

Разработка методик стандартизации водорастворимого серосодержащего антиоксиданта 3-(3'-трет-бутил-4'-гидроксифенил)пропилтиосульфонат натрия (ТС-13)

В.Т. Мукундви¹, С.В. Терентьева^{1, 2}, А.В. Лигостаев¹, Е.А. Ивановская¹, Н.В. Кандалинцева², А.С. Олейник²

¹ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия

²ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный педагогический университет» Минпросвещения России, Новосибирск, Россия

АННОТАЦИЯ

В в е д е н и е . Окислительный стресс играет ключевую роль в патогенезе различных заболеваний человека, включая сердечно-сосудистые болезни, рак, неврологические расстройства, болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера, воспалительные заболевания, мышечную дистрофию, заболевания печени, а также в старении организма человека. Распространенность этих заболеваний представляет собой серьезный вызов для современной медицины. Одним из возможных решений является разработка новых фармацевтических средств для профилактики и комплексного лечения этих заболеваний. К таким средствам относятся, в частности, антиоксиданты.

Ц е л ь . Разработка методик стандартизации серосодержащего антиоксиданта 3-(3'-трет-бутил-4'-гидроксифенил)пропилтиосульфонат натрия (ТС-13).

М а т е р и а л ы и м е т о д ы . Объектом исследования была субстанция водорастворимого антиоксиданта ТС-13. Применяли методы спектрофотометрии, вольтамперометрии, титрования и тонкослойной хроматографии.

Р е з у л ь т а т ы . Разработанные методики количественного определения ТС-13 валидированы в соответствии с ОФС.1.1.0012 «Валидация аналитических методик». Коэффициент корреляции каждой методики не менее 0,997, относительное стандартное отклонение не более 2 %.

З а к л ю ч е н и е . Результаты проведенного исследования свидетельствуют о возможности использования предлагаемых методик в контроле качества нового водорастворимого антиоксиданта ТС-13.

Ключевые слова: антиоксиданты серосодержащие, спектрофотометрия, вольтамперометрия, титриметрия, тонкослойная хроматография, контроль качества.

Образец цитирования: Мукундви В.Т., Терентьева С.В., Лигостаев А.В., Ивановская Е.А., Кандалинцева Н.В., Олейник А.С. Разработка методик стандартизации водорастворимого серосодержащего антиоксиданта 3-(3'-трет-бутил-4'-гидроксифенил)пропилтиосульфонат натрия (ТС-13) // Journal of Siberian Medical Sciences. 2025;9(1):29-40. DOI: 10.31549/2542-1174-2025-9-1-29-40

Development of methods for standardization of a water-soluble sulfur-containing antioxidant sodium 3-(3'-tret-butyl-4'-hydroxyphenyl)propylthiosulfonate (TS-13)

W.T. Mukundwi¹, S.V. Terentyeva^{1, 2}, A.V. Ligostaev¹, E.A. Ivanovskaya¹, N.V. Kandalintseva², A.S. Oleynik²

¹Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

²Novosibirsk State Pedagogical University, Novosibirsk, Russia

ABSTRACT

I n t r o d u c t i o n . Oxidative stress plays a key role in the pathogenesis of various human pathologies, including cardiovascular disease, cancer, neurological disorders, Parkinson's disease, Alzheimer's disease, inflammatory diseases,

Поступила в редакцию 22.11.2024
Прошла рецензирование 10.12.2024
Принята к публикации 16.12.2024

Автор, ответственный за переписку
Мукундви Виллард Танака: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.
E-mail: willardmkundwi@gmail.com

Received 22.11.2024
Revised 10.12.2024
Accepted 16.12.2024

Corresponding author
Willard T. Mukundwi: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny prosp., Novosibirsk, 630091, Russia.
E-mail: willardmkundwi@gmail.com

muscular dystrophy, liver diseases, and even human aging. The prevalence of the above diseases is a significant challenge for modern medicine. One of the possible solutions is the development of novel pharmaceutical agents for the prevention and comprehensive treatment of these conditions. Such agents include, in particular, antioxidants.

A i m . Development of standardization methods for a sulfur-containing antioxidant sodium 3-(3'-tret-butyl-4'-hydroxyphenyl)propylthiosulfonate (TS-13).

M a t e r i a l s a n d m e t h o d s . The object of the study was a substance of the water-soluble antioxidant TS-13. The methods of spectrophotometry, voltammetry, titration and thin-layer chromatography were used.

R e s u l t s . The developed methods for the quantitative determination of TS-13 have been validated in accordance with the General Pharmacopeial Monograph 1.1.0012 "Validation of analytical methods". The correlation coefficient of each method is not less than 0,997, the relative standard deviation is not more than 2%.

C o n c l u s i o n . The results of this study demonstrate the potential for utilizing the proposed techniques in the quality control of a novel water-soluble antioxidant TS-13.

Keywords: sulfur-containing antioxidants, spectrophotometry, voltammetry, titrimetry, thin-layer chromatography, quality control.

Citation example: Mukundwi V.T., Terentyeva S.V., Ligostaev A.V., Ivanovskaya E.A., Kandalintseva N.V., Oleynik A.S. Development of methods for standardization of a water-soluble sulfur-containing antioxidant sodium 3-(3'-tret-butyl-4'-hydroxyphenyl)propylthiosulfonate (TS-13). *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2025;9(1):29-40. DOI: 10.31549/2542-1174-2025-9-1-29-40

ВВЕДЕНИЕ

Окислительный стресс играет ключевую роль в патогенезе различных заболеваний человека, включая сердечно-сосудистые болезни, рак, неврологические расстройства, болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера, воспалительные заболевания, мышечную дистрофию, заболевания печени и другие, а также в старении человеческого организма [1]. Распространенность этих заболеваний представляет серьезный вызов для современной медицины. Одним из возможных решений является разработка новых фармацевтических средств для профилактики и комплексного лечения этих заболеваний [2]. К таким средствам относятся, в частности, антиоксиданты.

