

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИНОВ В₁, В₆, В₁₂ В ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТАХ

Н.В. Кулешова^{1✉}, Д.В.Р. Джек¹, Ю.Н. Ковалева^{1,2}, О.В. Нипрук¹, А.В. Князев¹

¹ Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

² Национальный исследовательский Мордовский государственный университет, Саранск, Россия

✉ nvku@yandex.ru

Аннотация. Предложена методика спектрофотометрического определения витаминов В₁, В₆ и В₁₂ в лекарственных препаратах. Методика не требует сложной пробоподготовки и может быть использована для экспресс-анализа твердых и жидких лекарственных препаратов. Она позволяет одновременно определять содержание каждого из указанных витаминов при совместном присутствии без предварительного разделения в широком интервале концентраций (выше $2 \cdot 10^{-5}$ моль/л) с погрешностью менее 10 %. Сущность методики заключается в переводе определяемых компонентов в 0,1 моль/л HCl и обработке спектров поглощения полученных растворов методом множественной линейной регрессии. Для определения низких содержаний В₁₂ предложено использовать предварительное гомофазное концентрирование. Методика использована для определения витаминов В₁, В₆ и В₁₂ в препаратах Мильгамма, Комбилипен и Пентовит.

Ключевые слова: спектрофотометрический анализ, определение витаминов, множественная линейная регрессия, гомофазное концентрирование

Для цитирования: Спектрофотометрическое определение витаминов В₁, В₆, В₁₂ в лекарственных препаратах / Н.В. Кулешова, Д.В.Р. Джек, Ю.Н. Ковалева и др. // Вестник ЮУрГУ. Серия «Химия». 2025. Т. 17, № 3. С. 159–170. DOI: 10.14529/chem250317

Original article
DOI: 10.14529/chem250317

SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF VITAMINS B₁, B₆, AND B₁₂ IN PHARMACEUTICAL PRODUCTS

N.V. Kuleshova^{1✉}, D.V.R Djeke¹, Yu.N. Kovaleva^{1,2}, O.V. Nipruk¹, A.V. Knyazev¹

¹ National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russia

² National Research Mordovia State University, Saransk, Russia

✉ nvku@yandex.ru

Abstract. A spectrophotometric method has been proposed for determination of vitamins B₁, B₆, and B₁₂ in pharmaceutical formulations. The method does not require complex sample preparation and can be used for rapid analysis of both solid and liquid pharmaceutical preparations. It allows for the simultaneous determination of each of these vitamins simultaneously without prior separation over a wide concentration range ($2 \cdot 10^{-5}$ mol/L and higher) with an error of no more than 10 %. The essence of the method lies in the dissolution of the determined components in 0.1 mol/L HCl and processing the absorption spectra of the resulting solutions using the multiple linear regression method. To determine low levels of B₁₂, it is proposed to use preliminary homophase concentration. The method has been applied for determination of vitamins B₁, B₆, and B₁₂ in the preparations Milgamma, Combibipen, and Pentovit.

Keywords: spectrophotometric analysis, vitamin determination, multiple linear regression, homophase concentration

For citation. Kuleshova N., Djeke D.V.R., Kovaleva Yu.N., Nipruk O.V., Knyazev A.V. Spectrophotometric determination of vitamins B₁, B₆, and B₁₂ in pharmaceutical products. *Bulletin of the South Ural State University. Ser. Chem.* 2025;17(3): 159–170 (In Russ.) DOI: 10.14529/chem250317

Введение

Витамины являются биологически активными соединениями и относятся к числу жизненно необходимых веществ [1]. Они делятся на две группы: жирорастворимые и водорастворимые. Поскольку витамины не синтезируются организмом человека их содержание необходимо пополнять через пищу. Для компенсации недостаточного поступления витаминов с пищей в последние годы все чаще используются поливитаминовые комплексы и пищевые добавки.

