипагин”. Установлено, что первая методика, в основе которой лежит титрование избытка щелочи, не пошедшей на гидролиз метилпарагидроксибензоата, является точной и правильной и имеет линейный характер зависимости между навеской испытуемого вещества и количеством титранта. Вторая методика, основанная на бромировании продуктов гидролиза метилпарагидроксибензоата и титровании избытка бромата йодометрически, отягощена систематической ошибкой за счет адсорбции йода, используемого в качестве титранта, с образующимися после бромирования конгломератами.

### ВВЕДЕНИЕ

Метилпарагидроксибензоат (далее МПГБ) широко используется в качестве консерванта при изготовлении различных отечественных и зарубежных лекарственных препаратов. Контроль его качества осуществляется по фармакопее США (далее Ф.США) [1], Британской (далее БФ) [2] и Европейской фармакопее (далее ЕФ) [3], в России – по ФС 42-1460-89 “Нипагин” (далее ФС). Сравнительный анализ указанных документов показал, что они различаются по показателям качества, методикам анализа и допустимым нормам отклонения и нуждаются в гармонизации.

В настоящей статье рассмотрен вопрос выбора и гармонизации методик количественного определения МПГБ, описанных в указанных фармакопейных статьях.

В основе фармакопейных методик количественного определения МПГБ лежит метод титриметрии, но основанный на разных реакциях. Метод, включенный в зарубежные фармакопеи [1, 2, 3], представляет собой потенциометрическое титрование избытка щелочи, используемой для гидролиза МПГБ до парагидроксибензойной кислоты. В основе отечественной методики лежит способность парагидроксибензойной кислоты, образующейся в результате щелочного гидролиза МПГБ, бромироваться; избыток брома определяется йодометрическим титрованием.

Целью настоящего исследования является сравнительная оценка методик количественного определения МПГБ, описанных в указанных документах.

### МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Методика 1 (Ф.США, БФ, ЕФ): около 2,000 г (точная навеска) вещества помещают в термостойкую колбу и прибавляют 40,0 мл 1 М раствором натра едкого. Нагревают с обратным холодильником в течение 1 ч, охлаждают и промывают конденсат водой. Избыток раствора натра едкого титруют 0,5 М раствором серной кислоты потенциометрически, регистрируя второй скачек на потенциометрической кривой.

Методика 2 (ФС): около 0,1 г (точная навеска) вещества помещают в колбу с притертой пробкой вместимостью 200 мл, растворяют в 5 мл раствора кали едкого, прибавляют 5 мл воды и кипятят с обратным холодильником на водяной бане в течении 30 мин. Охлаждают, прибавляют 50 мл 0,1 н. раствора калия бромата, 15 мл 20% раствора калия бромида и 20 мл кислоты серной разведенной, закрывают пробкой и оставляют на 15 мин при периодическом перемешивании. Затем прибавляют 5 мл свежеприготовленного 20% раствора калия йодида, снова закрывают пробкой, перемешивают, оставляют в защищенном от света месте на 15 мин и выделившийся йод титруют 0,1 н. раствором натрия тиосульфата (индикатор – крахмал).

В обеих методиках предусмотрено проведение контрольного опыта.

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

При выполнении методики 1, установлено, что на потенциометрической кривой контрольного опы-