Антиоксиданты помогают клеткам справляться с окислительным стрессом, эффективно устраняя свободные радикалы и, таким образом, имеют потенциал для профилактики указанных выше заболеваний [3]. На базе кафедры химии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный педагогический университет» (НГПУ) совместно с НИИ химии антиоксидантов (структурное подразделение НГПУ) синтезированы новые водорастворимые серосодержащие фенольные антиоксиданты. Для их применения в медицине должны быть разработаны и стандартизированы методики контроля их качества.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Разработка методик стандартизации субстанции водорастворимого серосодержащего антиок-

INTRODUCTION

Oxidative stress plays a key role in the pathogenesis of various human pathologies, including cardiovascular diseases, cancer, neurological disorders, Parkinson's disease, Alzheimer's disease, inflammatory diseases, muscular dystrophy, liver diseases and others, as well as human aging [1]. The prevalence of these diseases is a significant challenge for modern medicine. One of the possible solutions is developing novel pharmaceutical agents for the prevention and comprehensive treatment of these conditions [2]. Such agents include, in particular, antioxidants.

Antioxidants help cells cope with oxidative stress, effectively eliminating free radicals, and thus, have the potential to prevent the aforementioned diseases [3]. Novel water-soluble sulfur-containing phenolic antioxidants have been synthesized at the Department of Chemistry of the Novosibirsk State Pedagogical University (NSPU) in cooperation with the Research Institute of Antioxidant Chemistry (a structural unit of NSPU). For their use in medicine, quality control methods should be developed and standardized.

AIM OF THE RESEARCH

Development of standardization methods for the substance of a water-soluble sulfur-containing antioxidant sodium 3-(3'-tret-butyl-4'-hydroxyphenyl)propylthiosulfonate (TS-13).

MATERIALS AND METHODS

The object of the study was the substance of the water-soluble antioxidant TS-13 synthesized at the

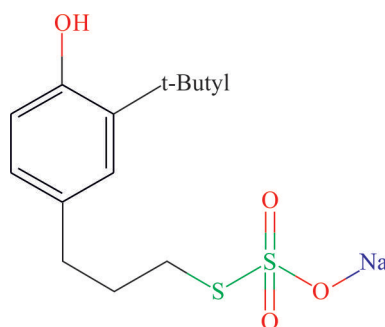


Рис. 1. Химическая формула TC-13
Fig. 1. Chemical formula of TS-13

сиданта 3-(3'-трет-бутил-4'-гидроксифенил)пропилтиосульфат натрия (ТС-13).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования была субстанция водорастворимого антиоксиданта ТС-13, синтезированная на кафедре химии НГПУ совместно с НИИ химии антиоксидантов (рис. 1).

Спектральные характеристики ТС-13 определены на спектрофотометре СФ-56 (Россия). Изучение электрохимических свойств субстанции проводили на полуавтоматическом анализаторе ТА-4 (ООО «НПП «Томьаналит», Томск) с программным обеспечением VALabTx в комплекте.

Все применяемые реактивы имели квалификацию «химически чистые» или «чистые для анализа». Аналитические методики валидированы согласно ОФС.1.1.0012 «Валидация аналитических методик» по следующим характеристикам: специфичность, линейность, предел обнаружения, предел количественного определения, правильность, прецизионность. Статистическую обработку полученных результатов проводили в соответствии с ОФС.1.1.0013 «Статистическая обработка результатов физических, физико-химических и химических испытаний» [4].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для качественной и количественной оценки субстанции или лекарственной формы используются физико-химические методы, такие как спектрофотометрия, хроматография, вольтамперометрия и др. Они позволяют оценить качество и количество лекарственных средств, вспомогательных веществ, используемых в фармацевтической практике, при этом испытуемые образцы могут находиться в жидком, твердом или газообразном состоянии [5].

В данном исследовании использовали метод спектрофотометрии в видимой области спектра поглощения.

Department of Chemistry of NSPU in collaboration with the Research Institute of Antioxidant Chemistry (Fig. 1).

The spectral characteristics of TS-13 were determined using an SPH-56 spectrophotometer (Russia). The electrochemical properties of the substance were studied using a TA-4 semi-automatic analyzer (Tomanalyt LLC, Tomsk) with VALabTx software.

All reagents used were qualified as “chemically pure” or “pure for analysis”. Analytical methods are validated according to the General Pharmacopeial Monograph (GPM) 1.1.0012 “Validation of analytical methods” according to the following characteristics: specificity, linearity, limit of detection, limit of quantification, accuracy, precision. Statistical processing of the obtained results was carried out in accordance with the GPM.1.1.0013 “Statistical processing of the results of physical, physico-chemical and chemical tests” [4].

RESULTS AND DISCUSSION

Physico-chemical methods such as spectrophotometry, chromatography, voltammetry, etc. are used for qualitative and quantitative assessment of a substance or dosage form. They make it possible to assess the quality and quantity of medicines and excipients used in pharmaceutical practice, while the test samples can be in a liquid, solid or gaseous state [5].

In this study, the method of spectrophotometry in the visible light range was used.

Technique: 0.1 g (accurately weighed quantity) of TS-13 was placed in a 100 ml graduated flask and dissolved in 10 ml of purified water, then diluted to the volume with the same solvent (solution A). A similar procedure was performed for dissolving TS-13 in hydrochloric acid (0,1 M HCl) and sodium hydroxide (0,1 M NaOH) – solutions B and C, respectively. Solutions of TS-13 with a concentration of 0,005% or higher were prepared by dilution for further investigation.

