

Уф-спектрофотометрическое определение бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида и додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида

Шинко Т.Г., Терентьева С.В., Ивановская Е.А.

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России

Uv spectrophotometric determination of bis-[3'(3,5-di-tret-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide and dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide

Shinko T.G., Terentyeva S.V., Ivanovskaya E.A.

Novosibirsk State Medical University

АННОТАЦИЯ

Бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфид и додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфид — фенольные серосодержащие антиоксиданты. Цель настоящего исследования — разработка спектрофотометрических методик для установления подлинности и количественного определения этих субстанций. В ходе валидации методики построены калибровочные графики для оценки линейности в диапазоне концентраций 0.001–0.01 % для бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида и 0.0005–0.005 % — для додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида. Коэффициент корреляции для бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида составил 0.999, для додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида — 0.996; предел обнаружения, рассчитанный с помощью данных калибровочного графика, составил $3.14 \cdot 10^{-5}$ и $3.75 \cdot 10^{-5}$ %, предел количественного обнаружения — 0.00103 и 0.00108 % для бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида и додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида соответственно. Величина относительного стандартного отклонения (RSD) при оценке прецизионности обеих методик не превысила допустимых 2 %.

Таким образом, разработанные методики могут использоваться для установления подлинности и количественного определения бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида и додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида.

Ключевые слова: спектрофотометрия, антиоксидант, валидация методики.

ABSTRACT

Bis-[3'(5-di-tret-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide and dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide are new phenolic sulfur-containing antioxidants. The purpose of this study is to develop spectrophotometric techniques for establishing the authenticity and quantification of these substances. During the validation of the procedure, calibration graphs were constructed to assess linearity at concentrations ranging from 0.001 to 0.01% for bis [3'(3,5-di-tret-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide and from 0.0005 to 0.005% for dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide. The correlation coefficient for bis-[3'(3,5-di-tret-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide was 0.999, for dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide — 0.996; the detection limit calculated using the calibration graph data was $3.14 \cdot 10^{-5}$ and $3.75 \cdot 10^{-5}$ %, the limit of quantification was 0.00103 and 0.00108% for bis-[3'(3,5-di-tret-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl] sulfide and dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide respectively. The value of relative standard deviation (RSD) in assessing the precision of both methods did not exceed the permissible 2%.

Thus, the developed methods can be used to establish the authenticity and for the quantification of bis-[3'(5-di-tret-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide and dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide.

Keywords: spectrophotometry, antioxidant, method validation.

Поступила 11.10.2019
Принята 05.11.2019

*Автор, ответственный за переписку
Шинко Татьяна Геннадьевна: ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России. 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52.
E-mail: shinko.tatiana@yandex.ru

Received 11.10.2019
Accepted 05.11.2019

*Corresponding author
Shinko Tatyana Gennadyevna: Novosibirsk State Medical University, 52, Krasny Prospect, Novosibirsk, 630091, Russia.
E-mail: shinko.tatiana@yandex.ru

ВВЕДЕНИЕ

Бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфид и додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфид — фенольные серосодержащие антиоксиданты, разработанные на кафедре органической химии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный педагогический университет» совместно с ФГБУН «Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова» СО РАН. Предварительные испытания показали, что бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфид и додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфид способны нейтрализовать свободные радикалы в организме человека, избыток которых угнетает защитные функции иммунной системы, приводит к повреждению клеток и препятствует их восстановлению; активируют регенераторные процессы на клеточно-мембранном уровне и являются эффективным индуктором ключевых ферментов биотрансформации. На основании указанных свойств предполагается возможная эффективность бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксибензил)пропил]сульфида и додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида при комплексном лечении доброкачественных (миомы, фибромы, липомы и др.) и злокачественных (рак молочной железы, легких, печени и др.) новообразований, заболеваний печени (гепатиты, циррозы), воспалительных процессов (гастрит, дуоденит, холецистит и др.), ишемической болезни сердца. Таким образом, бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфид и додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфид могут рассматриваться в качестве перспективных лекарственных субстанций.

К качеству фармацевтических субстанций предъявляются серьезные требования, которые реализуются в виде комплексной стандартизации субстанций по различным показателям, таким как подлинность, растворимость, количественное определение, наличие примесей и др. Соответствие производимых субстанций и лекарственных препаратов стандартам качества подтверждается путем проведения фармацевтического анализа с применением специально разработанных методик. Для бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксибензил)пропил]сульфида и додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида, как перспективных фармацевтических субстанций, еще не установлены параметры стандартизации и, соответственно, не разработаны методики, позволяющие с необходимой специфичностью, точностью и прецизионностью оценить качество данных субстанций.

INTRODUCTION

Bis-[3'(3,5-di-tret-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide and dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide are phenolic sulfur-containing antioxidants developed at the Department of Organic Chemistry of Novosibirsk State Pedagogical University in conjunction with the Novosibirsk Institute of Organic Chemistry named after N.N. Vorozhtsov. Preliminary tests showed that bis-[3'(3,5-di-tret-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide and dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide can neutralize free radicals in the human body, an excess of which inhibits the protective functions of the immune system, leads to cell damage and prevents their recovery; activate regenerative processes at the cell-membrane level and are an effective inducer of key biotransformation enzymes. Based on these properties, it is suggested that bis-[3'(3,5-di-tret-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide and dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide may be effective in the comprehensive treatment of benign (myomas, fibromas, lipomas etc.) and malignant (breast, lung, liver etc.) tumors, liver diseases (hepatitis, cirrhosis), inflammatory processes (gastritis, duodenitis, cholecystitis etc.), coronary heart disease. Thus, bis-[3'(3,5-di-tret-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide and dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide can be considered as promising drug substances.

Serious requirements are placed on the quality of pharmaceutical substances, which are implemented in the form of a comprehensive standardization of substances with respect to various parameters, such as authenticity, solubility, quantitative evaluation, presence of impurities etc. The compliance of the produced substances and drugs with quality standards is confirmed by pharmaceutical analysis using specially developed methodologies. So far no standardization parameters and, accordingly, no methods have been developed, that allow to assess the quality of bis-[3'(3,5-di-tret-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide and dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide, as promising pharmaceutical substances, with necessary specificity, accuracy and precision.

