

Рекомендована д-м фармац. наук, проф. І. А. Мазуром

УДК 615.453.62:543.215.1:547.466.22]^54/062

## РОЗРОБКА МЕТОДИКИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ГЛІЦИНУ У ТАБЛЕТКАХ, ЩО МІСТЯТЬ МАГНІЙ АСПАРАГІНАТ, ГЛІЦИН І ТІОТРИАЗОЛІН

© М. М. Васенда, Л. В. Вронська, Л. С. Логойда, М. М. Михалків

Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського

**Резюме:** розроблено спектрофотометричну методику для визначення вмісту гліцину у таблетках, що містять магній аспарагінат, гліцин і тіотриазолін. Методика базується на реакції утворення забарвленого продукту амінокислот з нінгідрином. Визначення гліцину в присутності магнію аспарагінату проводиться після попереднього комплексонометричного визначення магнію аспарагінату.

**Ключові слова:** магній аспарагінат, гліцин, тіотриазолін, нінгідрин, спектрофотометрія, кількісне визначення.

**Вступ.** На фармацевтичному ринку України присутній лише один вітчизняний лікарський засіб на основі органічної солі магнію – Аспаркам, що є недостатньо при щорічному зростанні захворювань, пов'язаних із гіпомагнезіємією [1].

Тому актуальним є розробка вітчизняних лікарських засобів на основі магнію, а саме магнію аспарагінату як монопрепарату, так і в комбінації з іншими лікарськими речовинами, такими, як вітамін В<sub>6</sub>, гліцин та тіотриазолін. З метою зменшення кількості побічних ефектів, доцільно поєднувати препарати магнію з іншими речовинами, наприклад, з тіотриазоліном. Дане поєднання доцільно використовувати для попередження переривання вагітності [2]. Для посилення нейропротекторної активності іонів магнію створена комбінована форма, що містить сіль магнію та гліцин [3, 4].

Нами було розроблено склад та технологію таблеток на основі магнію аспарагінату, гліцину і тіотриазоліну [5, 6]. Для контролю якості препарату як у процесі дослідження складу і виготовлення, так і на стадії вивчення стабільності, необхідним є контроль вмісту активних фармацевтичних інгредієнтів. Тому метою нашої роботи була розробка методики кількісного визначення гліцину у таблетках на основі магнію аспарагінату, гліцину і тіотриазоліну.

**Методи дослідження.** Спектрофотометричні вимірювання проводили на спектрофотометрі Сагу 50 у видимій ділянці спектра.

При розробці методики використовували гліцин кваліфікації "осч" (Merck, Німеччина), як фотометричний реагент – нінгідрин С<sub>9</sub>Н<sub>4</sub>О<sub>3</sub>СН<sub>2</sub>О кваліфікації "чда" (V&V Pharma Industries, Індія). Додатково для дослідження використовували субстанції магнію аспарагінату (сертифікат № 01.06.2007) і тіотриазоліну (ФС 42У-11/151/37-671-00).

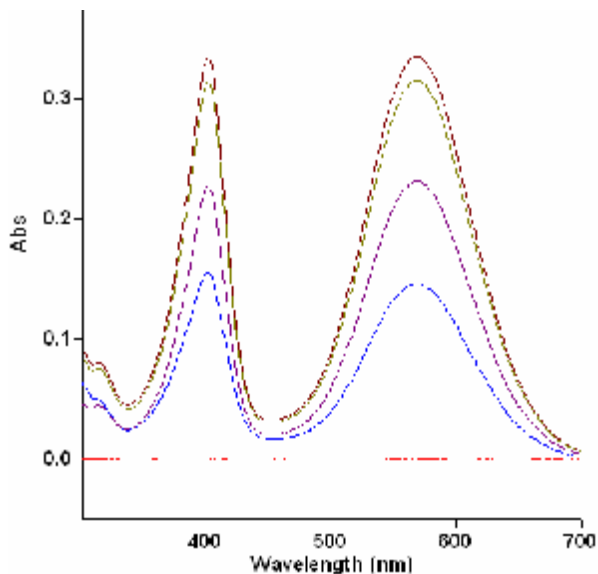
0,2 % розчин нінгідрину готували так: 0,2 г нінгідрину поміщали у мірну колбу місткістю

100 мл, додавали 50 мл води Р, розчиняли при постійному перемішуванні і доводили об'єм розчину водою Р до позначки.