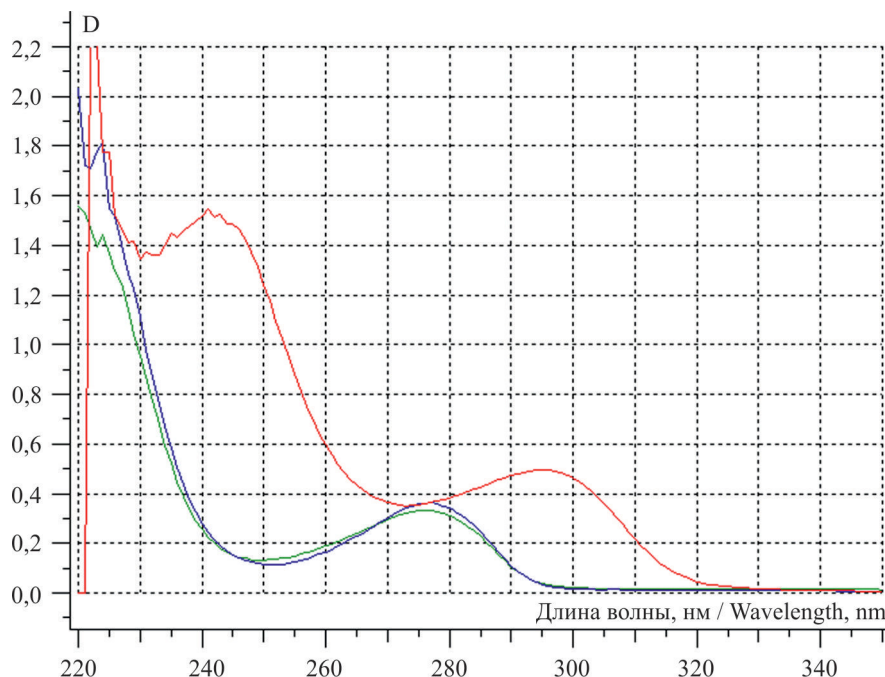


Рис. 2. Спектрофотометрия ТС-13 в 3 растворителях: красный цвет – 0,1 М NaOH ($\lambda = 296$ нм); зеленый цвет – 0,1 М HCl ($\lambda = 276$ нм); синий цвет – вода очищенная ($\lambda = 276$ нм)
Fig. 2. Spectrophotometry of TS-13 in 3 solvents: red – 0,1 M NaOH ($\lambda = 296$ nm); green – 0,1 M HCl ($\lambda = 276$ nm); blue – purified water ($\lambda = 276$ nm)

Методика: 0,1 г (точная навеска) ТС-13 помещали в мерную колбу объемом 100 мл и растворяли в 10 мл воды очищенной, затем доводили до метки тем же растворителем (раствор А). Аналогично проводили процедуру растворения ТС-13 в хлороводородной кислоте (0,1 М HCl) и гидроксиде натрия (0,1 М NaOH) – растворы Б и В соответственно. Путем разведения готовили растворы ТС-13 с концентрацией 0,005 % и выше для дальнейшего исследования.

На рис. 2 представлен спектр ТС-13 во всех 3 растворителях. Спектрофотометрический анализ показал, что ТС-13 в воде очищенной в УФ-спектре имел стабильный максимум при длине волны 276,0 нм. Поэтому для дальнейшего исследования использовали в качестве растворителя воду очищенную, так как субстанция ТС-13 легко растворялась в воде.

Результаты валидации спектрофотометрической методики количественного определения ТС-13 представлены в табл. 1.

Как видно из табл. 1, коэффициент линейности составляет 0,9979, что свидетельствует о пропорциональной зависимости аналитического сигнала от концентрации ТС-13 в испытуемом образце, а также о специфичности применяемой методики в целом. Коэффициент Стьюдента, полученный расчетным путем, не превышает

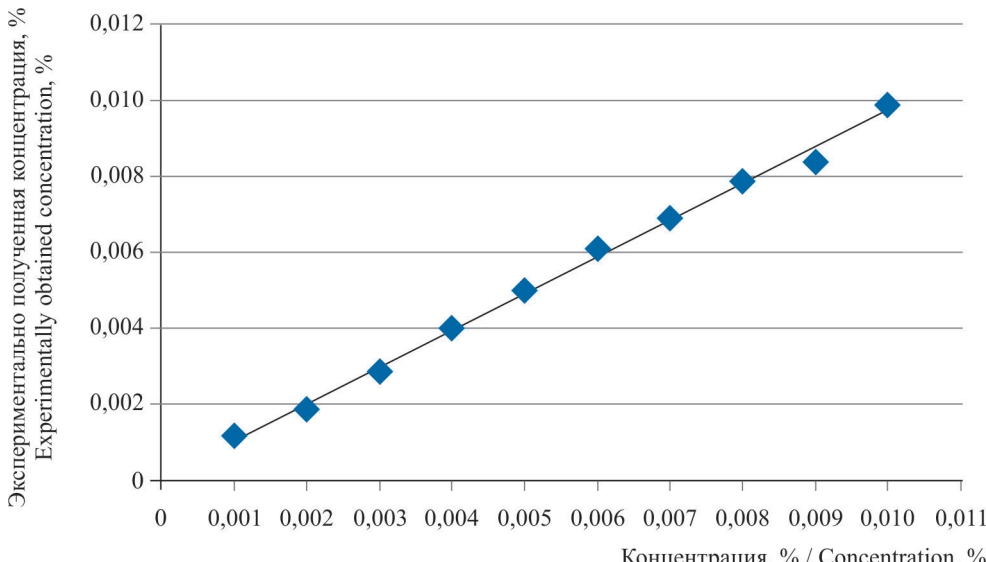
Fig. 2 shows the spectrum of TS-13 in all 3 solvents. Spectrophotometric analysis showed that TS-13 in purified water in the UV spectrum had a stable maximum at a wavelength of 276,0 nm. Therefore, for further study, purified water was used as a solvent, since the TS-13 substance is freely soluble in water.

The results of validation of the spectrophotometric method for the quantitative determination of TS-13 are presented in Table 1.

As can be seen from Table 1, the linearity coefficient is 0,9979, which indicates the proportional dependence of the analytical signal on the concentration of TS-13 in the test sample, as well as the specificity of the applied technique in general. The calculated value of t in Student's t -test does not exceed the reference value; therefore, the proposed method is not burdened with a systematic error and corresponds to the validation parameter of precision.