AIM OF THE RESEARCH

Selection of spectrophotometric conditions for the quantitative determination and authentication of bis-[3'(3,5-di-tret-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide and dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide. The method of spectrophotometry

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Подбор спектрофотометрических условий для количественного определения и установления подлинности бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксибензил)пропил]сульфида и додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида. Метод спектрофотометрии в ультрафиолетовом диапазоне (УФ-спектрофотометрии) был выбран, поскольку является надежным и в то же время простым в исполнении. Кроме того, анализ химической структуры исследуемых субстанций показал возможность применения данного метода в их фармацевтическом анализе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Прибор. Спектры поглощения и значения оптической плотности получены на однолучевом автоматизированном спектрофотометре СФ-56 (ООО «ОКБ Спектр», Россия).

Материалы. В качестве объекта исследования использовали образцы субстанций бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксибензил)пропил]сульфида серии 54050 и додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида серии 53280, предоставленные НИИ химии антиоксидантов (Новосибирск). Для приготовления растворов исследуемой субстанции использовался спирт этиловый 95%.

Валидация аналитической методики. В рамках валидации разрабатываемых методик проводилась оценка их специфичности, прецизионности (повторяемости), линейности, правильности, пределов обнаружения и количественного определения [1, 2]. Валидацию методик проводили в соответствии с общей фармакопейной статьей (ОФС) 1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик», обработку результатов — в соответствии с ОФС 1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента» [1].

При оценке специфичности методик сравнивались ультрафиолетовые (УФ) спектры растворов исследуемых субстанций и УФ-спектры эквивалентных смесей растворителей без добавления исследуемых субстанций. УФ-спектр смесей растворителей не должен обнаруживать максимумов и минимумов поглощения, характерных для УФ-спектров бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксибензил)пропил]сульфида и додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида.

Прецизионность (повторяемость / сходимость). Оценивалось относительное стандартное отклонение (RSD, %) между результатами 10 повторений измерения оптической плотности 0.005 и 0.002% растворов бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксибензил)пропил]суль-

фиде в ультрафиолетовом диапазоне (UV spectrophotometry) was chosen because it is reliable and at the same time simple to perform. In addition, analysis of the chemical structure of the investigated substances showed the possibility of using this method in their pharmaceutical analysis.

MATERIALS AND METHODS

The device. Absorption spectra and optical density values were obtained on a single-beam automated spectrophotometer SF-56 (OKB Spectrum, Russia).

Materials. As an object of research, we used samples of substances of bis-[3'(3,5-di-tret-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide series 54050 and dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide series 53280 provided by the Research Institute of Chemistry of Antioxidants (Novosibirsk). Ethyl alcohol 95% was used to prepare solutions of the test substance.

Validation of analytical methods. As part of the validation of the developed methods, their specificity, precision (repeatability), linearity, accuracy, detection limits and quantitative determination were assessed [1, 2]. The methods were validated in accordance with the General Pharmacopoeial Article (GPA) 1.1.0012.15 "Validation of Analytical Methods", the results were processed in accordance with the GPA 1.1.0013.15 "Statistical Processing of the Results of a Chemical Experiment" [1].

When assessing the specificity of the methods, the ultraviolet (UV) spectra of the solutions of the studied substances and the UV spectra of equivalent solvent mixtures without adding the studied substances were compared. The UV spectrum of solvent mixtures should not show the absorption maxima and minima characteristic of the UV spectra of bis-[3'(3,5-di-tret-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide and dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide.

Precision (repeatability / convergence). The relative standard deviation (RSD, %) between the results of 10 replicates of the measurement of the optical density of 0.005% and 0.002% solutions of bis-[3'(3,5-di-tret-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide and dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide respectively was evaluated. RSD should not exceed 2% [3].

To establish linearity, 10 solutions of the test substance in 95% ethanol were prepared in the concentration range of bis-[3'(3,5-di-tret-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide 0.001–0.01%

фида и додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида соответственно. RSD не должно превышать 2 % [3].

Для установления линейности были приготовлены 10 растворов исследуемой субстанции в 95% этиловом спирте в диапазоне концентраций бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида 0.001–0.01 % и додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида — 0.0005–0.005 %. Калибровочный график построили на основе данных измеренных оптических плотностей растворов относительно их номинальной концентрации. Оценку линейности проводили по значению коэффициента корреляции ($r \geq 0.990$), рассчитанного по методу наименьших квадратов.

Правильность методик количественного определения бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида и додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида оценивалась на основании соответствия линейности и прецизионности установленным критериям приемлемости и статистически незначимого отличия свободного члена уравнения линейной зависимости от нуля [4, 5]

$$a < t(95\%, n - 2) \cdot S_a, \quad (1)$$

где a — свободный член уравнения линейной зависимости;

t — коэффициент Стьюдента;

95 % — доверительная вероятность;

n — количество измерений;

S_a — стандартное отклонение свободного члена линейной зависимости.

Предел обнаружения (ПО) и предел количественного определения (ПКО) рассчитывались для обеих исследуемых субстанций на основе данных соответствующего калибровочного графика, согласно уравнениям (2) и (3):

$$\text{ПО} = 3.3Sy / a; \quad (2)$$

$$\text{ПКО} = 10Sy / a, \quad (3)$$

где Sy — стандартная ошибка;

a — наклон соответствующей калибровочной кривой.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе предварительных исследований было установлено, что спектры поглощения в ультра-

and dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide 0.0005–0.005%. A calibration graph was constructed on the basis of the data of the measured optical densities of the solutions in relation to their nominal concentration. The linearity was estimated by the value of the correlation coefficient ($r \geq 0.990$) calculated by the least squares method.

The correctness of the quantitative determination of bis-[3'(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide and dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide was evaluated on the basis of linearity and precision compliance with the established acceptance criteria and statistically insignificant difference of the absolute term of the linear dependence equation from zero [4, 5]

$$a < t(95\%, n - 2) \cdot S_a, \quad (1)$$

where a — absolute term of the linear equation;

t — Student's coefficient;

95% — confidence coefficient;

n — number of measurements;

S_a — linear standard deviation.

The detection limit (DL) and the limit of quantitative determination (LQD) were calculated for both studied substances based on the data of the corresponding calibration graph, according to equations (2) and (3):

$$\text{DL} = 3.3Sy / a; \quad (2)$$

$$\text{LQD} = 10Sy / a, \quad (3)$$

where Sy — standard error;

a — slope of the corresponding calibration curve.