Значительную долю в многообразии витаминов занимают представители группы В. В эту группу входят 8 витаминов и 3 витаминоподобных вещества: В₁ – тиамин, В₂ – рибофлавин, В₃ – ниацин или никотиновая кислота, В₅ – пантотеновая кислота, В₆ – пиридоксин, В₇ – биотин, В₉ – фолиевая кислота, В₁₂ – цианокобаламин и В₄ – холин, В₈ – инозит, В₁₀ – парааминобензойная кислота. Иногда в этот перечень дополнительно включают В₁₃ – оротовую и В₁₅ – пангамовую кислоты. Все эти вещества хорошо растворимы в воде и играют важную роль в обеспечении здоровья нервной системы, кожи, глаз, печени и других органов. Водорастворимые витамины группы В необходимы для нормального углеводного и белкового обмена [2]. Среди витаминов группы В особого внимания заслуживают В₁, В₆ и В₁₂. Каждый из них играет важную роль в жизнедеятельности организма человека.

Витамин В₁ (тиамин) содержит пиримидиновое кольцо (2,5-диметил 1,6-аминопиримидин) и тиазольное кольцо (4 метил-5-гидроксиэтилтиазол) (рис. 1). В₁ участвует в росте и производстве энергии АТФ, а также способствует передаче нервных импульсов (нейромедиатор). Установлено, что В₁ является составной частью минимум пяти ферментов, участвующих в промежуточном обмене веществ [1]. Витамин В₁ содержится в дрожжах, хлебе из муки грубого помола, сое, фасоли, горохе, меньше в картофеле, моркови, капусте, из животных продуктов – в субпродуктах. Недостаток тиамина влияет на многие системы органов, включая сердечно-сосудистую, опорно-двигательную, боли в животе, неприятное вздутие живота и нарушения в нервной системе [3].

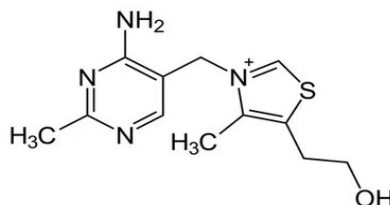


Рис. 1. Структура витамина В₁

Витамин В₆ – это несколько сходных по химической природе веществ, также называемых пиридоксином, пиридоксалем, пиридоксамином (рис. 2). В₆ участвует в образовании красных кровяных телец, регулирует уровень сахара в крови, транспортирует О₂, участвует в синтезе ДНК, играет фундаментальную роль в психическом равновесии и настроении (допамин, серотонин и норадреналин). Недостаток витамина В₆ вызывает нарушения аминокислотного обмена в головном и спинном мозге [4]. Витамин В₆ содержится в продуктах животного и растительного происхождения: хлеб, горох, фасоль, мясопродукты.



Рис. 2. Структура витамина В₆

Витамин В₁₂ (кобаламин) – уникальный витамин, содержащий кобальт (4,3 %) (рис. 3), который необходим организму для кроветворения, работы нервной системы. Международное общество спортивного питания рассматривает кобальт как абсолютно необходимую составную часть витамина В₁₂, который не является допингом и не запрещён ВАДА. Гемоглобин, содержащийся в эритроцитах, обеспечивает правильное функционирование мозга при производстве специализированных мембран клеток, образовании ДНК и РНК. Он также участвует в метаболизме аминокислот и макроэлементов, липидов. Витамин В₁₂ участвует в синтезе группы органических соединений, является важным фактором нормального роста, гемопоэза и развития эпителия, необходим для метаболизма фолиевой кислоты и миелинизации. Отсутствие В₁₂ в пище приводит к развитию гипохромной анемии, которая не лечится препаратами железа [5]. Дефицит витамина В₁₂ связан с нарушениями нервного развития и нейродегенерацией [6]. Витамин В₁₂ в основном содержится в пище животного происхождения (субпродукты, мясо, яйца и т.д.) и очень редко присутствует в растениях.