Simultaneously, to compare and confirm the accuracy of the spectrophotometric method, a voltammetric method for quantitative determination of the TS-13 substance was used, based on determining the relationship between the current strength and externally applied voltage in an electric cell comprising a polarizable (working electrode) and non-polarizable (reference electrode) electrodes [6]. The high sensitivity and specificity of the method make it

Таблица 1. Результаты валидации спектрофотометрической методики количественного определения ТС-13
Table 1. The results of validation of the spectrophotometric method for the quantitative determination of TS-13

Характеристика Parameter	Рассчитанное/фактическое значение определяемых параметров Calculated/virtual value of the parameters to be determined
Специфичность Specificity	Измеряли нулевой раствор: максимум при указанной длине волны 276 нм отсутствовал Blank solution was measured: the maximum at the afore-referenced wavelength of 276 nm was absent
Линейность Linearity	$y = 0,9614x + 0,0001; r = 0,9979$ 
Предел обнаружения Limit of detection	0,001 %
Предел количественного определения Limit of quantification	0,0023 %
Правильность Accuracy	$t_a = 0,94; t_{табл/ref} = 2,31 (p = 95 \%, f = 8)$ $t_a < t_{табл/ref}$
Внутрилабораторная прецизионность Intermediate precision	$s = 0,0000896; RSD = 1,79 \%$ $t_{расч/calc} = 1,12; t_{табл/ref} = 2,23 (p = 95 \%, f = 10)$ $t_a < t_{табл/ref}$

табличного значения, следовательно, предлагаемая нами методика не отягощена систематической ошибкой и соответствует валидационной характеристике прецизионности.

Для сравнения и подтверждения правильности спектрофотометрической методики параллельно была использована вольтамперометрическая методика количественного определения субстанции ТС-13, основанная на определении зависимости между силой тока и подаваемым извне напряжением в электрической ячейке, состоящей из поляризуемого (рабочий электрод) и неполяризуемого (электрод сравнения) электродов [6]. Высокая чувствительность и специфичность метода позволяют определять ничтожные количества анализируемых веществ в биологических образцах. Поэтому

possible to determine negligible amounts of analytes in biological samples. Therefore, we developed the voltammetric method for analyzing TS-13 not only to confirm the spectrophotometric method, but also with the prospect of studying this substance in biological samples, which is necessary for performing pharmacokinetic studies [7, 8].

Voltammetry parameters: working electrode is glass-carbon; reference electrodes are silver-chloride (Ag/AgCl, 3 M KCl); background electrolyte is a mixture of sodium hydroxide (2 M NaOH) and potassium chloride (3 M KCl); voltammogram recording mode: start of sweep $-1,0$ V, end of sweep $0,5$ V; speed of sweep 50 mV/s; the measuring range of the signal is $0,3 \pm 0,1$ V.

Technique: 0.1 g (accurately weighed quantity) of TS-13 was placed in a 100 ml graduated flask and

мы разрабатывали вольтамперометрическую методику анализа ТС-13 не только для подтверждения спектрофотометрической методики, но и с перспективой исследования данной субстанции в биологических образцах, что необходимо для проведения фармакокинетических исследований [7, 8].

Параметры вольтамперометрии: рабочий электрод – стеклоуглеродный; электроды сравнения – хлорсеребряные (Ag/AgCl , 3 М KCl); фоновый электролит – смесь натрия гидроксида (2 М NaOH) и калия хлорида (3 М KCl); режим записи вольтамперограммы: начало развертки –1,0 В, конец развертки 0,5В; скорость развертки 50 мВ/с; область измерения сигнала $0,3 \pm 0,1$ В.

Методика: 0,1 г (точная навеска) ТС-13 помещали в мерную колбу объемом 100 мл и растворяли в бидистиллированной воде, затем доводили до метки бидистиллированной водой – рабочий раствор. Объем пробы в ячейке с фоновым электролитом и пробой составлял 10 мкл.

На рис. 3 представлена вольтамперограмма субстанции ТС-13.

Результаты валидации вольтамперометрической методики количественного определения ТС-13 представлены в табл. 2.

Данные, приведенные в табл. 2, показывают, что предлагаемая вольтамперометрическая методика может быть использована для количественной оценки в модельных растворах и биологических образцах при пределе обнаружения 0,104 мг/л.

Также нами был разработан метод титрования как наиболее простой и доступный метод для количественной оценки фармацевтических субстанций. Известно, что органические сульфиды (присутствуют в структурной формуле изучаемой субстанции), предположительно за счет донорно-акцепторного взаимодействия, образуют комплексные соединения с солями тяжелых металлов [9, 10]. На состав и структуру образующегося комплекса влияют условия его получения и химическая структура вещества. Для данной водорастворимой субстанции (ТС-13) использовали метод меркурометрии, основанный на способности лекарственного препарата образовывать малодиссоциирующие соединения ртути (II).

Методика: 0,1 г (точная навеска) ТС-13 помещали в мерную колбу объемом 100 мл, добавляли 10 мл воды очищенной и перемешивали до полного растворения субстанции, затем доводили водой очищенной до метки (раствор А). В колбу для титрования объемом 150 мл помещали 5 мл раствора А, затем добавляли 3 капли дифе-

dissolved with bidistilled water, then diluted to the volume with bidistilled water (working solution). The volume of the sample in the cell with the background electrolyte and the sample was 10 μl .

Fig. 3 shows the voltammogram of the TS-13 substance.

The results of validation of the voltammetric technique for quantitative determination of TS-13 are presented in Table 2.

The data in Table 2 show that the proposed voltammetric technique can be used for quantitation in standard solutions and biological samples at a detection limit of 0,104 mg/l.

We also developed a titration method as the simplest and most accessible method for quantifying pharmaceutical substances. It is known that organic sulfides (present in the structural formula of the study substance), presumably because of donor-acceptor interaction, form coordination complexes with heavy metal salts [9, 10]. The composition and structure of the forming complex are influenced by the conditions of interaction and the chemical structure of a substance. For the studied water-soluble compound (TS-13), mercurimetry was used, based on the ability of the substance to form weakly dissociated mercury complexes(II).

Technique: 0.1 g (accurately weighed quantity) of TS-13 was placed in a 100 ml graduated flask, 10 ml of purified water was added and stirred until dissolution of the substance was complete, then diluted with water to the volume (solution A). 5 ml of solution A was placed in a 150 ml titration flask, then 3 drops of diphenylcarbazone and 1 ml of diluted nitric acid were added and mixed well, titrated with a solution of mercury nitrate (0,02 М $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$) until the purple color appears.