RESULTS AND DISCUSSION

During preliminary studies, it was found that the absorption spectra in the ultraviolet range (230–300 nm) of solutions of bis-[(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide in various solvents (95% ethyl alcohol, aqueous-alcoholic solution of HCl, aqueous-alcoholic solution of NaOH) have the same structure and stable minimum and maximum absorption ($\lambda_{\min} = 245 \pm 2$ nm, $\lambda_{\max} = 277 \pm 2$ nm). Thus, for further studies of bis-[3'(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide, 95% ethyl alcohol was used as a solvent. The absorption spectra in the ultraviolet range of dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide in various solvents (95% ethyl alcohol, aqueous-al-

фиолетовом диапазоне (230–300 нм) растворов бис-[(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида в различных растворителях (95% спирте этиловом, водно-спиртовом растворе HCl, водно-спиртовом растворе NaOH) имеют одинаковую структуру и стабильные минимум и максимум поглощения ($\lambda_{\min} = 245 \pm 2$ нм, $\lambda_{\max} = 277 \pm 2$ нм). Таким образом, для дальнейших исследований бис-[(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида в качестве растворителя использовали 95% спирт этиловый. Спектры поглощения в ультрафиолетовом диапазоне додецил(3,5-диметил-4-гидроксифенил)сульфида в различных растворителях (95% спирте этиловом, водно-спиртовом растворе HCl и водно-спиртовом растворе NaOH) имеют различную структуру. В 95% спирте этиловом, водно-спиртовом растворе HCl наблюдаются стабильные минимум и максимум поглощения ($\lambda_{\min} = 260 \pm 2$ нм, $\lambda_{\max} = 280 \pm 2$ нм). Спектр субстанции в водно-спиртовом растворе NaOH имеет стабильный максимум поглощения ($\lambda_{\max} = 258 \pm 2$ нм). Удельный коэффициент светопоглощения $E_{1\% / 1 \text{ см}}$ был рассчитан для различных растворов и оказался выше для спирто-водно-щелочного раствора ($E_{1\% / 1 \text{ см}} = 245.16$), чем для раствора в 95% спирте этиловом ($E_{1\% / 1 \text{ см}} = 42.27$). Поэтому для дальнейших исследований додецил(3,5-диметил-4-гидроксифенил)сульфида в качестве растворителя использовался водно-спиртовой раствор NaOH (0.1 M NaOH : 95% C₂H₅OH — 4 : 6).

Специфичность. УФ-спектры 0.005% раствора бис-[(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида и спирта этилового 95% (рис. 1, 2) не имеют общих максимумов и минимумов поглощения, что свидетельствует о достижении необходимой специфичности методики. Спектр бис-[(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида имеет характерный максимум при $\lambda_{\max} = 277 \pm 2$ нм и минимум при $\lambda_{\min} = 245 \pm 2$ нм. Эти данные могут использоваться при определении подлинности исследуемой субстанции бис-[(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида.

УФ-спектры 0.002% раствора додецил(3,5-диметил-4-гидроксифенил)сульфида и водно-спиртового раствора NaOH (0.1 M NaOH : 95% C₂H₅OH — 4 : 6) (рис. 3, 4) не имеют общих максимумов и минимумов поглощения, что свидетельствует о достижении необходимой специфичности методики. Спектр додецил(3,5-диметил-4-гидроксифенил)сульфида имеет характерный максимум при $\lambda_{\max} = 258 \pm 2$ нм. Это характерное для данной субстанции смещение максимумов

coholic HCl solution and aqueous-alcoholic NaOH solution) have a different structure. In a 95% alcohol ethyl, aqueous-alcoholic HCl solution, stable minimum and maximum absorption are observed ($\lambda_{\min} = 260 \pm 2$ нм, $\lambda_{\max} = 280 \pm 2$ нм). The spectrum of the substance in an aqueous-alcoholic NaOH solution has a stable absorption maximum ($\lambda_{\max} = 258 \pm 2$ нм). The specific light absorption coefficient $E_{1\% / 1 \text{ см}}$ was calculated for various solutions and turned out to be higher for an alcohol-aqueous-alkaline solution ($E_{1\% / 1 \text{ см}} = 245.16$) than for a solution in 95% ethyl alcohol ($E_{1\% / 1 \text{ см}} = 42.27$). Therefore, for further studies of dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide, a aqueous-alcohol solution of NaOH (0.1 M NaOH: 95% C₂H₅OH — 4 : 6) was used as a solvent.

Specificity. UV spectra of a 0.005% solution of bis-[(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl] sulfide and 95% ethyl alcohol (Fig. 1, 2) do not have common absorption maxima and minima which indicates the achievement of the necessary specificity of the technique. The spectrum of bis-[(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide has a characteristic maximum at $\lambda_{\max} = 277 \pm 2$ нм and a minimum at $\lambda_{\min} = 245 \pm 2$ нм. These data can be used to determine the authenticity of the test substance bis-[(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide.

UV spectra of a 0.002% solution of dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide and a aqueous-alcohol solution of NaOH (0.1 M NaOH : 95% C₂H₅OH — 4 : 6) (Fig. 3, 4) have no common maximum and minimum absorption, which indicates the achievement of the necessary specificity of the technique. The spectrum of dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxyphenyl)sulfide has a characteristic maximum at $\lambda_{\max} = 258 \pm 2$ нм. This shift of the absorption maximum, characteristic of this substance, as compared with the solution in 95% ethyl alcohol ($\lambda_{\max} = 280 \pm 2$ нм) can be used to determine the authenticity of the studied substance dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide.

Precision. Evaluation of the repeatability / convergence of the results of 10 repetitions of the optical density measurement of a 0.005% solution of bis-[(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide ($\lambda_{\max} = 277$ нм) and a 0.002% solution of dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide ($\lambda_{\max} = 259$ нм) showed good reproducibility with RSD = 2 and 1.4% respectively, which meets the established criterion of acceptability [1, 6, 7]. The results of statistical