**Результати й обговорення.** У досліджуваному поєднанні лікарських речовин найскладнішим завданням є визначення гліцину, оскільки як найпростіша амінокислота, він немає власних хромофорів, придатних для спектрофотометричної детекції. Тому безперспективними є спроби його прямого спектрофотометричного чи хроматографічного (у варіанті ВЕРХ із спектрофотометричним детектуванням) визначення. Неможливе застосування і газової хроматографії – амінокислоти розкладаються при нагріванні. Не маючи асиметричного атома Карбону, гліцин не може визначатись поляриметричним методом. Неможливе застосування різних хімічних методів, бо досліджуваною є комбінація АФІ, з яких нітрогеновмісними є всі. Тому вибір методу аналізу можна зупинити на спектрофотометрії з попередньою фотометричною реакцією або на рідинній хроматографії з кондуктометричним або рефрактометричним детектуванням. Оскільки остання є рідкістю як для фармацевтичних підприємств, так і лабораторій контролю якості, то найбільш оптимальним є застосування першого варіанту.

Тому при розробці методики кількісного визначення гліцину в таблетках на основі магнію аспарагінату, гліцину і тіотриазоліну (далі "Аспагліт") використовували спектрофотометричну реакцію отримання забарвленого продукту амінокислот із нінгідрином у водному середовищі.

В умовах отримання забарвленого продукту гліцин і аспарагінат-іон реагують з нінгідрином, оскільки є амінокислотами і ця реакція для них – спільна (рис. 1), тіотриазолін забарвленого продукту не утворює і його спектр має вигляд прямої лінії. В електронних спектрах поглинання розчинів



**Рис. 1.** Електронні спектри поглинання розчинів: 1 – магнію аспарагіату; 2 – гліцину; 3 – водного вилучення з таблеток “Аспагліт”; 4 – модельної суміші з магнію аспарагіату і гліцину, взятих у співвідношенні відповідно до складу таблетки.

гліцину і магнію аспарагіату, виготовлених в умовах проведення реакції з нінгідрином, спостерігається поява двох максимумів поглинання – при 400 нм і 568 нм. Смуга поглинання при 400 нм є більш селективною, оскільки є неширокою, тому саме вона обрана як аналітична довжина хвилі при кількісному визначенні.

З літературних джерел відомо, що для утворення забарвленого продукту, наприклад, гліцину з нінгідрином, необхідно витримувати молярне співвідношення гліцину до нінгідрину 1:1. Виходячи з цього, ми так вибирали концентрацію випробуваних розчинів магнію аспарагіату, гліцину і нінгідрину, щоб отримувати стійкі в часі розчини та відтворювані значення оптичних густин.

Виходячи з адитивності оптичних густин, при кількісному визначенні гліцину необхідно спочатку визначити вміст магнію аспарагіату комплексометричним методом і врахувати його внесок в загальну оптичну густину випробуваного розчину, що містив одночасно гліцин і магній аспарагіат, які переходять у водне вилучення з таблетки. Тоді оптична густина, отримана внаслідок взаємодії гліцину з нінгідрином у розчині в присутності магнію аспарагіату, буде розраховуватись, виходячи з оптичної густини випробуваного розчину, за формулою:

$$A_x = A - E \cdot \frac{m \cdot m_n}{b \cdot 100},$$

де  $A_x$  – оптична густина розчину гліцину з нінгідрином у водному вилученні з таблеток “Аспагліт”, отримана в умовах кількісного визначення;

$A$  – оптична густина випробуваного розчину водного вилучення з таблеток “Аспагліт” з нінгідрином;

$E$  – питомий показник світлопоглинання забарвленого продукту магнію аспарагіату з нінгідрином;

$m$  – маса магнію аспарагіату в одній таблетці, знайдена за результатами комплексометричного титрування, в грамах;

$m_n$  – маса наважки порошку розтертих таблеток “Аспагліт”, взята для аналізу, в грамах;

$b$  – середня маса таблетки “Аспагліт”, в грамах.

Щоб розрахувати внесок магнію аспарагіату, необхідно було визначити питомий коефіцієнт світлопоглинання для його забарвленого продукту з нінгідрином.

Для визначення питомого показника світлопоглинання забарвленого продукту магнію аспарагіату з нінгідрином, ми готували з 5 наважок субстанції магнію аспарагіату п'ять стандартних розчинів, для яких в строго однакових умовах готувались 5 паралельних випробуваних розчинів. Вимірювали оптичну густину отриманих розчинів на спектрофотометрі в кюветі з товщиною шару 1 см при довжині хвилі 400 нм, використовуючи як розчин порівняння розчин, що містив воду Р і нінгідрин, оброблений аналогічно досліджуваному. Результати досліджень приведені в таблиці 1.