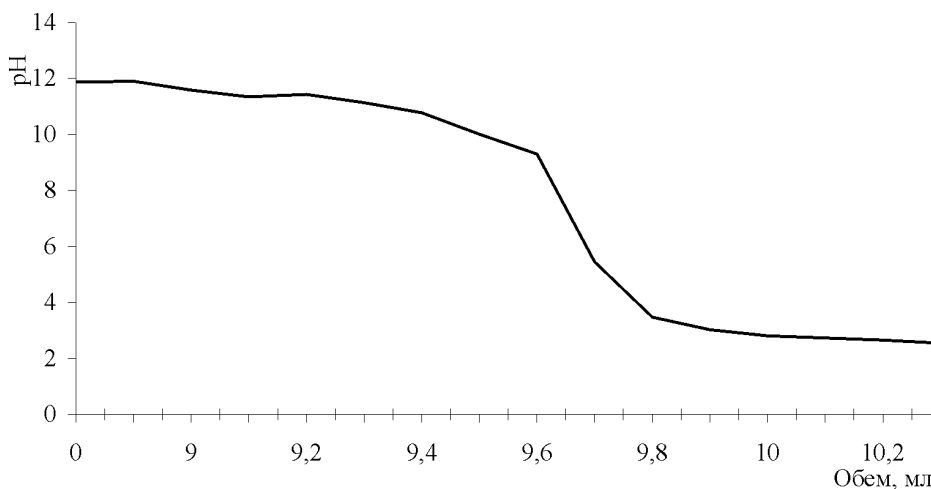


Рис. 1. Зависимость между pH 1 М раствора натрия едкого и объемом 0,5 М раствора серной кислоты.

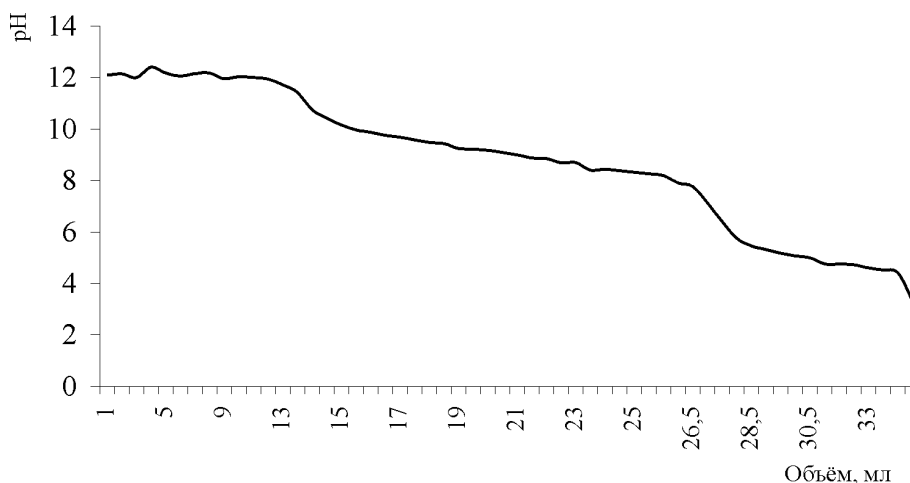


Рис. 2. Зависимость между pH раствора МПГБ после щелочного гидролиза и объемом 0,5 М раствора серной кислоты.

та имеется только один скачек в области pH от 9 до 3 (рис.1). Параллельно была построена кривая потенциометрического титрования МПГБ по методике, имитирующей фармакопейную методику: 2,006 г МПГБ поместили в термостойкую колбу вместимостью 250 мл, прибавили 40 мл 1 М раствора натрия едкого и нагревали с обратным холодильником в течение одного часа. После охлаждения холодильник промыли 10 мл воды. Избыток 1 М раствора натрия едкого титровали 0,5 М раствором кислоты серной потенциометрически. На полученной потенциометрической кривой зафиксировано два скачка при pH от 11,9 до 10,2 и от 7,8 до 5,8 (рис.2).

Учитывая отсутствие двух скачков при холостом титровании, было решено рассмотреть вопрос о возможности применения индикатора для регистрации точки эквивалентности. С этой целью были изучены индикаторы, наиболее часто используемые для кислотно-щелочного титрования: фенолфталеин, метиловый оранжевый и метиловый красный.

Известно, что одним из требований к индикатору при его оценке пригодности для регистрации точки эквивалентности при титровании является интервал перехода окраски красителя. С этой точки зрения наиболее оптимальным из рассматриваемых индикаторов является метиловый красный, имеющий переход окраски в области pH от 4,2 до 6,2. Экспериментально подтверждено, что второй перегиб на потенциометрической кривой и изменение окраски метилового красного происходят одновременно. Этот краситель был использован нами в методике 1.