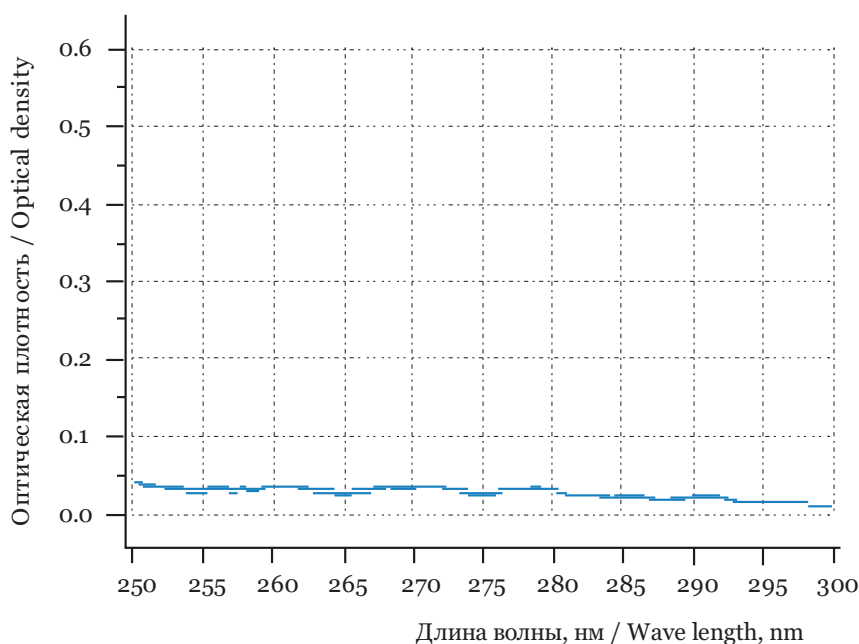


Рис. 1. УФ-спектр растворителя — спирта этилового 95%
Fig. 1. UV spectrum of solvent — ethyl alcohol 95%

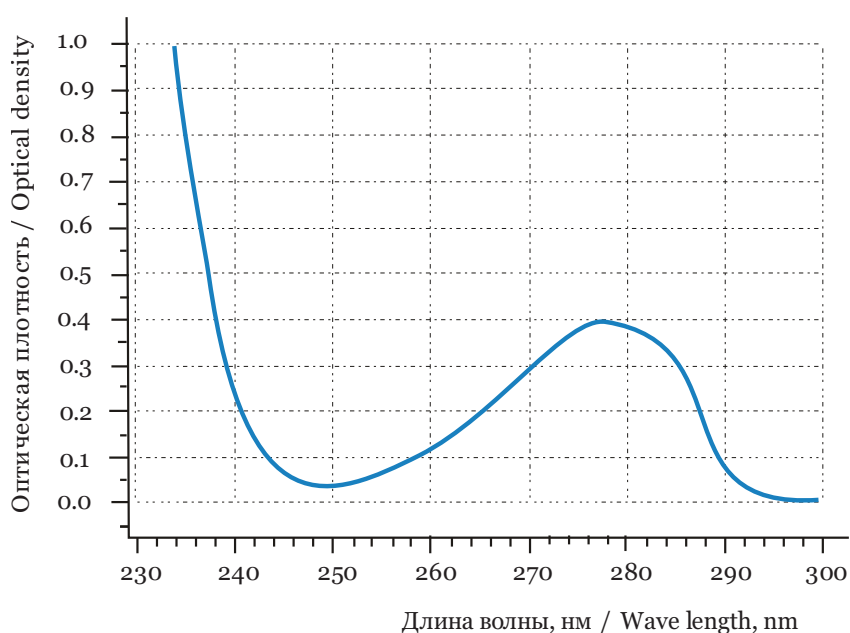


Рис. 2. УФ-спектр раствора бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида
Fig. 2. UV spectrum of bis-[3'(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide solution

ма поглощения по сравнению с раствором в 95% спирте этиловом ($\lambda_{\text{max}} = 280 \pm 2$ нм) может использоваться при определении подлинности исследуемой субстанции додецил(3,5-диметил-4-гидроксифенил)сульфида.

Прецизионность. Оценка повторяемости/сходимости результатов 10 повторений измерения оптической плотности 0.005% раствора бис-

processing obtained during the assessment of precision data are presented in Table 1.

Also, to assess the precision of the technique, control charts of individual values and moving ranges of optical densities for each of the solutions were constructed (Fig. 5, 6). None of the values on the charts goes beyond the upper / lower control boundaries, which indicates the absence of influ-