Таким чином, визначений нами питомий показник світлопоглинання забарвленого продукту магнію аспарагіату з нінгідрином становить 153,5.

Методика кількісного визначення гліцину, розроблена нами, подана нижче.

**Випробуваний розчин** 0,26 г (точна наважка) порошку розтертих таблеток поміщають в мірну колбу місткістю 100 мл, додають 50 мл теплої води (температура не вище 65 °С) Р, ретельно перемішують та струшують. Після охолодження об'єм розчину доводять водою до позначки, перемішують та фільтрують через паперовий фільтр “червона стрічка”, відкидаючи перші 5 мл фільтрату.

1 мл отриманого розчину поміщають в пробірку, додають 1,1 мл 0,2 % розчину нінгідрину і нагрівають при температурі 100 °С протягом 20 хв. Після охолодження розчину його кількісно переносять за допомогою води Р у мірну колбу місткістю 100 мл та доводять об'єм розчину водою Р до позначки і перемішують.

**Стандартний розчин** 0,059 г (точна наважка) стандартного зразка гліцину поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, розчиняють у воді Р та доводять об'єм розчину тим же розчинником до позначки. 1 мл отриманого розчину поміщають у пробірку і далі поступають так, як описано з випробуваним розчином, починаючи зі слів “... додають 1,1 мл 0,2 % розчину нінгідрину...”.

**Таблиця 1.** Результати визначення питомого коефіцієнта світлопоглинання забарвленого продукту магнію аспарагіату з нінгідрином при довжині хвилі  $\lambda=400$  нм

№ за/п	Концентрація магнію аспарагіату, мкг/мл розчину	A	$E_{1cm}^{1\%}$
1	9,83	0,152 0,148 0,150 0,153 0,150	153,2
2	10,03	0,152 0,148 0,154 0,156 0,148	151,8
3	9,98	0,154 0,146 0,149 0,161 0,160	154,5
4	9,91	0,147 0,147 0,159 0,159 0,156	157,6
5	9,99	0,150 0,153 0,154 0,146 0,147	150,3

Розчин порівняння 1 мл води  $P$  поміщають у пробірку і далі виконують так, як описано з випробуваним розчином, починаючи зі слів "... додають 1,1 мл 0,2 % розчину нінгідрину...".

Через 1 год виміряють оптичну густину випробованого розчину і стандартного розчину відносно розчину порівняння на спектрофотометрі при довжині хвилі 400 нм в кюветі з товщиною шару 1 см.

Вміст гліцину ( $X$ ) в грамах, рахуючи на середню масу таблетки, розраховують за формулою:

$$X = (A - E \cdot \frac{m \cdot m_n}{b \cdot 100}) \cdot m_0 \cdot b / (A_0 \cdot m_n),$$

де  $A$  – оптична густина випробовуваного розчину;

$A_0$  – оптична густина стандартного розчину;

$E$  – питомий показник світлопоглинання забарвленого продукту магнію аспарагіату з нінгідрином;

$m$  – маса магній аспарагіату в одній таблетці, знайдена за результатами комплексонометричного титрування, в грамах;

$m_n$  – маса наважки порошку розтертих таблеток, в грамах;

$m_0$  – маса наважки стандартного зразка гліцину, в грамах;

$b$  – середня маса таблетки, в грамах.

Результати кількісного визначення гліцину у модельному зразку таблеток згідно з розробленою методикою наведено в таблиці 2.

**Таблиця 2.** Результати визначення кількісного вмісту гліцину в таблетках "Аспагліт"

Лікарський препарат	Маса наважки порошку розтертих таблеток, г	Вміст гліцину, г	Метрологічні характеристики
Таблетки "Аспагліт"	0,2613	0,153	$\bar{X} = 0,148$ $\Delta X = 0,003$ $S = 6,6 \times 10^{-3}$ $\varepsilon = 2,02 \%$
	0,2593	0,156	
	0,2567	0,140	
	0,2608	0,145	
	0,2610	0,141	
	0,2603	0,150	

Таким чином, розроблена методика дає відтворювані результати і може застосовуватись для кількісного визначення гліцину у таблетках, що містять магнію аспарагінат, гліцин і тіотріазолін.