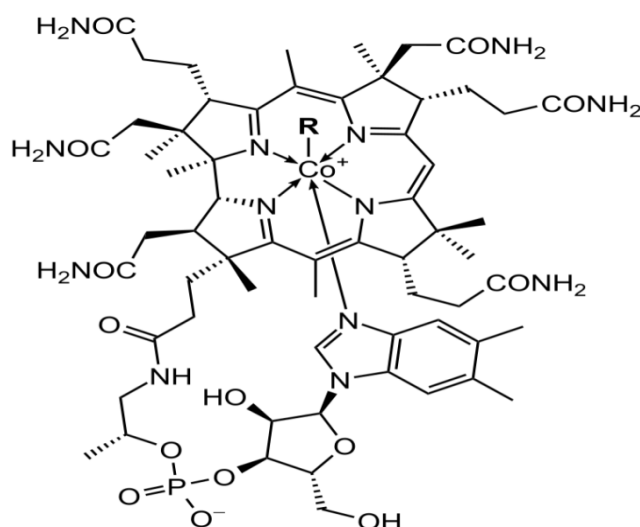


Рис. 3. Структура витамина В₁₂

Каждый из перечисленных витаминов группы В выполняет свою собственную функцию в организме человека. Систематический анализ биологической роли В₁, В₆, В₁₂ показал многочисленные синергетические взаимодействия этих витаминов на молекулярном уровне, включая метаболизм питательных макросов, образование нейрональных структур, синтез АТФ и т. д. [7]. Сочетание этих трех витаминов В₁, В₆ и В₁₂, которое называют «нейротропными витаминами», является более эффективным в решении проблем неврологического характера [8].

Эти три витамина по отдельности или вместе входят в состав целого ряда лекарственных средств как российского, так и иностранного производства. Для определения витаминов используется вольтамперометрия [9, 10], капиллярный электрофорез [11] и другие инструментальные методы анализа [12]. Традиционно, для молекулярного анализа многокомпонентных смесей органических веществ, применяют хроматографические методы [13-21]. Так, смеси водорастворимых витаминов анализируют методом ВЭЖХ.

Экспериментальная часть

Для проведения эксперимента использовали тиамин, пиридоксин и цианокобаламин фирмы Fluka (фармакопейной чистоты). Исходные водные растворы витаминов $C(B_1) = 0,10$ моль/л, $C(B_6) = 0,10$ моль/л, $C(B_{12}) = 0,01$ моль/л готовили растворением навески субстанции в дистиллированной воде.

Взвешивание проводили на аналитических весах Shimadzu AUX220 с точностью 0,0001 г. Растворы меньших концентраций ($4 \cdot 10^{-4}$ – 10^{-5} моль/л) получали последовательным разбавлением исходных растворов необходимым растворителем (дистиллированной водой, раствором HCl или NaOH).

Спектры поглощения растворов витаминов регистрировали на спектрофотометре Shimadzu UV-1650 рс в кварцевых кюветах ($l = 1$ см) в диапазоне длин волн 190-800 нм относительно растворителя.

Вычисления проводили с использованием функции Анализ данных в программном обеспечении Microsoft Excel.

Обсуждение результатов

Идея отдельного определения витаминов V_1 , V_6 , V_{12} в лекарственных препаратах заключается в количественном переводе аналитов в водный раствор, регистрации спектра поглощения полученного раствора и его математической обработке методом множественной линейной регрессии (МЛР) [22]. Сущность обработки спектров сводится к следующему. Оптическая плотность раствора, содержащего несколько поглощающих веществ, при любой длине волны λ_i в соответствии с правилом аддитивности складывается из оптических плотностей каждого вещества. Для раствора, содержащего витамины V_1 , V_6 и V_{12} , правило аддитивности оптической плотности может быть записано следующим образом:

$$A_{\text{р-ра при } \lambda_i} = A_{B_1 \text{ при } \lambda_i} + A_{B_6 \text{ при } \lambda_i} + A_{B_{12} \text{ при } \lambda_i}. \quad (1)$$

С учетом закона Бугера – Ламберта – Бера это соотношение можно переписать в виде:

$$A_{\text{р-ра при } \lambda_i} = \varepsilon_{B_1 \text{ при } \lambda_i} \cdot l \cdot C_{B_1} + \varepsilon_{B_6 \text{ при } \lambda_i} \cdot l \cdot C_{B_6} + \varepsilon_{B_{12} \text{ при } \lambda_i} \cdot l \cdot C_{B_{12}}, \quad (2)$$