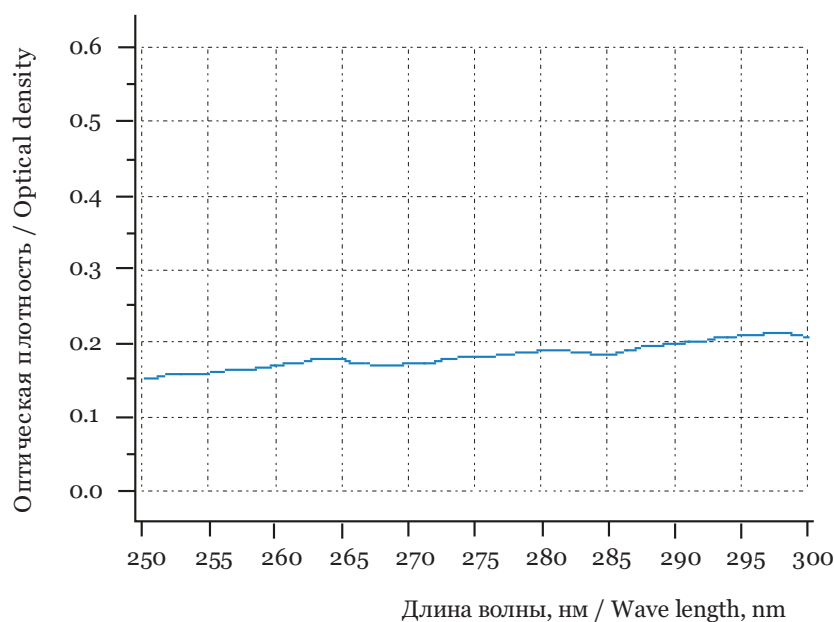


Рис. 3. УФ-спектр смеси растворителей 0.1M NaOH : 95% C₂H₅OH

Fig. 3. UV spectrum of solvent mixture 0.1M NaOH : 95% C₂H₅OH

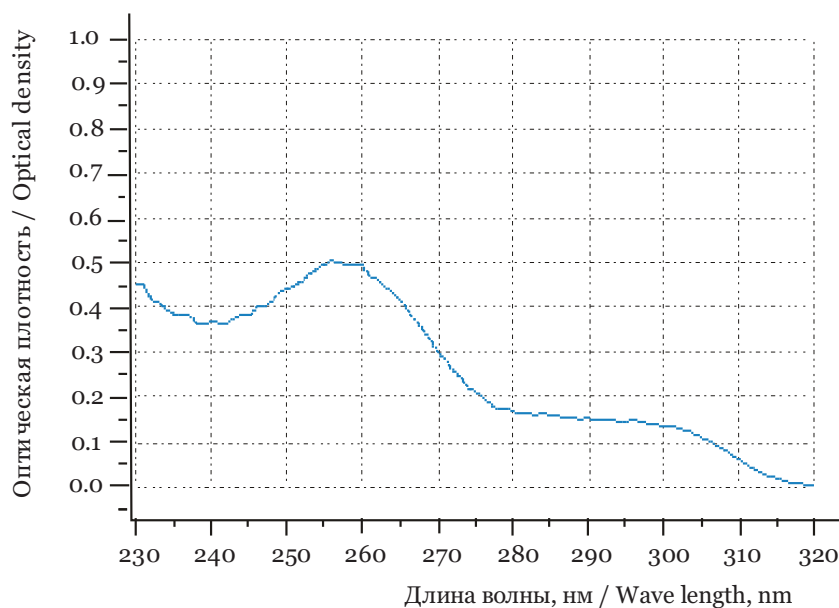


Рис. 4. УФ-спектр раствора додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида

Fig. 4. UV spectrum of dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide solution

[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида ($\lambda_{\max} = 277$ нм) и 0.002% раствора додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида ($\lambda_{\max} = 259$ нм) продемонстрировала хорошую воспроизводимость с RSD = 2 и 1.4 % соответственно, что удовлетворяет установленному критерию приемлемости [1, 6, 7]. Результаты статистической обработки полученных в ходе оценки прецизионности данных представлены в табл. 1.

ence on the analysis results of nonrandom (special) factors and testifies the statistical controllability of the analysis processes [2].

Linearity. Calibration graphs for the substances bis-[3'(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide and dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide are shown in Fig. 7, 8. The correlation coefficient (r) between the 10 measured optical densities and the corresponding nominal concen-

Таблица 1. Повторяемость/сходимость результатов измерения оптической плотности исследуемых субстанций
Table 1. Repeatability / convergence of the measurement results of the optical density in the investigated substances

Субстанция, концентрация % Substance, concentration %	Оптическая плотность Optical density	RSD, %
Бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфид, 0.005 % Bis-[3'(3,5-di-tret-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide, 0.005%	0.434	2.0
	0.4866	
	0.4476	
	0.5021	
	0.4553	
	0.4719	
	0.4593	
	0.4766	
	0.4882	
	0.4752	
Додецил(3,5-диметил-4-гидроксibenзил)сульфид, 0.002 % Dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide, 0.002%	0.4097	1.4
	0.3961	
	0.4611	
	0.3883	
	0.3664	
	0.3888	
	0.3851	
	0.3894	
	0.377	
	0.3977	

Примечание. RSD — относительное стандартное отклонение.
 Note. RSD — relative standard deviation.

Также для оценки прецизионности методики были построены контрольные карты индивидуальных значений и скользящих размахов оптических плотностей для каждого из растворов (рис. 5, 6). Ни одно из значений на картах не выходит за верхние/нижние контрольные границы, что говорит об отсутствии влияния на результаты анализа неслучайных (специальных) факторов и свидетельствует о статистической управляемости процессов анализа [2].

Линейность. Калибровочные графики для субстанций бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида и додецил(3,5-диметил-4-гидроксibenзил)сульфида представлены на рис. 7, 8. Коэффициент корреляции (r) между 10 измеренными оптическими плотностями и соответствующими им номинальными концентрациями раствора исследуемой субстанции составил 0.999 для бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида и 0.996 для додецил(3,5-диметил-4-гидроксibenзил)сульфида, что соответствует установленному крите-

риериям. Коэффициент корреляции (r) между 10 измеренными оптическими плотностями и соответствующими им номинальными концентрациями раствора исследуемой субстанции составил 0.999 для бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида и 0.996 для додецил(3,5-диметил-4-гидроксibenзил)сульфида, что соответствует установленному крите-

риериям. Коэффициент корреляции (r) между 10 измеренными оптическими плотностями и соответствующими им номинальными концентрациями раствора исследуемой субстанции составил 0.999 для бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида и 0.996 для додецил(3,5-диметил-4-гидроксibenзил)сульфида, что соответствует установленному крите-

риериям. Коэффициент корреляции (r) между 10 измеренными оптическими плотностями и соответствующими им номинальными концентрациями раствора исследуемой субстанции составил 0.999 для бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида и 0.996 для додецил(3,5-диметил-4-гидроксibenзил)сульфида, что соответствует установленному крите-

