

УДК 667.28:54.061/062

А. С. МАТЕРИЕНКО, В. А. ГРУДЬКО, В. А. ГЕОРГИЯНЦ

Национальный фармацевтический университет, г. Харьков

РАЗРАБОТКА МЕТОДИК ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТАРТТРАЗИНА И КАРМУАЗИНА В СОСТАВЕ ОБОЛОЧКИ ТАБЛЕТОК «НИТРОКСОЛИН»

В ходе выполнения статьи была проверена и уточнена возможность применения разработанной раньше методики разделения, идентификации и количественного определения тарттразина и кармуазина методами УФ-спектрофотометрии и тонкослойной хроматографии в составе оболочки таблеток «Нитроксолин». Статистические данные подтверждают точность определения и отсутствие систематической ошибки. Разработанная методика может быть использована при пересмотре методов контроля на лекарственный препарат «Нитроксолин» и при разработке новых лекарственных средств, в состав которых планируется введение тарттразина и кармуазина.

Ключевые слова: тарттразин, кармуазин, спектрофотометрия, тонкослойная хроматография, идентификация, количественное определение.

ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМЫ

Синтетические пищевые красители в последние десятилетия широко применяются для окрашивания не только пищевых продуктов, но и различных лекарственных средств. Они имеют значительные технологические преимущества по сравнению с большинством натуральных красителей, поскольку дают яркие цвета, устойчивы к свету, действию окислителей, восстановителей, изменениям pH и менее чувствительны к различным видам воздействия, которым подвергается материал в ходе технологического процесса. Все синтетические красители хорошо растворяются в воде, многие могут образовывать нерастворимые комплексы с ионами поливалентных металлов и применяются в этой форме для окрашивания порошкообразных продуктов [7].

Красители широко используются для придания товарного вида многим лекарственным формам. Чаще всего их применяют в составе лекарств для внутреннего применения (таблетки, капсулы, сиропы, драже, пастилки и др.). Применение красителей в лекарственных средствах регулируется нормативными документами [3, 4, 5].

АНАЛИЗ ПОСЛЕДНИХ

ИССЛЕДОВАНИЙ И ПУБЛИКАЦИЙ

По данным литературы пищевые красители плохо всасываются в желудочно-кишечном тракте, однако, в некоторых случаях, поступая в организм, они могут связываться с протеинами в качестве гаптенных и, становясь полноценными антигенами, вызывать аллергические реакции. Частое присутствие в крови IgE-антител сразу к нескольким пищевым красителям объясняется их широким использованием промышленностью, в том числе в качестве смесей, и возможностью возникновения перекрестных аллергических реакций из-за схожести химической структуры [6, 8].

Азокрасители – это группа наиболее широко применяемых синтетических пищевых красителей, вещества, полученные по реакции азосочетания диазотированных сульфанилинов и сульфонафтиламинов с ароматическими и гетероциклическими фенолами. К этой группе относятся, в частности, тарттразин и кармуазин, которые довольно часто используются для окрашивания различных лекарств [1, 9]. Краситель желтого цвета – тарттразин (E 102) (рис. 1) относится к диазотированным производным пиразолона. Красный краситель кармуазин (E122) (рис. 2)

© А. С. Материенко, В. А. Грудько, В. А. Георгиянц, 2014

является диазотированным производным сульфонафтолинов.

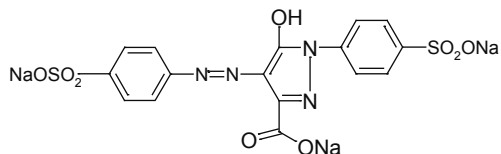


Рис. 1. Тартразин

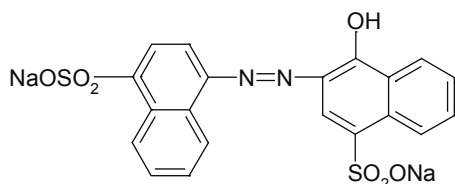


Рис. 2. Кармуазин

ВЫДЕЛЕНИЕ НЕ РЕШЕННЫХ РАНЕЕ ЧАСТЕЙ ОБЩЕЙ ПРОБЛЕМЫ

В литературе описано восстановление пищевых азокрасителей микрофлорой кишечника с образованием соответствующих аминопроизводных. Считают, что у человека с аллергической реакцией на аспирин при оральном приеме тартразина возможны псевдоаллергические реакции вроде крапивницы [10]. Поскольку частота возникновения аллергических реакций напрямую зависит от дозы гаптена, разработка методик определения вспомогательных веществ, входящих в состав лекарственных средств, в том числе таких, как пищевые красители, является в наше время весьма актуальной.