**Висновки.** Гліцин і магній аспарагінат у водних розчинах утворюють з нінгідринном забарвлений продукт з максимумами поглинання у спектрі при довжині хвилі 400 і 568 нм. Для кількісного визначення гліцину у таблетках, що містять магній

аспарагінат, гліцин і тіотріазолін, запропоновано аналітичну смугу поглинання при довжині хвилі 400 нм. Кількісне спектрофотометричне визначення гліцину з нінгідринном слід проводити після кількісного визначення магнію аспарагінату комплексометричним методом. Розроблена методика характеризується невеликим стандартним відхиленням, дозволяє отримувати відтворювані результати – відносна похибка визначення у межах 2 %.

#### Література

1. Васенда М. М. Аналіз фармацевтичного ринку комплексних лікарських засобів на основі солей магнію з вітаміном В<sub>6</sub> / М. М. Васенда, О. М. Кравець // Фармацевтичний часопис — 2007. — № 4. — С. 74-75.
2. Магнієвісні препарати: фармакологічні властивості, застосування / [І. С. Чекман, І. Ф. Беленічев, Н. А. Горчакова та ін.] . — Запоріжжя – Київ, 2007. — 124 с.
3. Вплив композиції „Магнелонг”, гліцину, емоксипірину та пірацетаму на розвиток оксидативного стресу в мозку щурів з гострим порушенням мозкового кровообігу (ішемічний інсульт) / І. Ф. Беленічев, С. В. Горбачова, В. В. Головкін [та ін.] // Медична хімія. — 2006. — Т.8, № 3. — С. 107–110.
4. Розробка та дослідження лікувально-профілактичних засобів з амінокислотами і солями магнію для регулювання метаболічних процесів ЦНС у дітей :

- автореф. дис. канд. фармацевт. наук : спец. 15.00.01 «Технологія ліків та організація фармацевтичної справи» / О. О. Покотило. — Київ, 2009. — 22 с.
5. Вплив допоміжних речовин на показники якості таблеток «Аспагліт» / М. М. Васенда, Т. А. Трошований, І.Ф. Беленічев, Л.І. Кучеренко // Запоріжський медичинський журнал. — 2010. — № 5. — С. 211-214.
6. Дослідження впливу вмісту допоміжних речовин на основні показники таблеток, що містять магній аспарагінат, гліцин і тіотріазолін / М. М. Васенда, Л.І. Кучеренко Т. А. Трошований, І.Ф. Беленічев // Запоріжський медичинський журнал. — 2011. — № 3. — С. 80 -82.
7. Sabina Prochazkova. Quantitative determination of chitosans by ninhydrin / Sabina Prochazkova, M. Kjell Varum, Kjetill Ostgaard. // Carbohydrate Polymers. — 1999. — Vol. 38, I. 2. — P. 115–122

### РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЛИЦИНА В ТАБЛЕТКАХ, СОДЕРЖАЩИХ МАГНИЙ АСПАРАГИНАТ, ГЛИЦИН И ТИОТРИАЗОЛИН

**М. Н. Васенда, Л. В. Вронська, Л. С. Логойда, М. Н. Михалкив**

*Тернопольский государственный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского*

**Резюме:** разработана спектрофотометрическая методика для определения содержания глицина в таблетках, содержащих магний аспарагинат, глицин и тиотриазолин. Методика основывается на реакции образования окрашенного продукта аминокислот с нингидрином. Определение глицина в присутствии магний аспарагината проводится после предварительного комплексометрического определения магний аспарагината.

**Ключевые слова:** магний аспарагинат, глицин, тиотриазолин, нингидрин, спектрофотометрия, количественное определение.

### DEVELOPMENT OF GLYCINE QUANTITATIVE DETERMINATION METHODS IN TABLETS CONTAINING MAGNESIUM ASPARTATE, GLYCINE AND THYOTRIAZOLINUM

**M. M. Vasenda, L. V. Vronska, L. S. Lohoyda, M. M. Mykhalkiv**

*Ternopil State Medical University by I. Ya. Horbachevsky*

**Summary:** a spectrophotometric method is developed for the determination of glycine in tablets containing magnesium aspartate, glycine and thyotriazolium. The technique is based on the reaction of colored product formation of amino acids with ninhydrin. Determination of glycine in the presence of magnesium aspartate is made after a preliminary determination of magnesium aspartate by complexometry.

**Key words:** magnesium aspartate, glycine, thyotriazolium, ninhydrin, spectrophotometry, quantitative determination.