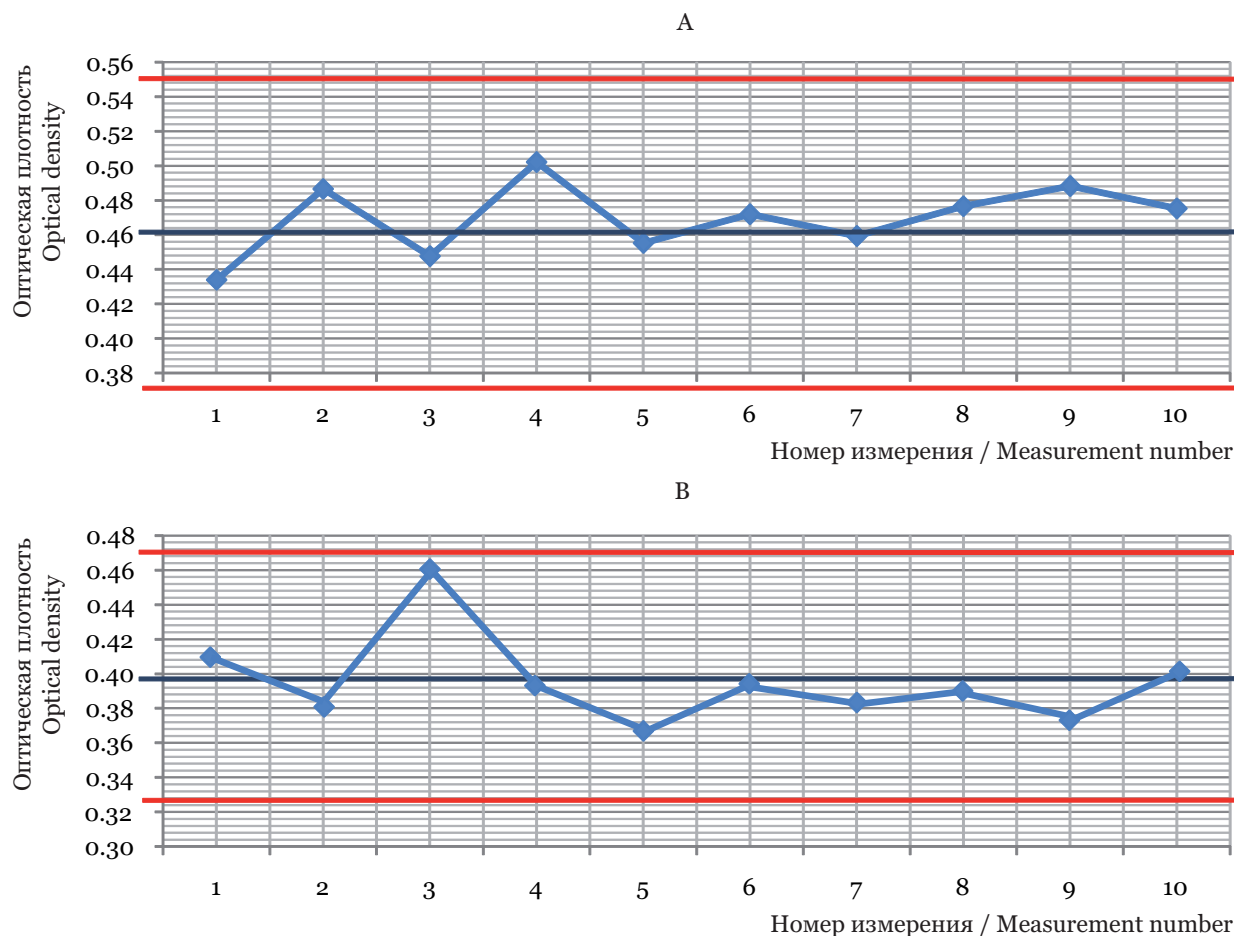


Рис. 5. Контрольная карта индивидуальных значений оптической плотности 0.005% раствора бис-[3'-(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида (А) и 0.002% раствора додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида (В) (— верхняя и нижняя контрольные границы; — средняя линия; ♦ отдельные значения)

Fig. 5. Control chart of individual values of optical density of bis-[3'-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide solution, 0.005% (A) and of dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide solution, 0.002% (B) (— upper and lower control boundaries; — middle line; ♦ separate values)

рию приемлемости [1, 8]. Результаты статистической обработки данных, полученных в ходе исследования линейности, приведены в табл. 2.

Правильность методик для бис-[3'-(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида и додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида подтверждается соответствием параметров линейности и прецизионности, а также статистически незначимым отличием свободного члена уравнения линейной зависимости от нуля для каждой из методик [9, 10].

Предел обнаружения и предел количественного определения, рассчитанные на основе данных калибровочных графиков, составили 0.0000314 и 0.00103 % для бис-[3'-(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида и 0.0000375 и 0.00108 % для додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида соответственно (см. табл. 2).

CONCLUSION

As a result of the studies, it was established that UV spectrophotometry can be used for confirmation of the authenticity and for quantitative determination of the substances bis-[3'-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide and dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide. The data obtained can also be used to develop methods for the quantitative determination or determination of impurities by high performance liquid chromatography using a UV spectrophotometric detector [11]. However, to fully complete the development of spectrophotometric methods for the quantitative determination of bis [3'-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide and dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide, it is also necessary to evaluate internal and inter-laboratory reproducibility, accuracy and stability of the methodology, which will be the object of further research.

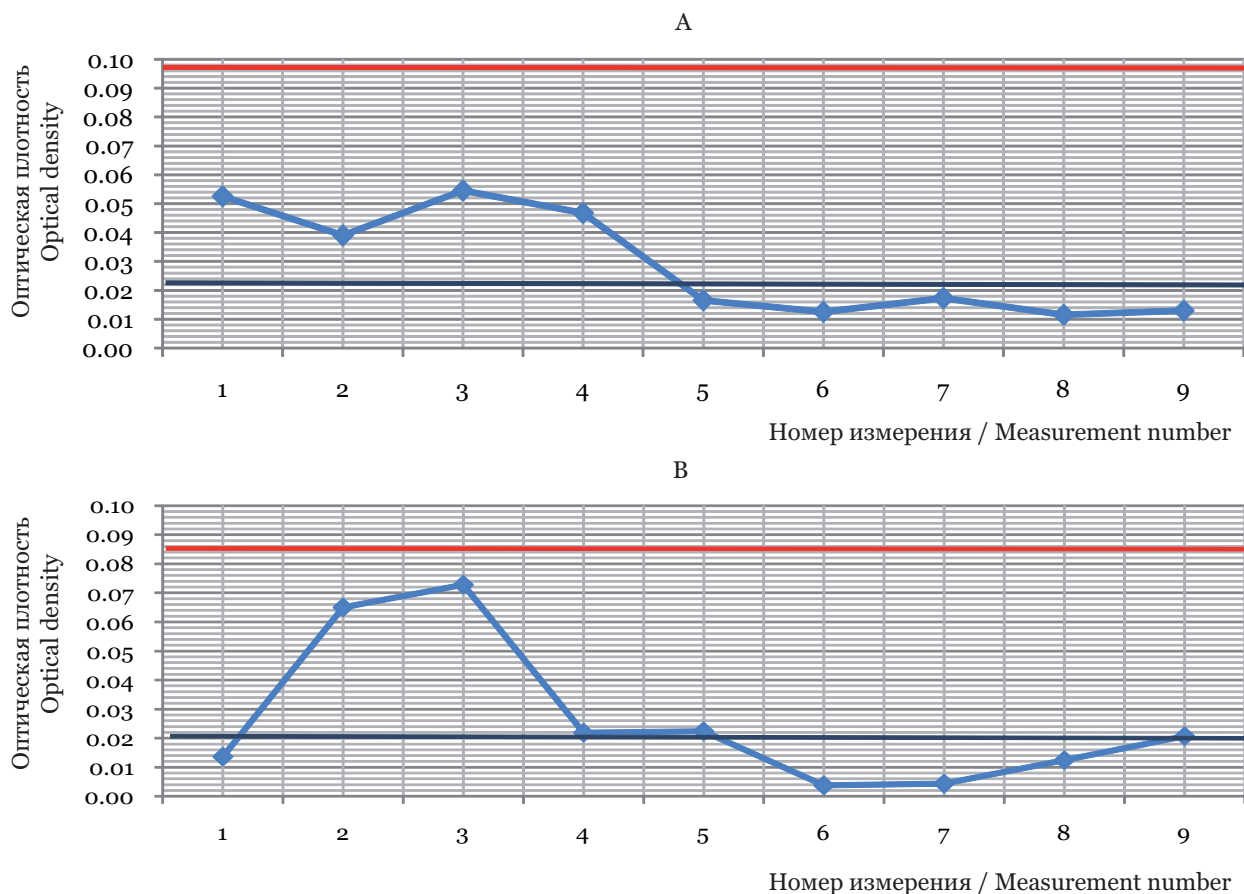


Рис. 6. Контрольная карта скользящих размахов оптической плотности 0.005% раствора бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида (А) и 0.002% раствора додецил(3,5-диметил-4-гидроксibenзил)сульфида (В) (— верхняя контрольная граница; — средняя линия; ♦ отдельные значения)

