



УКРАЇНА

(19) UA (11) 29522 (13) C2

(51) 6 G01N21/64

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

## (54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ВІНБОРОНУ У ТОВАРНОМУ ПРОДУКТІ

(21) 98041776

(22) 08.04.1998

(24) 15.11.2000

(46) 15.11.2000. Бюл. № 6, 2000 р.

(72) Мусін Рафаель Альбертович, Пентюк Олександр Олексійович, Степанюк Георгій Іванович, Столярчук Олександр Олександрович, Шевчук Сергій Вікторович, Полєся Тетяна Леонідівна, Степанюк Наталія Георгіївна, Мудрицький Володимир Броніславович

(73) Вінницький державний медичний університет ім. М.І. Пирогова

(56) Авторское свидетельство СССР № 1575105.

(57) Спосіб визначення вінборону у товарному продукті, що включає приготування проби, її внесення в реакційне середовище, який **відрізняється** тим, що як реакційне середовище використовують суміш органічних розчинників: ізопропанол, ацетон та гліцерин у співвідношенні 3,5:3,5:1,0 за об'ємом, після чого вимірюють флюоресценцію при довжині хвилі збуджуючого випромінювання 365 нм та довжині хвилі емісії флюоресцентного випромінювання 405 нм.

Винахід відноситься до галузі медицини, а саме до фармації, тобто до аналітичних методів дослідження та може бути застосований для кількісного визначення вінборону у товарному продукті.

Вінборон - етиловий ефір 5-гідрокси-4-диметиламінометил-2-фенілбензофуран-5-карбонової кислоти гідрохлорид (ФС 42-2557-88) - оригінальний засіб, у закордонних фармакопеях не описаний. Застосовується при захворюваннях шлункового тракту, які супроводжуються спазмами внутрішніх гладком'язевих органів, хронічних холециститах, хронічної коронарної недостатності з приступами стенокардії.

На сьогодні відомі такі методи кількісного визначення вінборону: титриметричний, заснований на титруванні препарату 0,1 N розчином хлорної кислоти у середовищі 3% розчину мурашиної кислоти в оцтовому ангідриді у присутності кислотно-лужного індикатору кристалічного фіолетового до появи жовто-зеленого забарвлення. По кількості витраченої на титрування хлорної кислоти розраховують кількість вінборону у пробі. Найбільш близьким до способу, що заявляється, є фотометричний, заснований на кольоровій реакції вінборону з 0,5% розчином нітритно-Р-солі у концентрованій азотній кислоті.

Але недостатком вказаного способу-прототипу є його низька чутливість.

Завдання винаходу - підвищення чутливості методу визначення вінборону для контролю кіль-

кості препарату у товарному продукті, лікарських формах та різних технологічних рідинах в процесі промислового виробництва вінборону.

Поставлене завдання вирішується розчиненням вінборону у дистильованій воді та вимірюванням інтенсивності флуоресценції на флуориметрі у середовищі: ізопропанолу, ацетону, гліцерину в присутності різних кількостей дистильованої води.

Метод визначення вінборону у товарному продукті полягає в наступному: пробу що вміщує вінборон, розчиняють у дистильованій воді і додають органічні розчинники - ізопропанол, ацетон та гліцерин, після чого вимірюють інтенсивність флюоресценції на флюориметрі при характеристичних довжинах хвиль, потім до аналізуемого об'єму додають дистильовану воду та вдруге вимірюють інтенсивність флюоресценції. По різниці флюоресценції в органічному розчиннику без води та у присутності води розраховують кількість вінборону у пробі.

Для досягнення найбільшої чутливості методу, були визначені максимуми збудження та емісії флюоресценції вінборону. Отримані результати відображені у таблиці 1. З результатів, наведених в таблиці 1, видно, що максимальний квантовий вихід флюоресценції досягається при довжині хвилі збуджуючого випромінювання 365 нм та довжині хвилі емісії флюоресцентного випромінювання 405 нм.

Флюориметричні виміри проводилися у середовищі: ізопропанол - ацетон - гліцерин у спів-

відношенні 3,5:3,5:1,0 за об'ємом. Цей склад був запропонований тому, що розчинність вінборону в такій суміші органічних розчинників виявилась найкращою. Так в ізопропанолі, як і в ацетоні, вінборон майже не розчинений - менше 1%, але у суміші цих розчинників, при співвідношенні 1:1 за об'ємом, розчинність вінборону покращується та досягає більше 1%. Гліцерин був доданий до кількості насиченого прозорого розчину, як водозв'язуючий реагент, тому що присутність воді гасить флюоресценцію. Залежність флюоресценції вінборону від співвідношення компонентів аналізуємого середовища наведена у таблиці 2.