Для сравнительной оценки фармакопейных методик была использована процедура валидации [4,5]. С этой целью был построен трехуровневый эксперимент по три опыта на каждом уровне. Диапазон измерений был выбран, исходя из возможного варьирования навески исследуемого вещества (табл.1). Статистическую обработку результатов эксперимента проводили по ГФ XI издания (табл.2) [5].

Полученные результаты эксперимента были прове-

## Результаты количественного определения МПГБ по фармакопейным методикам

Уровень	Методика 1			Методика 2		
	Навеска, г	Объем титранта, мл	Найденное количество, %	Навеска, г	Объем титранта, мл	Найденное количество, %
Нижний уровень	1,8002	11,80	100,10	0,0913	35,95	101,40
	1,8003	11,80	100,09	0,0901	36,10	103,18
	1,8014	11,80	100,03	0,0904	36,00	102,55
Среднее значение уровня	1,8006	11,80	100,07	0,0906	36,02	102,38
Средний уровень	2,0001	13,06	99,75	0,0993	39,40	102,18
	2,0003	13,16	100,50	0,1033	41,40	103,21
	2,0001	13,11	100,13	0,0983	39,90	104,53
Среднее значение уровня	2,0002	13,11	100,13	0,1003	40,23	103,31
Верхний уровень	2,2000	14,47	100,45	0,1115	46,50	107,40
	2,2003	14,32	99,39	0,1084	46,00	109,28
	2,2000	14,47	100,45	0,1117	46,60	107,43
Среднее значение уровня	2,2001	14,43	100,10	0,1005	46,37	108,04

Таблица 2

## Метрологические характеристики результатов количественного определения МПГБ

Уровень диапазона	Метрологические характеристики							
	$\bar{x}$ , %	$S^2$	$S \bar{x}$	$Sg$	$\pm \Delta x$	$\pm \Delta \bar{x}$	$\pm \epsilon$	$\pm \bar{\epsilon}$
Методика, включенная в НФ, БФ, ЕФ								
Нижний	100,10	0,001	0,02	0,04	0,16	0,09	0,16	0,09
Средний	100,13	0,14	0,22	0,37	1,61	0,93	1,61	0,93
Верхний	100,07	0,37	0,35	0,61	2,63	1,52	2,63	1,52
Диапазон измерения	100,10	0,13	0,12	0,36	0,85	0,28	0,85	0,28
Методика, включенная в ФС								
Нижний	102,38	0,81	0,52	0,88	3,88	2,24	3,79	2,19
Средний	103,31	1,39	0,68	1,14	5,07	2,92	4,90	2,83
Верхний	108,04	1,16	0,62	1,00	4,63	2,67	4,29	2,47
Диапазон измерения	104,57	0,84	0,31	0,88	2,16	0,72	2,07	0,69

рены на однородность с помощью Q-критерия и установлено, что все они не отягощены грубой ошибкой.

Статистическая обработка результатов показала, что методика, описанная в зарубежных фармакопеях, по сравнению с методикой, описанной в ФС, дает

более точные результаты на каждом уровне диапазона измерений, а также в целом диапазоне (табл.1). Одновременно нами отмечено, что указанные методики дают разные значения средних результатов содержания МПГБ (100,1 % и 104,6 %, соответственно). Значимость расхождений полученных ре-

зультатов определяли с помощью коэффициента Стьюдента: вычисленное значение указанного коэффициента ( $t=2,784$ ) превышает табличное ( $t_{95\%}=2,780$ ), что свидетельствует о наличии систематической ошибки в одной из методик.

Характер зависимости между навеской вещества и количеством титранта в аналитической области измерения методик был изучен с помощью коэффициента непарной регрессии ( $r$ ) и установлено, что только в обеих методиках зависимость имеет линейный характер ( $r_1=1$  и  $r_2=0,995856$ , соответственно) и описывается уравнениями:

$$y_1 = 6,56x - 0,01$$

$$y_2 = 519,96x - 11,37$$

Проверка значимости коэффициентов уравнения с помощью коэффициента Стьюдента показала, что все они значимы ( $t_{a,b_0} > t_{табл}$ ).