ФОРМУЛИРОВКА ЦЕЛИ СТАТЬИ

Целью данной работы является разработка методики идентификации и количественного определения синтетических красителей – тартразина и кармуазина в составе оболочки таблеток «Нитроксолин».

ИЗЛОЖЕНИЕ ОСНОВНОГО МАТЕРИАЛА

Для проведения экспериментальных исследований нами были выбраны: лекарственный препарат «Нитроксолин» (производитель – ОАО «Витамины», Украина, серия ХІ15) и рабочие стандартные образцы тартразина и кармуазина.

Ранее мы уже анализировали возможность определения аналогичной смеси красителей в составе сиропа «Грипаут бэйби» [2].

В результате проведенных исследований нами предложено для идентификации тартразина и кармуазина в лекарственном препарате «Нитроксолин» использовать метод тонкослойной хроматографии. Определение проводили на хроматографических пластинках Sorbfil, размером

10x10 см, в системе растворителей пропанол – этилацетат – вода – раствор аммиака концентрированный (20:6:5:1).

Методика разделения красителей. В коническую колбу емкостью 50,0 мл помещают 10 таблеток нитроксолина, добавляют 4,0 мл воды очищенной, осторожно перемешивают до растворения окрашенной оболочки. Полученный раствор фильтруют через бумажный фильтр в коническую колбу емкостью 50,0 мл. Процедуру повторяют еще дважды порциями по 3,0 мл дистиллированной воды, не допуская, чтобы началось растворение ядра таблетки. Фильтр мелко промывают 5,0 мл воды очищенной.

К полученному раствору прибавляют 4,0 мл этилацетата, 4,0 г аммония сульфата и перемешивают, промывая раствор от поверхностно – активных веществ, входящих в состав оболочки таблеток. Смесь переносят в делительную воронку, встряхивают и дают расслоиться. Водный слой переносят в ту же коническую колбу, а этилацетатный слой отбрасывают. К водному раствору в конической колбе добавляют 0,1 г лидокаина гидрохлорида, 4,0 мл этилацетата, перемешивают и переносят в делительную воронку. Смесь интенсивно встряхивают и дают расслоиться. При этом образуется ионный ассоциат кармуазина с лидокаина гидрохлоридом, который экстрагируется этилацетатом. Водный слой сливают в ту же коническую колбу, а этилацетатный слой переносят в другую делительную воронку. Затем экстракцию повторяют дважды, используя по 3,0 мл этилацетата, собирая этилацетатные экстракты в делительную воронку. Водный слой помещают в мерную колбу емкостью 250,0 мл. К этилацетатному слою прибавляют раствор, который содержит 4,0 г аммония сульфата, 0,05 г лидокаина гидрохлорида и 15,0 мл воды очищенной, смесь встряхивают и дают расслоиться. Водный слой сливают в мерную колбу емкостью 250,0 мл. Процесс повторяют еще два раза, каждый раз сливая водный раствор в мерную колбу, емкостью 250,0 мл. После промывания этилацетатный слой помещают в мерную колбу емкостью 10,0 мл, и доводят объем раствора до метки спиртом этиловым 96 %. (*исследуемый раствор кармуазина*). Коническую колбу емкостью 50,0 мл и делительные воронки трижды промывают водой очищенной порциями по 10,0 мл, сливая полученные растворы в мерную колбу емкостью 250,0 мл. Объем раствора доводят до метки водой очищенной и перемешивают (*исходный раствор для определения тартразина*).

Исследуемый раствор тартразина. В мерную колбу емкостью 25,0 мл помещают 10,0 мл исходного раствора для определения тартразина.

Доводять до метки водою очищеною і перемішують.

Оптичну щільність досліджуваних розчинів барвників вимірювали на спектрофотометрі Evolution 60S в кюветках з товщиною шару 10 мм при довжині хвилі 428 нм для тартразина (розчин порівняння – вода очищена) і при 517 нм для кармуазина (розчин порівняння – етилацетат).