Fig. 6. Control chart of the moving ranges of optical density of bis-[3'(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide solution, 0.005% (A) and of dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide solution, 0.002% (B) (— upper control boundary; — middle line; ♦ individual values of the moving ranges of the optical density of the test solution)

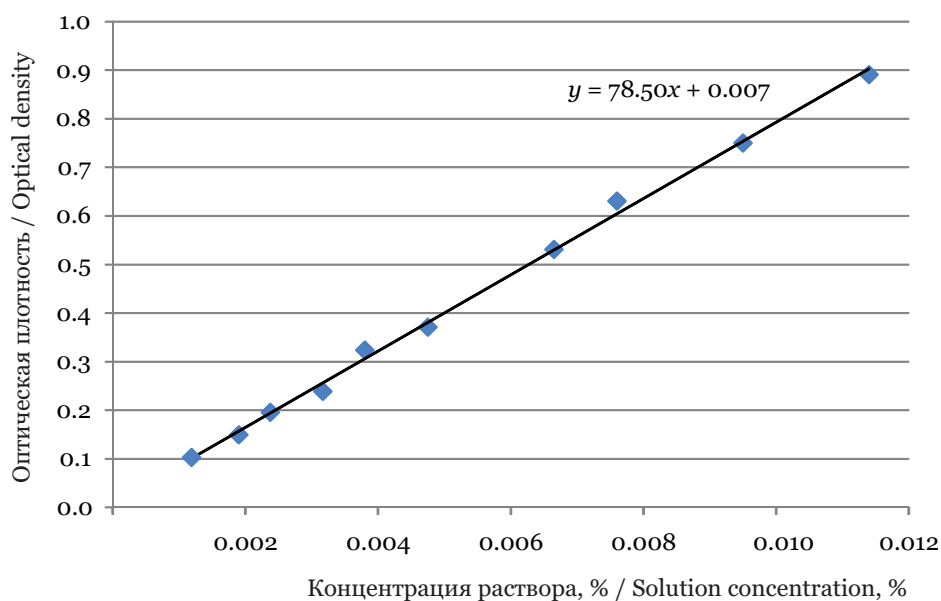


Рис. 7. Линейность бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида

Fig. 7. Linearity of bis-[3'(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide

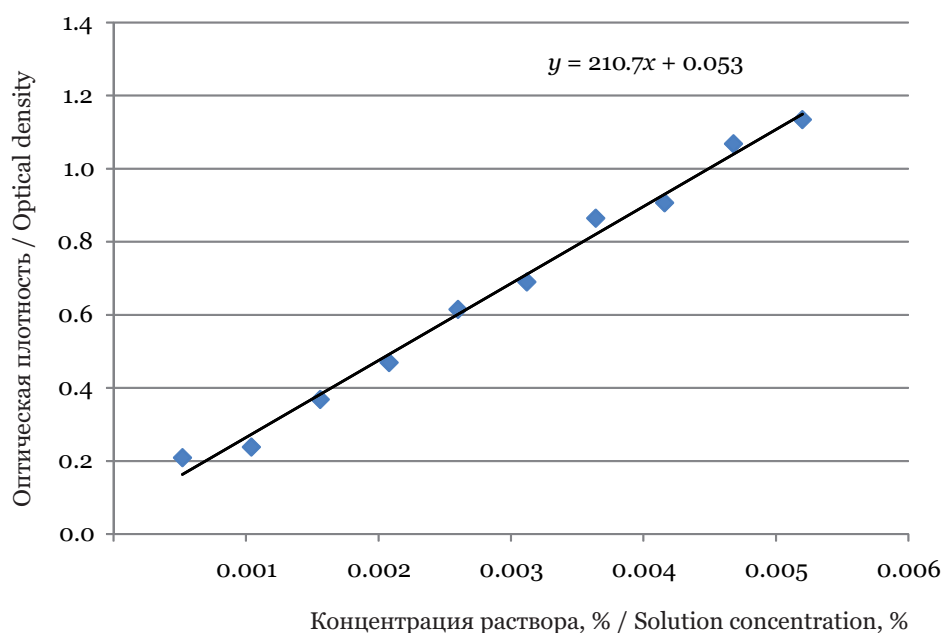


Рис. 8. Линейность додецил(3,5-диметил-4-гидроксибензил)сульфида
Fig. 8. Linearity of dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide

Таблица 2. Результаты обработки данных, полученных в ходе исследования линейности
Table 2. The results of processing the data obtained in the study of linearity

Субстанция Substance	Концентрация, % Concentration, %	Оптическая плотность Optical density	<i>r</i>	<i>b</i>	<i>a</i>	ПО, % DL, %	ПКО, % LQD, %
Бис-[3'(3,5-ди- трет-бутил-4- гидроксифенил) пропил]сульфид Bis-[3'(3,5-di- tret-butyl-4- hydroxyphenyl) propyl]sulfide	0.001188	0.1029	0.999	78.5	0.0075	0.0000314	0.00103
	0.0019	0.1494					
	0.002375	0.1957					
	0.003166	0.2388					
	0.0038	0.3237					
	0.00475	0.371					
	0.00665	0.5309					
	0.0076	0.6304					
Додецил(3,5- диметил-4- гидроксибензил) сульфид Dodecyl(3,5- dimethyl-4- hydroxybenzyl) sulfide	0.0095	0.7498	0.996	210.76	0.0534	0.0000375	0.00108
	0.0114	0.8904					
	0.00052	0.209					
	0.00104	0.2381					
	0.00156	0.3683					
	0.00208	0.4692					
	0.0026	0.6147					
	0.00312	0.6898					
	0.00364	0.8642					
	0.00416	0.9064					
	0.00468	1.0678					
	0.0052	1.134					

Пр и м е ч а н и е. *r* — коэффициент корреляции; *b* — угловой коэффициент уравнения линейной зависимости; *a* — свободный член уравнения линейной зависимости; ПО — предел обнаружения; ПКО — предел количественного определения.