где $A_{\text{р-ра при } \lambda_i}$ – оптическая плотность анализируемого раствора при длине волны λ_i ; $\varepsilon_{B_1 \text{ при } \lambda_i}$, $\varepsilon_{B_6 \text{ при } \lambda_i}$, $\varepsilon_{B_{12} \text{ при } \lambda_i}$ – молярный коэффициент поглощения соответствующего витамина при длине волны λ_i ; l – толщина поглощающего слоя; C_{B_1} , C_{B_6} , $C_{B_{12}}$ – концентрация соответственно V_1 , V_6 , V_{12} в анализируемом растворе, моль/л.

Записывая это выражение для различных длин волн в интервале от λ_1 до λ_n с шагом в 0,1 нм с учетом $l = 1$ см получаем серию уравнений:

$$\begin{aligned} A_{\text{р-ра при } \lambda_1} &= \varepsilon_{B_1 \text{ при } \lambda_1} \cdot C_{B_1} + \varepsilon_{B_6 \text{ при } \lambda_1} \cdot C_{B_6} + \varepsilon_{B_{12} \text{ при } \lambda_1} \cdot C_{B_{12}}, \\ A_{\text{р-ра при } \lambda_2} &= \varepsilon_{B_1 \text{ при } \lambda_2} \cdot C_{B_1} + \varepsilon_{B_6 \text{ при } \lambda_2} \cdot C_{B_6} + \varepsilon_{B_{12} \text{ при } \lambda_2} \cdot C_{B_{12}}, \\ A_{\text{р-ра при } \lambda_3} &= \varepsilon_{B_1 \text{ при } \lambda_3} \cdot C_{B_1} + \varepsilon_{B_6 \text{ при } \lambda_3} \cdot C_{B_6} + \varepsilon_{B_{12} \text{ при } \lambda_3} \cdot C_{B_{12}}, \\ &\dots \dots \dots \\ A_{\text{р-ра при } \lambda_i} &= \varepsilon_{B_1 \text{ при } \lambda_i} \cdot C_{B_1} + \varepsilon_{B_6 \text{ при } \lambda_i} \cdot C_{B_6} + \varepsilon_{B_{12} \text{ при } \lambda_i} \cdot C_{B_{12}}, \\ &\dots \dots \dots \\ A_{\text{р-ра при } \lambda_n} &= \varepsilon_{B_1 \text{ при } \lambda_n} \cdot C_{B_1} + \varepsilon_{B_6 \text{ при } \lambda_n} \cdot C_{B_6} + \varepsilon_{B_{12} \text{ при } \lambda_n} \cdot C_{B_{12}}. \end{aligned} \quad (3)$$

Каждое из уравнений этой серии включает экспериментально определяемое значение оптической плотности $A_{\text{р-ра при } \lambda_i}$ анализируемого раствора при соответствующей длине волны λ_i и искомые значения концентраций витаминов C_{B_1} , C_{B_6} , $C_{B_{12}}$. При заведомом отсутствии одного или двух витаминов в анализируемом объекте их концентрации приравниваются к нулю и число слагаемых в уравнении уменьшается. Алгоритм множественной линейной регрессии позволяет по известному набору оптических плотностей $A_{\text{р-ра при } \lambda_i}$ в спектре поглощения анализируемого раствора найти значения концентраций витаминов C_{B_1} , C_{B_6} , $C_{B_{12}}$, наилучшим образом удовлетворяющие всем уравнениям. Статистически большее число уравнений обеспечивает большую точность получаемых результатов. Для реализации этого алгоритма необходимо предварительно установить набор $\varepsilon_{B_1 \text{ при } \lambda_i}$, $\varepsilon_{B_6 \text{ при } \lambda_i}$, $\varepsilon_{B_{12} \text{ при } \lambda_i}$ при разных λ_i . Расчет этих величин можно провести с использованием уравнения Бугера – Ламберта – Бера по спектрам поглощения растворов индивидуальных витаминов известной концентрации. Необходимым условием использования метода множественной линейной регрессии является постоянство значений $\varepsilon_{B_1 \text{ при } \lambda_i}$, $\varepsilon_{B_6 \text{ при } \lambda_i}$, $\varepsilon_{B_{12} \text{ при } \lambda_i}$ в широком интервале концентраций.