Паралельно вимірювали оптичну щільність стандартних розчинів тартразина і кармуазина.

Исходные растворы РСО тартразина и кармуазина. В мерные колбы вместимостью 100,0 мл переносят 0,0500 г (точная навеска) порошка красителя количественно, с помощью 60,0 мл воды очищенной, перемешивают до растворения, доводят до метки тем самым растворителем и тщательно перемешивают.

Испытуемый раствор РСО тартразина. В мерную колбу вместимостью 100,0 мл переносят 2,0 мл исходного раствора красителя, доводят до метки водою очищеною і перемішують.

Испытуемый раствор РСС кармуазина. В мерную колбу вместимостью 100,0 мл переносят 1,0 мл полученного стандартного раствора красителя, доводят до отметки водою очищеною і перемішують.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На хроматограмме испытуемого раствора должно проявляться не менее 2 пятен – полоса желтого цвета на уровне полосы желтого цвета на хроматограмме раствора сравнения тартразина, и полоса розового цвета на уровне полосы розового цвета на хроматограмме раствора сравнения кармуазина (рис. 3).

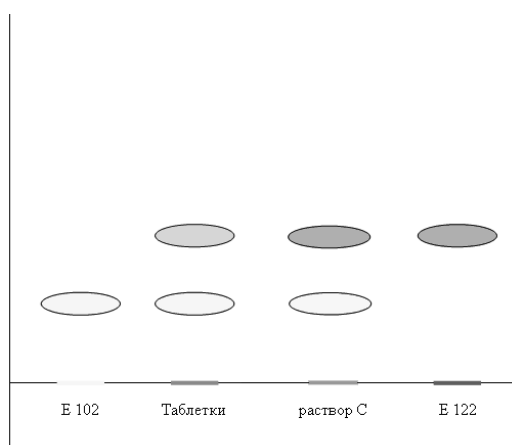


Рис. 3. Схема хроматограммы, полученной при идентификации тартразина и кармуазина

Одним из обязательных испытаний, которое ГФУ требует включать в тесты с использованием

ТСХ является проверка пригодности хроматографической системы. В случае разделения смеси веществ проводят проверку разделительной способности системы. Мы предлагаем смешивать по 1,0 мл растворов сравнения тартразина и кармуазина (раствор С) и наносить на хроматографическую пластинку вместе с испытуемым раствором и растворами сравнения. Результаты исследований считаются заслуживающими доверия, если на хроматограмме раствора сравнения С наблюдается две четко разделенные полосы, нижняя из которых желтого, а верхняя – розового цвета (рис. 3).

Анализ спектров поглощения красителей в видимом свете свидетельствует о том, что кармуазин достаточно интенсивно поглощает в области максимума поглощения тартразина, что говорит о необходимости разделения красителей для количественного определения методом однокомпонентной одноволновой спектрофотометрии. Разделение красителей, содержащихся в растворе оболочки таблеток «Нитроксолин» проводили, основываясь на опыте, полученном при разделении красителей в составе сиропа «Грипаут бейби» [2]. Задача усложнялась тем, что количество и соотношение красителей значительно отличалось от их содержания в сиропе.

Адсорбционные спектры, приведенные на рис. 4 и 5 не имеют значительных отличий от спектров растворов стандартных образцов тартразина и кармуазина.

Расчет содержания тартразина в мг на 1 таблетку проводят по формуле:

$$X = \frac{A \cdot 250 \cdot 25 \cdot m_{cm} \cdot 2}{A_{cm} \cdot n \cdot 10 \cdot 100 \cdot 100} = \frac{A \cdot m_{cm} \cdot 0.125}{A_{cm} \cdot n},$$

где: A – оптическая плотность исследуемого раствора;

A_{cm} – оптическая плотность раствора сравнения;

m_{cm} – масса навески стандартного образца тартразина, мг;

n – количество таблеток, взятых для анализа;

0,125 – коэффициент разведения.

Расчет содержания кармуазина в мг на 1 таблетку проводят по формуле:

$$X = \frac{A \cdot 250 \cdot 25 \cdot m_{cm} \cdot 2}{A_{cm} \cdot n \cdot 10 \cdot 100 \cdot 100} = \frac{A \cdot m_{cm} \cdot 0.125}{A_{cm} \cdot n},$$

где: A – оптическая плотность исследуемого раствора;

A_{cm} – оптическая плотность раствора сравнения;

m_{cm} – масса навески стандартного образца кармуазина, мг;

n – количество таблеток, взятых для анализа;

0,001 – коэффициент разведения.