The results of validation of the titration method for the quantitative determination of TS-13 are presented in Table 3.

This technique can be used for the most concentrated solutions.

Presence of impurities in pharmaceutical substances formed during preparation or storage has a significant effect on pharmacological activity and the results of quantitative determination. Thin-layer chromatography is the simplest and most widely available method for determining impurities with the appropriate level of sensitivity and selectivity.

That method based on the difference in the rate of movement of the components of a mixture in a thin layer of sorbent as they move in the flow of mobile phase [11]. The separation occurs by adsorption, distribution or ion-exchange mechanism or some combination of them.

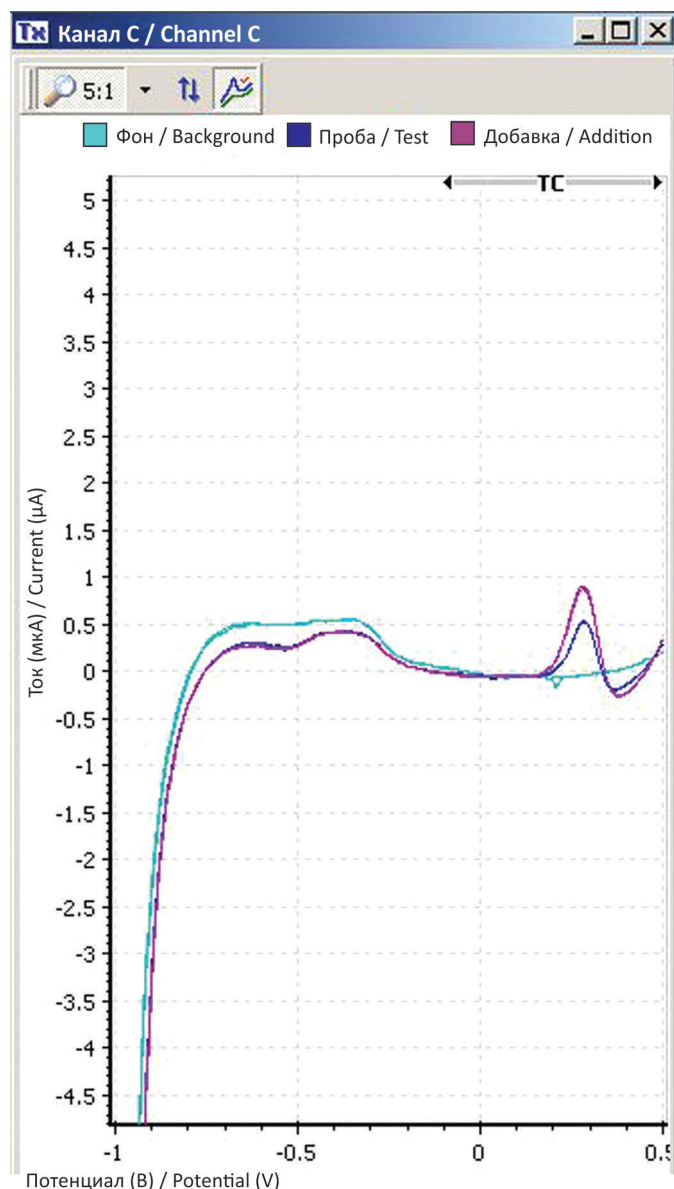


Рис. 3. Вольтамперограмма ТС-13 (фон – смесь 2 М NaOH и 3 М KCl; проба – 10 мкл; добавка – 10 мкл)
Fig. 3. The voltammogram of TS-13 (background – a mixture of 2 M NaOH and 3 M KCl; test – 10 µl; addition – 10 µl)

нилкарбазона и 1 мл разведенной азотной кислоты и хорошо перемешивали, титровали раствором нитрата ртути (0,02 М $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$) до появления фиолетового цвета.

Результаты валидации титриметрической методики количественного определения ТС-13 представлены в табл. 3.

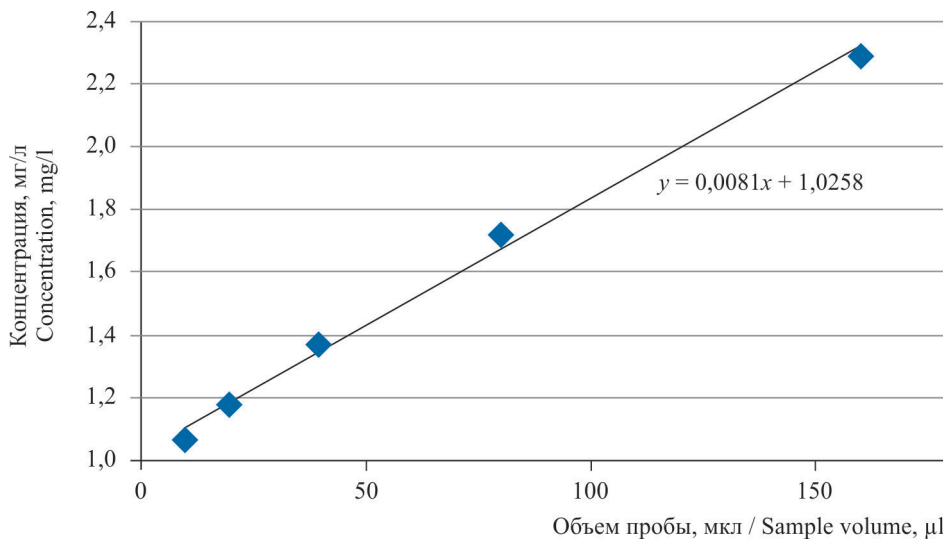
Данная методика может использоваться для наиболее концентрированных растворов.

Присутствие в фармацевтических субстанциях примесей, образующихся в процессе получения или хранения, оказывает значительное влияние на фармакологическую активность и результаты количественного определения.

Sorbfil plates (PTSH-AF-A-UV) (IMID LLC, Krasnodar) were used; mobile phase was represented by ethanol : acetone (8:2, 7:3, 4:6, 3:7, 2:8), ethanol : chloroform (9:1); test solution (TS-13): 0,25 g of the substance was dissolved in 5 ml of 40% ethyl alcohol. An iodine chamber was used as a detector.