В этой связи на первом этапе работы были исследованы спектры поглощения водных растворов индивидуальных витаминов при различных условиях в широком концентрационном интервале. Поскольку каждый из витаминов содержит в своем составе различные кислотные и основные группы, то кислотность раствора может оказывать существенное влияние на спектр поглощения витаминов в растворе. Зависимости молярных коэффициентов поглощения водных растворов витаминов от длины волны в 0,1 моль/л HCl, дистиллированной воде, 0,1 моль/л NaOH представлены на рис. 4. Для изучения были выбраны такие концентрационные интервалы, при которых четко проявляются все максимумы поглощения, не сформированный максимум при длине волны 190 нм и менее в расчет не брали.

При выборе интервала концентраций ориентировались также на содержания витаминов в объектах анализа. Из рис. 4 видно, что в дистиллированной воде и 0,1 М NaOH формы спектров поглощения и значения ϵ_{B_1} при λ_i , ϵ_{B_6} при λ_i , $\epsilon_{B_{12}}$ при λ_i существенно изменяются в зависимости от концентрации поглощающего вещества. Это особенно проявляется в случае В₆ и В₁ и может быть связано с существованием в этих условиях различных ионных и молекулярных форм витамина. Отщепление или присоединение протона может приводить к внутримолекулярным перегруппировкам, сопровождающимся исчезновением одних хромоформных групп и появлением других. По этой причине указанные растворители не могут быть использованы для спектрофотометрического анализа смеси витаминов. В кислой среде, по всей вероятности, в растворе существуют наиболее протонированные формы и спектры поглощения витаминов остаются практически неизменными в широком интервале концентраций. Все дальнейшие исследования проводили в среде 0,1 моль/л HCl.