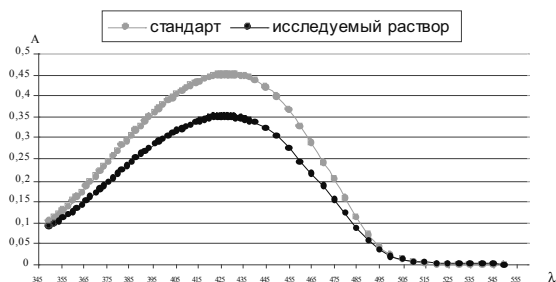


Рис. 4. Адсорбционный спектр исследуемого раствора тартразина в сравнении со стандартом

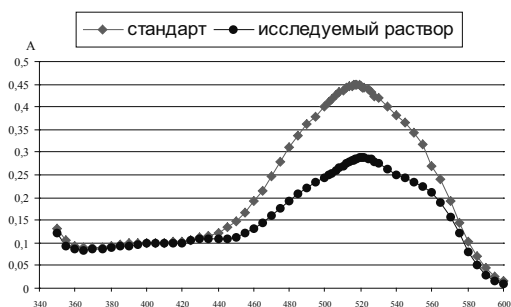


Рис. 5. Адсорбционный спектр исследуемого раствора кармуазина в сравнении со стандартом

С целью получения метрологической характеристики разработанного метода определения содержания тартразина и кармуазина в таблетках мы воспользовались методом модельных образцов.

Приготовление модельного раствора. В коническую колбу емкостью 50,0 мл помещали 10,0 мл исходного раствора тартразина и 5,0 мл исходного раствора кармуазина, приготовленных для количественного определения и перемешивали. Разделение красителей, которые содержатся в модельном растворе, проводили по разработанной методике, которая описана выше. Результаты статистической обработки полученных данных приведены в таблице.

Таблица 1

**МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ
МЕТОДИКИ АНАЛИЗА, N=6**

μ	ν	\bar{X}	S	P, %	$t(P, \nu)$	Δ, \bar{x}	$\epsilon, \%$
тартразина							
5,0	5	4,933	0,091797	95	2,0150	0,075514	1,53
кармуазина							
5,0	5	4,88	0,189666	95	2,0150	0,156023	3,20

Результаты статистической обработки свидетельствуют о том, что относительная неопределенность отдельного определения тартразина в таблетках «Нитроксолин» равна 1,53 %, а кар-

муазина — 3,20 %, что соответствует относительной ошибке спектрофотометрического определения суммы веществ.

Для идентификации красителей в составе оболочки таблеток «Нитроксолин» методом адсорбционной спектрофотометрии мы предлагаем использовать исследуемые растворы, приготовленные для количественного определения тартразина и кармуазина.

Адсорбционный спектр поглощения раствора тартразина, в области 350–550 нм должен иметь максимум при длине волны от (430 ± 2) нм. Удельный показатель поглощения, рассчитанный по данным количественного определения, в максимуме должен быть от 437 до 483.

Адсорбционный спектр поглощения раствора кармуазина, в области 350–600 нм должен иметь максимум при длине волны (518 ± 2) нм. Удельный показатель поглощения, рассчитанный по данным количественного определения, в максимуме должен быть от 424 до 468.

**ВЫВОДЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ
ДАЛЬНЕЙШИХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

1. Разработана методика идентификации тартразина и кармуазина в составе оболочек таблеток «Нитроксолин» методом тонкослойной хроматографии и адсорбционной спектрофотометрии.
2. Разработана методика количественного определения красителей после их разделения, которая охарактеризована статистически.
3. Разработанные методики могут быть использованы для анализа смеси тартразина и кармуазина в составе других лекарственных средств.