Technique: 10 µl of the test sample solution was applied to the plate start line. The plate with applied samples was air-dried, placed in a chamber with mobile phase and chromatographed by the ascending method. When the mobile phase front passed about 80–90% of the plate length from the start line, the plate was removed from the chamber, dried to remove traces of solvents, placed

Таблица 2. Результаты валидации вольтамперометрической методики количественного определения ТС-13
Table 2. The results of validation of the voltammetric method for the quantitative determination of TS-13

Характеристика Parameter	Рассчитанное/фактическое значение определяемых параметров Calculated/virtual value of the parameters to be determined
Специфичность Specificity	Сигнал в фоновом электролите в области потенциала электроокисления/восстановления отсутствует No signal in the background electrolyte in the area of the redox potential
Линейность Linearity	$y = 0,0081x + 1,0258$; $r = 0,9975$ 
Предел обнаружения Limit of detection	0,104 мг/л
Предел количественного определения Limit of quantification	0,317 мг/л
Правильность Assay	$t_a = 0,94$; $t_{табл/ref} = 3,18$ ($p = 95 \%$, $f = 3$) $t_a < t_{табл/ref}$
Внутрилабораторная прецизионность Intermediate precision	$s = 0,001915$; $RSD = 1,94 \%$ $t_a = 1,82$; $t_{табл/ref} = 2,23$ ($p = 95 \%$, $f = 10$) $t_a < t_{табл/ref}$

Наиболее простым и общедоступным методом определения примесей, обладающим необходимым уровнем чувствительности и селективности, является хроматография в тонком слое сорбента.

Тонкослойная хроматография – вид хроматографии, основанный на различии в скорости перемещения компонентов смеси в плоском тонком слое сорбента при их движении в потоке подвижной фазы [11]. Разделение происходит по адсорбционному, распределительному или ионообменному механизму или какой-либо их комбинации.

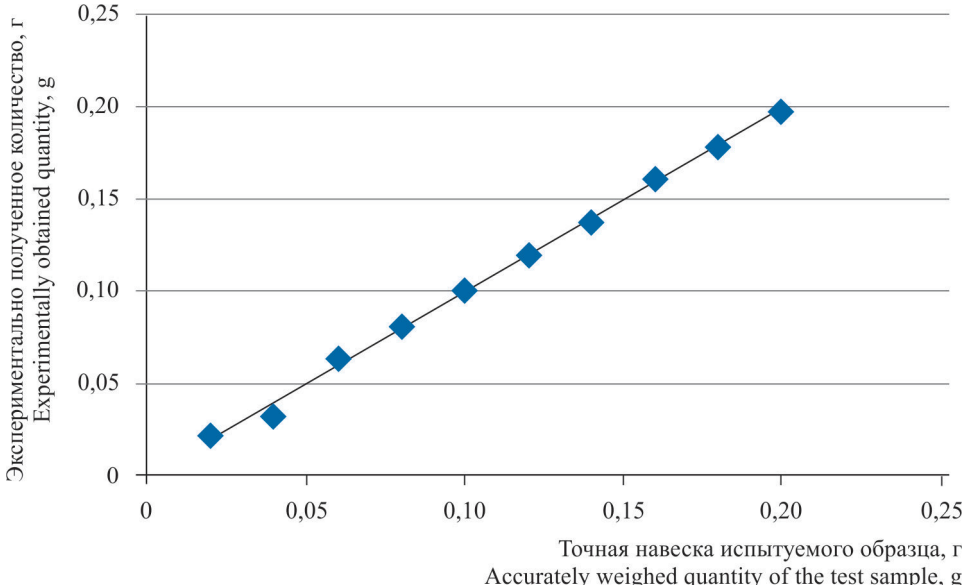
Использовали аналитические пластинки Sorbfil (ПТСХ-АФ-А-УФ) (ООО «ИМИД», Краснодар); подвижная фаза – этанол : ацетон (8:2, 7:3, 4:6, 3:7, 2:8), этанол : хлороформ (9:1); испытуемый раствор (ТС-13): 0,25 г субстанции раство-

in an iodine chamber, and then viewed in visible light. The chromatography conditions were determined in such a way that the study substance was localized either at the start or at the finish, while possible impurities could be distributed along the solvent flow line. The study was performed in two replicates.

The results of chromatographic analysis of TS-13 are presented on Fig. 4 and Table 4.

Based on the results obtained and taking into account the location of adsorption zones of the TS-13 test sample, it was found that in the predominance of acetone in the solvent system, TS-13 was localized at the finish line, whereas the predominance of ethanol resulted in slowdown of the test sample at the start line. It was also found that there were no extraneous adsorption zones on the chromatograms.

Таблица 3. Результаты валидации титриметрической методики количественного определения ТС-13
Table 3. The results of validation of the titration method for the quantitative determination of TS-13

Характеристика Parameter	Рассчитанное/фактическое значение определяемых параметров Calculated/virtual value of the parameters to be determined
Специфичность Specificity	При проведении контрольного опыта окраска индикатора появляется при добавлении 1 капли титранта
Линейность Linearity	$y = 0,997x - 0,0005$; $r = 0,9987$ 
Предел обнаружения Limit of detection	0,027 г
Предел количественного определения Limit of quantification	0,083 г
Правильность Accuracy	$t_a = 0,15$; $t_{табл/ref} = 2,31$ ($p = 95 \%$, $f = 8$) $t_a < t_{табл/ref}$
Внутрилабораторная прецизионность Intermediate precision	$s = 0,001523$; $RSD = 1,53 \%$ $t_{расч/calc} = 0,46$; $t_{табл/ref} = 2,23$ ($p = 95 \%$, $f = 10$) $t_a < t_{табл/ref}$

ряли в 5 мл 40% этилового спирта. В качестве детектора использовали йодную камеру.