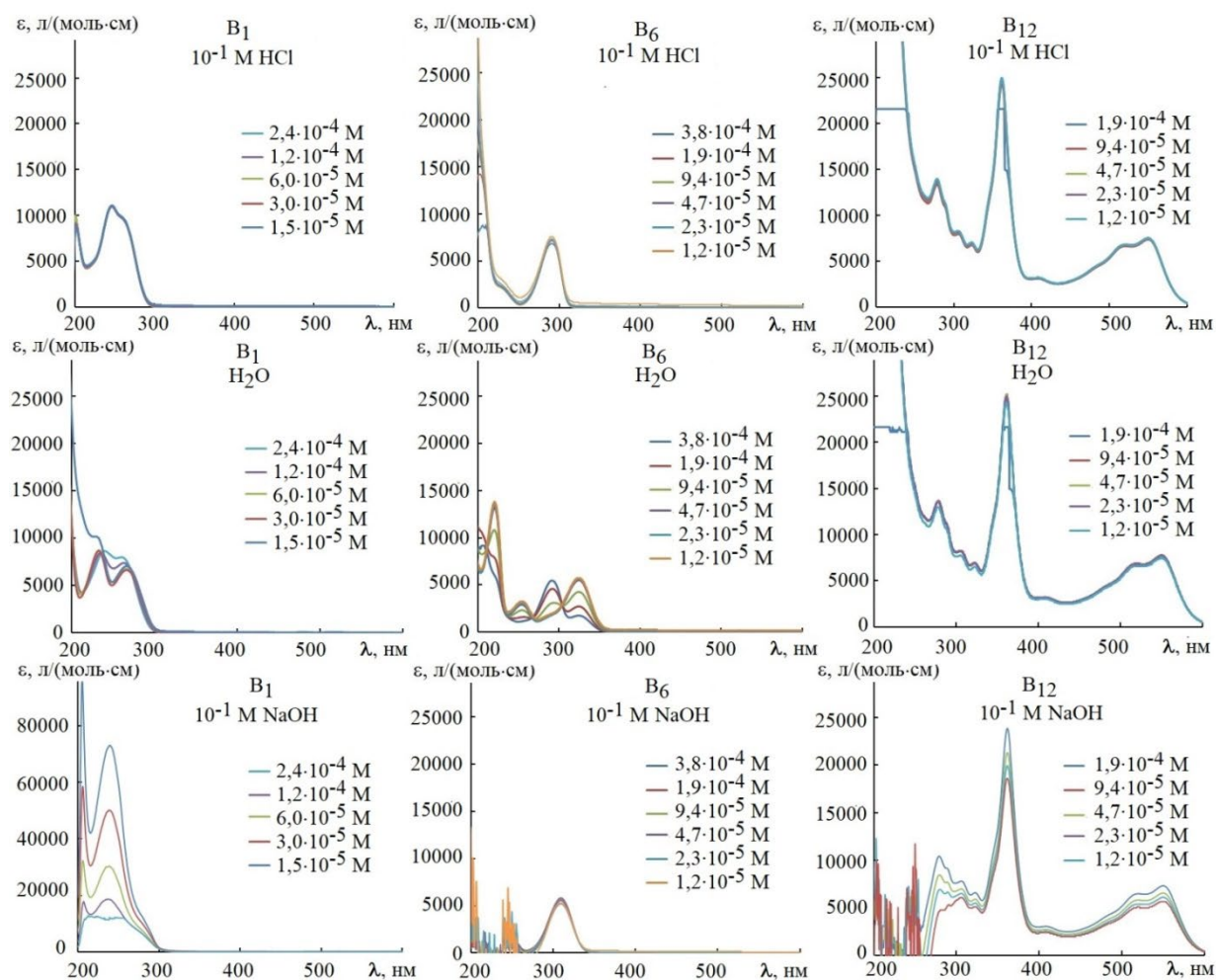


Рис. 4. Зависимость молярного коэффициента поглощения В₁, В₆, В₁₂ от длины волны в 0,1 М HCl, H₂O, 0,1 М NaOH при различных концентрациях (моль/л)

Для разработки оптимального алгоритма расчета концентраций, обеспечивающего наибольшую точность результатов, проведен сравнительный анализ спектров поглощения всех витаминов в 0,1 моль/л HCl (рис. 5).

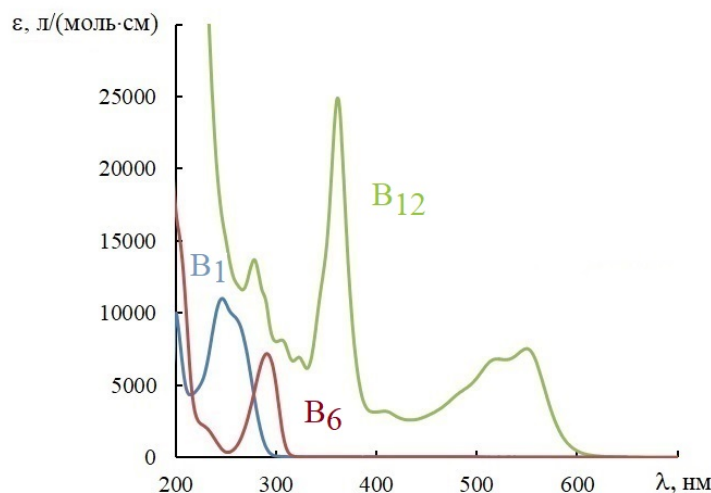


Рис. 5. Сравнение спектров поглощения водных растворов витаминов В₁, В₆, В₁₂ в 0,1 М HCl

Спектр В₁₂ наиболее богат полосами поглощения, которые расположены как в видимой, так и в ультрафиолетовой области. Такая форма спектра поглощения хорошо согласуется со сложным строением молекулы, которое включает различные функциональные группы, кратные связи и кобальт (II). Значение молярного коэффициента поглощения наиболее интенсивного максимума достигает 25000. Спектры поглощения В₁ и В₆ содержат по одной хорошо сформированной полосе в ультрафиолетовой области и максимумы поглощения характеризуются гораздо меньшими значениями ϵ , находящимися в интервале 5000–10000. Обращает на себя внимание существенное поглощение В₁₂ в этой области, значительно превосходящее поглощение В₁ и В₆. Таким образом, предварительный сравнительный анализ спектров поглощения витаминов В₁, В₆, В₁₂ может свидетельствовать о возможных концентрационных ограничениях использования предлагаемого подхода для раздельного определения витаминов при совместном присутствии.