Отримані результати таблиці 2 показують, що флюоресценція вінборону частково залежить від співвідношення компонентів середовища.

Для кількісного визначення вінборону був побудований калібрувальний графік залежності флюоресценції від концентрації препарату у пробі. Отримані результати дослідження надані у таблиці 3.

Отримані результати таблиці 3 показують, що мінімальна кількість вінборону, яка виявляється у середовищі, становила 1 мкг/мл. Крім того лінійна залежність квантового виходу флюоресценції від рівня препарату у аналізуємому середовищі знаходиться у межах 1-10 мкг/мл. Отриманий градуирований графік описується рівнянням лінійної регресії:  $Y(C) = (102,74 \pm 4,58) \Phi$ , мкг.

Відтворюваність результатів аналізу запропонованим способом визначення вінборону була досліджена при паралельних аналізах восьми проб, які вміщували по 20 мкг препарату у пробі. Отримані результати наведені у таблиці 4. З результатів, наведених в таблиці 4 видно, що запропонований спосіб визначення вінборону відтворюється з середнім коефіцієнтом варіації 4,19% при паралельному визначенні восьми проб.

Надалі, як було вказано раніше, присутність води у органічному розчиннику значно погіршує інтенсивність флюоресценції вінборону. Залежність флюоресценції препарату від вмісту води в середовищі надана у таблиці 5.

Аналізуючи наведені результати таблиці 5, приходимо до висновку, що при досягненні кон-

центрації води у флюориметрованому середовищі близько 20 відсотків, флюоресценція вінборону значно знижується та майже не спостерігається.

Дані що до порівняння запропонованого нами способу визначення вінборону та раніше використовуваних методів представлені в таблиці 6.

З наведених в таблиці 6 даних видно, що використання запропонованого нами способу, стало можливим підвищення чутливості визначення вінборону в 5-10 разів в порівнянні з раніше відомими методами.

Приклад виконання аналізу

Реактиви:

- 1) ізопропанол
- 2) ацетон
- 3) гліцерин
- 4) дистильована вода

Виконання аналізу:

Беруть точну наважку продукту 100 мг, зважують з точністю  $\pm 0,2$  мг на аналітичних вагах та вносять до мірної колби на 500 мл, після чого доводять дистильованою водою до позначки, отримуючи таким чином розчин з концентрацією 200 мкг/мл. Потім готують середовище для визначення змішуючи органічні розчинники: ізопропанол, ацетон та гліцерин у співвідношенні 3,5:3,5:1,0 за об'ємом.

Надалі до 4 частин (4 мл) середовища додають 0,1 частину (0,1 мл) приготовленого раніше розчину вінборону і вимірюють флюоресценцію при довжині хвилі збуджуючого випромінювання 365 нм та довжині хвилі емісії флюоресценції 405 нм. Паралельно проводять вимірювання флюоресценції, де до 4 частин (4 мл) аналізуємого середовища додають 0,1 частину (0,1 мл) дистильованої води. Потім до проби додають 1 частину дистильованої води та вдруге вимірюють флюоресценцію. Кількість вінборону у пробі розраховують за формулою:

$$C(\text{мкг}) = 102,74 \times (\Phi_p - \Phi_k)$$

де:  $\Phi_p$  - флюоресценція проби,

$\Phi_k$  - флюоресценція контролю.

Після додавання 1 частини (1 мл) дистильованої води до проби флюоресценція аналізуємої проби не повинна спостерігатись.

Таблиця 1

Визначення максимуму збуджуючого випромінювання та емісії флюоресценції вінборону у середовищі ізопропанол, ацетон, гліцерин

Довжина хвилі збудження флюоресценції, нм	Довжина хвилі емісії флюоресценції, нм	$\Phi$ проби – $\Phi$ контролю, мВ
313	365	0,004
313	405	0,006
313	436	0,006
313	470	0,006
313	490	0,005
313	510	0,003
365	405	0,194
365	436	0,174

Довжина хвилі збудження флюоресценції, нм	Довжина хвилі емісії флюоресценції, нм	Ф проби – Ф контролю, мВ
365	470	0,168
365	490	0,117
365	510	0,044
405	436	0,014
405	470	0,015
405	490	0,012
405	510	0,007
436	470	0,011
436	490	0,003
436	510	0,005