Методика: на линию старта пластинки наносили по 10 мкл раствора испытуемого образца. Пластинку с нанесенными пробами сушили на воздухе, помещали в камеру с подвижной фазой и хроматографировали восходящим способом. Когда фронт подвижной фазы проходил около 80–90 % длины пластинки от линии старта, ее вынимали из камеры, сушили до удаления следов растворителей, помещали в йодную камеру, а затем просматривали в видимом свете. Условия хроматографирования определяли таким образом, чтобы изучаемое соединение было локализовано или на старте, или на финише, при этом возможные примеси могли быть распределены по линии движения растворителя. Исследование выполняли в двух повторностях.

CONCLUSION

Optimal conditions for spectrophotometric, voltammetric and titrimetric quantification of a novel substance of water-soluble antioxidant sodium 3-(3'-tert-butyl-4'-hydroxyphenyl)propylthiosulfonate for reference solutions were determined. The presented methods are validated according to the characteristics of specificity, precision, linearity, limit of detection and limit of quantification. A method for the detection of impurities using thin-layer chromatography was developed.

The results of this study showed the possibility of using the proposed techniques in quality control of a novel water-soluble antioxidant sodium 3-(3'-tert-butyl-4'-hydroxyphenyl) propylthiosulfonate.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

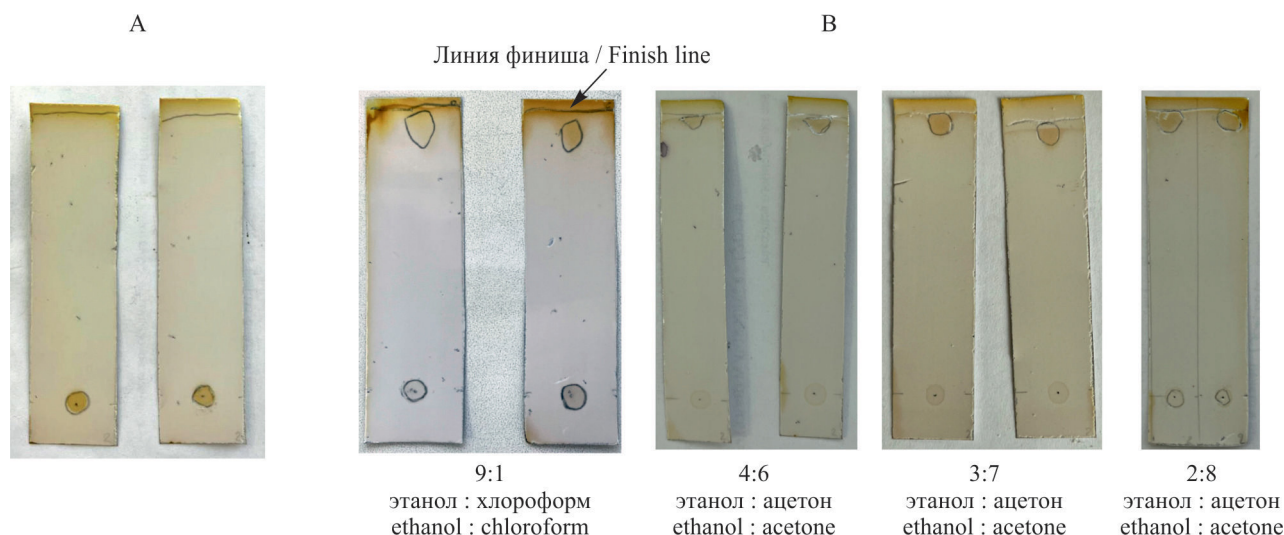


Рис. 4. Тонкослойная хроматография субстанции ТС-13:

А – на линии старта; В – в различных подвижных фазах

Fig. 4. Thin-layer chromatography of the TS-13 substance:

А – at the start line; В – in different mobile phases

Таблица 4. Подвижность субстанции ТС-13 в подвижных фазах

Table 4. Mobility of the TS-13 substance in different mobile phases

Подвижная фаза / Mobile phase	R_f
Этанол : хлороформ 9:1 / Ethanol : chloroform 9:1	0,85
Этанол : ацетон 7:3 / Ethanol : acetone 7:3	0,89
Этанол : ацетон 4:6 / Ethanol : acetone 4:6	0,93
Этанол : ацетон 3:7 / Ethanol : acetone 3:7	0,95
Этанол : ацетон 2:8 / Ethanol : acetone 2:8	0,96

Результаты хроматографического анализа ТС-13 представлены на рис. 4 и в табл. 4.

На основе полученных результатов, исходя из положения зон адсорбции испытуемого образца ТС-13, установили, что в случае преобладания ацетона в системе растворителей субстанция ТС-13 локализована на линии финиша, тогда как преобладание в системе этанола приводило к торможению испытуемого образца на линии старта. Также установлено, что посторонние зоны адсорбции на хроматограммах отсутствовали.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Определены оптимальные условия спектрофотометрического, вольтамперометрического и титриметрического количественного определе-

ния новой субстанции водорастворимого антиоксиданта 3-(3'-трет-бутил-4'-гидроксифенил)пропилтиосульфат натрия для модельных растворов. Представленные методики валидированы в соответствии с характеристиками специфичности, прецизионности, линейности, предела обнаружения и предела количественного определения. Разработана методика для выявления примесей с использованием тонкослойной хроматографии.