Для обеспечения большей точности и избирательности анализа предложен следующий алгоритм обработки спектров. Определение В₁₂ предлагается проводить по части спектра, при которой поглощает лишь В₁₂. В этом случае для расчетов методом МЛР вместо серии уравнений (3) можно использовать серию, включающую более простые уравнения вида:

$$A_{\text{р-ра при } \lambda_i} = \epsilon_{\text{В}_{12} \text{ при } \lambda_i} \cdot C_{\text{В}_{12}}. \quad (4)$$

Вычисления целесообразно проводить, учитывая оптические плотности раствора в интервале длин волн от 380 до 600 нм, в котором наблюдается постоянство значений $\epsilon_{\text{В}_{12} \text{ при } \lambda_i}$ в наиболее широком концентрационном интервале (рис. 6).

Далее с учетом известной концентрации В₁₂ можно определить концентрации В₁ и В₆ по серии уравнений (3). Однако при молярных концентрациях В₁₂ соизмеримых с концентрациями В₁ и В₆ этот подход не даст удовлетворительных результатов из-за значительно превосходящего поглощения В₁₂ при максимумах поглощения В₁ и В₆. Расчетным способом можно оценить, что для удовлетворительного определения В₁ и В₆ методом МЛР по серии уравнений (3) величина $C_{\text{В}_{12}}$ должна быть в 50–100 раз меньше $C_{\text{В}_1}$ и $C_{\text{В}_6}$.

Поскольку в лекарственных препаратах содержание В₁ и В₆ на два и более порядка превышает В₁₂, то в этом случае поглощение В₁₂ будет вносить незначительный вклад в общую оптическую плотность анализируемого раствора и для обеспечения большей точности их концентрации могут быть рассчитаны методом МЛР по серии упрощенных уравнений:

$$A_{\text{р-ра при } \lambda_i} = \epsilon_{\text{В}_1 \text{ при } \lambda_i} \cdot C_{\text{В}_1} + \epsilon_{\text{В}_6 \text{ при } \lambda_i} \cdot C_{\text{В}_6}. \quad (5)$$

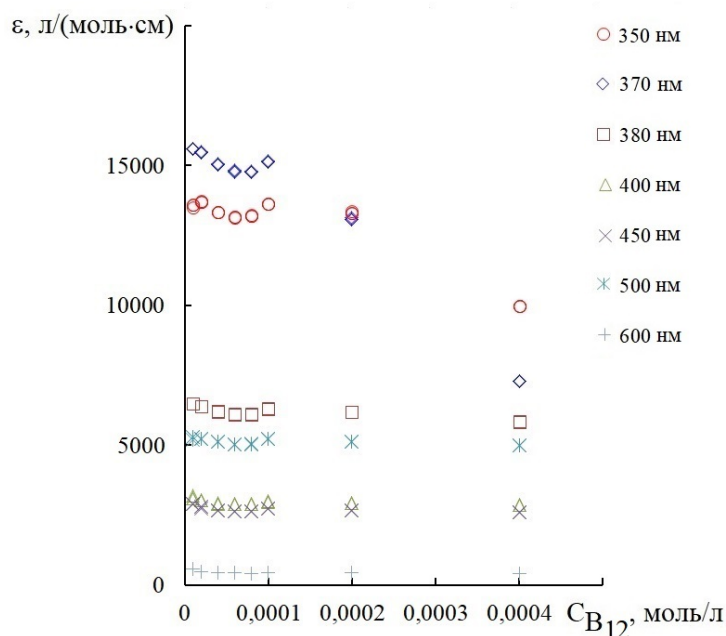


Рис. 6. Зависимость молярного коэффициента поглощения В₁₂ в 0,1 М НСl от концентрации витамина при различных длинах волн

Наиболее точные результаты могут быть получены при использовании серии уравнений (5) в интервале длин волн 225–308 нм, в котором значения ϵ_{B_1} при λ_i и ϵ_{B_6} при λ_i постоянны в широком диапазоне концентраций (рис. 7).