**Примітка:** - вимірювання флюоресценції вінборону проводили на приладі БІАН-130  
 - проба вміщувала 20 мкг вінборону  
 - аналізуємий об'єм 4 мл  
 - опір електричній напрузі 10 кОм  
 - реєструючий прилад мілівольтметр

Таблиця 2

Залежність флюоресценції вінборону від складу аналізуємого середовища

Аналізуєме середовище			Фп – Фк, мВ
ізопропанол	ацетон	гліцерин	
1,0 мл	3,5 мл	1,0 мл	0,065
2,0 мл	3,5 мл	1,0 мл	0,066
3,5 мл	3,5 мл	1,0 мл	0,052
5,0 мл	3,5 мл	1,0 мл	0,033
6,0 мл	3,5 мл	1,0 мл	0,054
3,5 мл	0,0 мл	1,0 мл	0,063
3,5 мл	1,0 мл	1,0 мл	0,035
3,5 мл	2,0 мл	1,0 мл	0,033
3,5 мл	3,5 мл	1,0 мл	0,035
3,5 мл	5,0 мл	1,0 мл	0,046
3,5 мл	6,0 мл	1,0 мл	0,052
3,5 мл	3,5 мл	0,0 мл	0,056
3,5 мл	3,5 мл	0,4 мл	0,044
3,5 мл	3,5 мл	0,8 мл	0,028
3,5 мл	3,5 мл	1,0 мл	0,035
3,5 мл	3,5 мл	1,4 мл	0,020

**Примітка:** у пробі було 5 мкг вінборону.

Таблиця 3

Калібрувальний графік залежності флюоресценції від кількості вінборону у пробі

Кількість вінборону у пробі, мкг	Фп – Фк, мВ
5,0	0,050
10,0	0,109
15,0	0,154
20,0	0,197
25,0	0,240
30,0	0,293
35,0	0,327
40,0	0,366
50,0	0,450

**Примітка:** - визначення проводили на приладі БІАН-130, опір електричної напруги 10 кОм, реєструючий мілівольтметр  
 - об'єм 4 мл  
 - довжина хвилі збуджуючого випромінювання 365 нм  
 - довжина хвилі емісії флюоресценції 405 нм.

Відтворюваність способу визначення вінборону у розчині

Кількість вінборону у пробі, мкг	Фп – Фк, мВ	Статистичні параметри
20,0	0,138	$\bar{X} = 0,149$ $N = \pm 0,00625$ $S_x = 0,008928$ $V = 4,19\%$
20,0	0,146	
20,0	0,146	
20,0	0,147	
20,0	0,148	
20,0	0,148	
20,0	0,167	
20,0	0,152	

**Примітка:**  $\bar{X}$  – середнє арифметичне з восьми досліджень  
 $m$  – абсолютна похибка середньої арифметичної  
 $S_x$  – середня квадратична похибка середньої арифметичної  
 $V$  – коефіцієнт варіації  
 - проба 0,05 мл.

Таблиця 5

Залежність флюоресценції вінборону від кількості води в середовищі (об'єм проби 4 мл)

Кількість вінборону в пробі, мкг	Кількість доданої води до аналізуємого середовища, мл	Фп – Фк, мВ
5,0	0,0	0,047
5,0	0,1	0,043
5,0	0,2	0,041
5,0	0,4	0,040
5,0	0,6	0,032
5,0	0,8	0,026
5,0	1,0	0,015
5,0	1,2	0,015
5,0	1,4	0,009

Таблиця 6

Порівняння методів кількісного визначення вінборону за мінімальною вимірюваною межі відкриття в пробі

Заявлений спосіб	Титриметричний спосіб	Фотометричний спосіб	Екстракційно-фотометричний спосіб
1 мкг/мл Таблиця 3	1-5 мг Підручник Ф.М.Шемякіна	10 мкг/мл А.с. 1575105 Ф.К.Балабанов	7,5 мкг/мл Стаття В.В.Болотов

**Примітка:** чутливість титриметричних методів аналізу відповідно підручнику Ф.М.Шемякіна для більшості слабких кислот та лугів складає 1-5 мг.

Тираж 50 екз.

Відкрите акціонерне товариство «Патент»  
 Україна, 88000, м. Ужгород, вул. Гагаріна, 101  
 (03122) 3 – 72 – 89 (03122) 2 – 57 – 03