Note. *r* — correlation coefficient; *b* — angular coefficient of the equation of linear dependence; *a* — absolute term of the equation of linear dependence; DL — detection limit; LQD — limit of quantitative determination.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований была установлена возможность использования УФ-спектрофотометрии для подтверждения подлинности и количественного определения субстанций бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида и додецил(3,5-диметил-4-гидроксibenзил)сульфида. Полученные данные также могут быть использованы при разработке методики количественного определения или определения примесей методом высокоэффективной жидкостной хроматографии при использовании УФ-спектрофотометрического детектора [11]. Однако для полного завершения разработки спектрофотометрических методик

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

для количественного определения бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)пропил]сульфида и додецил(3,5-диметил-4-гидроксibenзил)сульфида необходимо также оценить внутри- и межлабораторную воспроизводимость, точность и устойчивость методики, что будет являться объектом дальнейших исследований.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Государственная фармакопея Российской Федерации. 14-е изд. 2018. URL: http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_1/HTML/index.html. Дата обращения: 03.10.2019.
2. ГОСТ Р ИСО 7870-2-2015 Статистические методы. Контрольные карты. Часть 2. Контрольные карты Шухарта. М.: Стандартинформ, 2019. 42 с.
3. Кулешова С.И. Перенос (трансфер) методик, параметры валидации/верификации // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2017. Т. 7, № 2. С. 77–80.
4. Эпштейн Н.А. Валидация аналитических методик: графические и расчетные характеристики для оценки линейности методики на практике // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2019. Т. 8, № 2. С. 122–130.
5. Rao K.P., Rao M.C. Spectrophotometric methods in the analysis of drugs in pure and dosage forms // Int. J. Chem. Sci. 2016. Vol. 14 (4). P. 2389–2396.
6. The Japanese Pharmacopoeia: 17th ed. 2016. URL: https://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-11120000-Iyakushokuhinkyoku/JP17_REV_1.pdf. Дата обращения: 03.10.2019.
7. European Pharmacopoeia Online 9.0. 2016. URL: <http://online6.edqm.eu/ep900/>. Дата обращения: 03.10.2019.
8. Analytical Procedures and Methods Validation for Drugs and Biologics: Guidance for industry / Food and Drug Administration. 2015. 15 p.
9. Pharmaceutical Statistics: Proc. of the 39th annual Midwest Biopharmaceutical Statistics Workshop. Muncie, Indiana, USA, 2016. 341 p.
10. De Muth J.E. Basic Statistics and Pharmaceutical Statistical Applications: 3rd ed. Chapman and Hall/CRC Press, 2014. 847 p.
11. Parr M.K., Schmidt A.H. Life cycle management of analytical methods // J. Pharmaceut. Biomed. Anal. 2018. Vol. 147. P. 506–517.

REFERENCES

1. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 14th ed. (2018). Retrieved Oct 10, 2019 from http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_1/HTML/index.html. In Russ.
2. GOST R ISO 7870-2-2015 Statistical Methods. Control Charts. Part 2. Control Charts of Shukhart (2019). Moscow, 42 p. In Russ.
3. Kuleshova S.I. (2017). Transfer of methods, and parameters of validation / verification. *Bulletin of the Scientific Center for Expert Evaluation of Medicinal Products*, 7 (2), 77–80.
4. Epshtein N.A. (2019). Validation of analytical procedures: graphic and calculated criteria for assessment of methods linearity in practice. *Development and Registration of Medicines*, 8 (2), 122–130.
5. Rao K.P., Rao M.C. (2016). Spectrophotometric methods in the analysis of drugs in pure and dosage forms. *Int. J. Chem. Sci.*, 14 (4), 2389–2396.
6. The Japanese Pharmacopoeia: 17th ed. (2016). Retrieved Oct 3, 2019 from https://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-11120000-Iyakushokuhinkyoku/JP17_REV_1.pdf.
7. *European Pharmacopoeia Online 9.0* (2016). Retrieved Oct 3, 2019 from: <http://online6.edqm.eu/ep900/>.
8. *Analytical Procedures and Methods Validation for Drugs and Biologics: Guidance for industry / Food and Drug Administration* (2015). 15 p.
9. *Pharmaceutical Statistics: Proc. of the 39th annual Midwest Biopharmaceutical Statistics Workshop* (2016). Muncie, Indiana, USA, 341 p.
10. De Muth J.E. (2014). *Basic Statistics and Pharmaceutical Statistical Applications*. 3rd ed. Chapman and Hall/CRC Press, 847 p.
11. Parr M.K., Schmidt A.H. (2018). Life cycle management of analytical methods. *J. Pharmaceut. Biomed. Anal.*, 147, 506–517.

ABOUT THE AUTHORS

Shinko Tatyana Gennadyevna — Graduate Student, Department of Pharmaceutical Chemistry, Novosibirsk State Medical University.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Шинко Татьяна Геннадьевна — аспирант кафедры фармацевтической химии ФГБОУ ВО «Ново-

сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Терентьева Светлана Владимировна — д-р фармацевт. наук, профессор кафедры фармацевтической химии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Ивановская Елена Алексеевна — д-р фармацевт. наук, профессор, заведующий кафедрой фармацевтической химии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Образец цитирования: Шинко Т.Г., Терентьева С.В., Ивановская Е.А. Уф-спектрофотометрическое определение бис-[3'(3,5-ди-трет-бутил-4-гидрокси-фенил)пропил]сульфида и додецил(3,5-диметил-4-гидроксифенил)сульфида // Journal of Siberian Medical Sciences. 2020. № 1. С. 4–16.

Terentyeva Svetlana Vladimirovna — Dr. Sci. (Pharmaceut.), Professor, Department of Pharmaceutical Chemistry, Novosibirsk State Medical University.

Ivanovskaya Elena Alekseyevna — Dr. Sci. (Pharmaceut.), Professor, Head, Department of Pharmaceutical Chemistry, Novosibirsk State Medical University.

Citation example: Shinko T.G., Terentyeva S.V., Ivanovskaya E.A. (2020). UV spectrophotometric determination of bis-[3'(5-di-tret-butyl-4-hydroxyphenyl)propyl]sulfide and dodecyl(3,5-dimethyl-4-hydroxybenzyl)sulfide. *Journal of Siberian Medical Sciences*, 1, 4–16.