Результаты проведенного исследования показали возможность использования предлагаемых методик в контроле качества нового водорастворимого антиоксиданта 3-(3'-трет-бутил-4'-гидроксифенил)пропилтиосульфат натрия.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bardaweel S.K., Gul M., Alzweiri M. et al. Reactive oxygen species: the dual role in physiological and pathological conditions of the human body// Eurasian J. Med. 2018;50(3):193-201. DOI: 10.5152/eurasian-jmed.2018.17397.
2. Кандалинцева Н.В. Полифункциональные водорастворимые антиоксиданты фенольного типа // Окисление, окислительный стресс, антиоксиданты: Доклады и тезисы Всерос. конф. молодых ученых и VII школа им. акад. Н.М. Эмануэля. М.: РУДН, 2015. С. 81–101.
3. Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Кандалинцева Н.В. Фенольные антиоксиданты в биологии и медицине. Saarbrücken, 2012. 488 с.
4. Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания. URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15> (дата обращения: 09.01.2025)
5. Беликов В.Г. Фармацевтическая химия: учебное пособие в 2 частях. М.: МЕДпресс-информ, 2021. 616 с.
6. Будников Г.К., Майстренко В.Н., Вяселев М.Р. Основы современного электрохимического анализа. М.: Мир; Бином, 2003. 592 с.
7. Ferraz B.R.L., Guimarães T., Profeti D., Profeti L.P.R. Electrooxidation of sulfanilamide and its voltammetric determination in pharmaceutical formulation, urine and human serum on glassy electrode// J. Pharm. Anal. 2018;8(1):55-59. DOI: 10.1016/j.jpha.2017.10.004.
8. Мукундwi В.Т., Ивановская Е.А., Лигостаев А.В. Разработка методики количественного определения субстанции гидрофильного антиоксиданта ТФ-7 методом инверсионной вольтамперометрии // Journal of Siberian Medical Sciences. 2024;8(2):80-89. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-2-80-89.
9. Бельский Л.И., Бжезовский В.М., Власова Н.Н. Химия органических соединений серы. Общие вопросы. М.: Химия, 1988. 320 с.
10. Желиговская Н.Н., Черняев И.И. Химия комплексных соединений. М.: Высшая школа, 1966. 387 с.
11. Илларионова Е.А., Сыроватский И.П., Митина А.Э. Хроматография в тонком слое сорбента и ее использование в качественном анализе: учебное пособие. Иркутск: ИГМУ, 2022. 53 с.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Мукундwi Виллард Танака – аспирант кафедры фармацевтической химии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0009-0005-6654-7185.

Терентьева Светлана Владимировна – д-р фармацевт. наук, профессор кафедры фармацевтической химии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0003-3566-2760.

Лигостаев Александр Валерьевич – канд. фармацевт. наук, доцент кафедры фармацевтической химии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный

REFERENCES

1. Bardaweel S.K., Gul M., Alzweiri M. et al. Reactive oxygen species: the dual role in physiological and pathological conditions of the human body. *Eurasian J. Med.* 2018;50(3):193-201. DOI: 10.5152/eurasian-jmed.2018.17397.
2. Kandalintseva N.V. (2015). Polyfunctional water-soluble antioxidants of phenolic type. *Oxidation, Oxidative Stress, Antioxidants: Reports and Abstracts of the All Russian Conference of Young Scientists and VII School named after N.M. Emanuel*. Moscow: RUDN University. P. 81–101. (In Russ.)
3. Menshchikova E.B., Lankin V.Z., Kandalintseva N.V. (2012). *Phenolic Antioxidants in Biology and Medicine*. Saarbrücken. 488 p. (In Russ.)
4. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 15th ed. URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15> (accessed 09.01.2025) (In Russ.)
5. Belikov V.G. (2021). *Pharmaceutical Chemistry: Textbook in 2 Parts*. Moscow: MEDpress-Inform. 616 p. (In Russ.)
6. Budnikov G.K., Maistrenko V.N., Vyaselev M.R. (2003). *Fundamentals of Modern Electrochemical Analysis*. Moscow: Mir; Binom. 592 p. (In Russ.)
7. Ferraz B.R.L., Guimarães T., Profeti D., Profeti L.P.R. Electrooxidation of sulfanilamide and its voltammetric determination in pharmaceutical formulation, urine and human serum on glassy electrode. *J. Pharm. Anal.* 2018;8(1):55-59. DOI: 10.1016/j.jpha.2017.10.004.
8. Mukundwi V.T., Ivanovskaya E.V., Ligostaev A.V. Development of a method for quantitative determination of the hydrophilic antioxidant TF-7 substance by stripping voltammetry. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2024;8(2):80-89. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-2-80-89. (In Russ.)
9. Belenky L.I., Bzhezovsky V.M., Vlasova N.N. (1988). *Chemistry of Organic Sulfur Compounds. General Issues*. Moscow: Chemistry. 320 p. (In Russ.)
10. Zheligovskaya N.N., Chernyaev I.I. (1966). *Chemistry of Complex Compounds*. Moscow: Higher School. 387 p. (In Russ.)
11. Illarionova E.A., Syrovatsky I.P., Mitina A.E. (2022). *Thin-layer Chromatography and its use in Qualitative Analysis: Textbook*. Irkutsk: IGMU. 53 p. (In Russ.)

ABOUT THE AUTHORS

Willard T. Mukundwi – Post-graduate Student, Department of Pharmaceutical Chemistry, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0009-0005-6654-7185.

Svetlana V. Terentyeva – Dr. Sci. (Pharmaceut.), Professor, Departments of Pharmaceutical Chemistry, Novosibirsk State Medical University; Professor, Departments of Chemistry, Novosibirsk State Pedagogical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0003-3566-2760.

Alexander V. Ligostaev – Cand. Sci. (Pharmaceut.), Associate Professor, Department of Pharmaceutical Chemistry, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0009-0002-0317-6944.

Elena A. Ivanovskaya – Dr. Sci. (Pharmaceut.), Professor, Head, Department of Pharmaceutical Chemistry,

ный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0009-0002-0317-6944.

Ивановская Елена Алексеевна – д-р фармацевт. наук, профессор, заведующий кафедрой фармацевтической химии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0002-9338-5792.

Кандалинцева Наталья Валерьевна – д-р хим. наук, доцент, заведующий кафедрой химии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный педагогический университет» Минпросвещения России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0000-0001-6022-934X.

Олейник Алена Сергеевна – канд. хим. наук, доцент кафедры химии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный педагогический университет» Минпросвещения России, Новосибирск, Россия. ORCID: 0009-0007-1113-6682.

Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0002-9338-5792.

Natalia V. Kandalintseva – Dr. Sci. (Chem.), Associate Professor, Head, Department of Chemistry, Novosibirsk State Pedagogical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0000-0001-6022-934X.

Alena S. Oleynik – Cand. Sci. (Chem.), Associate Professor, Department of Chemistry, Novosibirsk State Pedagogical University, Novosibirsk, Russia. ORCID: 0009-0007-1113-6682.