**ПЕРЕЧЕНЬ ИСПОЛЬЗОВАННЫХ
ИСТОЧНИКОВ ИНФОРМАЦИИ**

1. Допоміжні речовини в технології ліків: вплив на технологічні, споживчі, економічні характеристики і терапевтичну ефективність: навч. посіб. для студ. вищ. фармац. навч. закл. / авт.-уклад.: І. М. Перцев, Д. І. Дмитрієвський, В. Д. Рибачук та ін.; за ред. І. М. Перцева. – Х.: Золоті сторінки, 2010. – 600 с.
2. Материенко А. С. «Разработка методик определения тартразина и кармуазина в сиропе «Грипаут бэйби»» / А. С. Материенко, В. А. Грудько, В. А. Георгианц // Научные ведомости БелГУ. Серия Медицина. Фармация. — 2013. — № 25 (168). Выпуск 24. – С. 232–238.
3. Наказ МОЗ України від 15 січня 2003 року №8 «Про затвердження переліків допоміжних речовин та барвників, дозволених до застосування у виробництві лікарських засобів,

що (лікарські засоби) реєструються в Україні та виготовляються в аптечних умовах за рецептами лікарів і замовленнями лікувально-профілактичних закладів»

4. Наказ МОЗ України від 19 червня 2007 року №339 «Про затвердження Переліків назв допоміжних речовин та барвників, що входять до складу лікарського засобу»

5. Наказ МОЗ України від 21 червня 2004 року №314 «Про внесення змін і доповнення до наказу МОЗ України від 15.01.2003 №8 “Про затвердження переліків допоміжних речовин та барвників, дозволених до застосування у виробництві лікарських засобів, що (лікарські засоби) реєструються в Україні”»

6. Новиков Д.К. Клиническая иммунопатология / Д. К. Новиков, П. Д. Новиков. — М.: Мед. лит. — 2009. — С. 115–126.

7. Смирнов Е. В. Пищевые красители. Справочник. — СПб.: Издательство «Профессия», 2009. — 352 с.

8. Титова, Н.Д. Пищевые добавки как алиментарные аллергены / Н.Д. Титова // Иммунопатология, аллергология, инфектология – 2008. — №2. — С. 41-46.

9. Combined compendium of food additive specifications. JECFA. Vol.4 Analytical methods, test procedures and laboratory solutions used by and referenced in the additive specification. FAO, Rome, 2006.

10. FAO. Food and Nutrition papers. 52. Compendium of Food Additive Specifications. Addition 12. JECFA. Rome, 2004.

УДК 667.28:54.061/.062

А. С. Матерієнко, В. О. Грудько, В. А. Георгіянц
РОЗРОБКА МЕТОДИК ВИЗНАЧЕННЯ ТАРТРАЗИНУ І КАРМОЇЗИНУ
У СКЛАДІ ОБОЛОНКИ ТАБЛЕТОК «НІТРОКСОЛІН»

У ході виконання статті була перевірена і уточнена можливість застосування розробленої раніше методики поділу, ідентифікації та кількісного визначення тартразину і кармоїзину методами УФ- спектрофотометрії та тонкошарової хроматографії у складі оболонки таблеток «Нітроксолін». Статистичні дані підтверджують точність визначення і відсутність систематичної похибки. Розроблена методика може бути використана при перегляді методів контролю на лікарський препарат «Нітроксолін» і при розробці нових лікарських засобів, до складу яких планується введення тартразину і кармоїзину.

Ключові слова: тартразин, кармоїзін, спектрофотометрія, тонкошарова хроматографія, ідентифікація, кількісне визначення.

UDC 667.28:54.061/.062

A. S. Materienko, V. A. Grudko, V. A. Georgiyants
DEVELOPMENT OF METHODS FOR DETECTION OF TARTRAZINE AND
CARMOISINE IN THE SHELL TABLETS “NITROXOLINE”

In the course of the article was tested and verified by the possibility of using previously developed methods of separation, identification and quantification of tartrazine and carmoisine by UV spectrophotometry and thin-layer chromatography in the shell tablets “Nitroxoline.” Statistics confirm the accuracy and lack of bias. The method developed can be used in the revision of methods of control to drug “Nitroxoline” and the development of new drugs, the composition of which is planned to introduce tartrazine and carmoisine.

Key words: tartrazine, carmoisine, spectrophotometry, Thin Layer Chromatography (TLC), identification, quantitative determination.

Адреса для листування:
61168, г. Харьков, ул. Блюхера, 4,
Национальный фармацевтический университет
Тел. (0572) 67-91-97
E-mail: anna_materienko@mail.ru

Надійшла до редакції:
03.02.2014