При построении линии тренда (с помощью программы Microsoft Excel) по точкам, соответствующим сред-

ним значениям результатов, полученных на трех уровнях диапазона, и продлении её до пересечения осей координат, установлено, что только линия тренда методики 1 проходит через начало координат, а методики 2 – смещена (рис.3,4). Полученные данные подтверждают наличие систематической ошибки в методике 2.

В процессе выполнения методики 2 нами отмечено, что при исследовании навески МПГБ около 0,09 г белого цвета конгломераты, образующиеся при бромировании продуктов гидролиза МПГБ, после титрования становились светло-желтыми, а при исследовании навески около 0,11 г – они окрашивались в зеленовато-коричневый цвет. Причину погрешности методики 2, по всей видимости, можно объяснить адсорбцией йода, используемого в качестве титрованного раствора, указанными конгломератами, что приводит к завышенным результатам.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

С помощью процедуры валидации показано, что методика количественного определения МПГБ, в основе которой лежит титрование избытка щелочи, не пошедшей на гидролиз МПГБ, является точной и правильной и имеет линейный характер зависимости между навеской испытуемого вещества и количеством титранта. Методика, основанная на бромировании продуктов гидролиза МПГБ и титровании избытка бромата йодометрически, отягощена систематической ошибкой за счет адсорбции йода, используемого в качестве титранта, с образующимися после бромирования конгломератами.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. British Pharmacopoeia, London, 2001; электронная версия.
2. European Pharmacopoeia 4.8; электронная версия.
3. The United States Pharmacopoeia 27, The National Formulary 22; электронная версия.
4. Validation of analytical procedures: methodology. Q2B. Recommended for Adoption at Step 4 of the ICH Process on 6 November 1996 by the ICH Steering Committee.
5. А.П. Арзамасцев, Н.П. Садчикова, Ю.Я. Харитонов. Проект Общей фармакопейной статьи "Валидация фармакопейных методов". Ведомости Научного Центра Экспертизы и государственного контроля лекарственных средств, № 1 (5), 28-29 (2001).
6. Государственная фармакопея СССР, 11-е изд., М., Медицина, 1989. – Вып. 1. – С. 119 – 126.

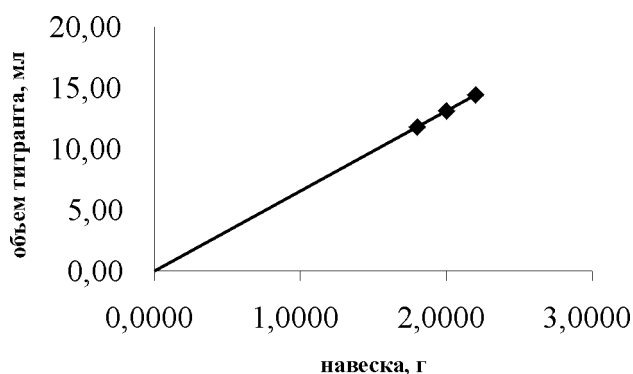


Рис. 3. Зависимость между количеством МПГБ и объемом 0,5 М раствора серной кислоты (методика 1).

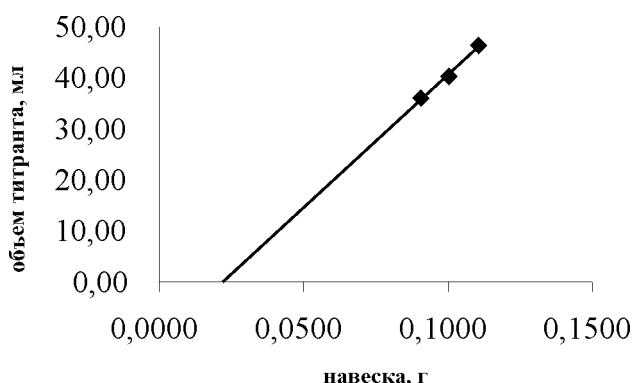


Рис. 4. Зависимость между количеством МПГБ и объемом 0,1 н раствора натрия тиосульфата (методика 2).