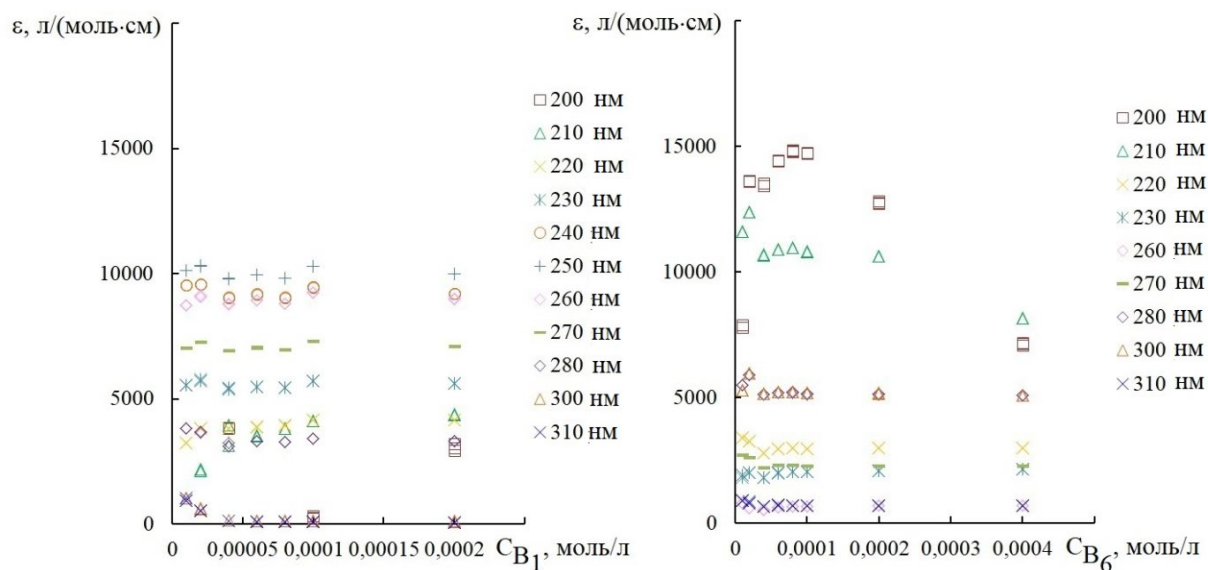


Рис. 7. Зависимость молярного коэффициента поглощения В₁ и В₆ в 0,1 М НСl от концентрации при различных длинах волн

Вспомогательные вещества, которые содержатся в лекарственных препаратах и могут переходить в 0,1 М НСl, такие как лидокаина гидрохлорид, бензиловый спирт, полифосфат натрия, гексацианоферрат калия, хлорид натрия, в присутствующих количествах не поглощают при длине волны более 220 нм и не мешают определению витаминов по предложенной методике.

Работоспособность предложенного алгоритма проверена на модельных растворах. Поскольку расчет концентрации витаминов предложено проводить с использованием разных участков спектра, то готовили серию модельных растворов, содержащих витамин В₁₂, и серию растворов с раз-

личными концентрациями и соотношением V_1 и V_6 . Основные результаты анализа модельных водных растворов витаминов с использованием предложенного подхода представлены в табл. 1.

Определение витамина V_{12} возможно в интервале концентраций $1 \cdot 10^{-5} \div 2 \cdot 10^{-4}$ моль/л с погрешностью не более 10 %. Присутствие витаминов V_1 и V_6 не влияет на правильность и воспроизводимость результатов анализа.

Использование предложенного подхода для определения V_1 и V_6 возможно при их суммарной концентрации не более $3 \cdot 10^{-4}$ моль/л. Абсолютная концентрация каждого из витаминов и их соотношение влияют на точность полученных результатов. Определение витамина V_6 не вызывает трудностей во всем исследованном интервале концентраций от $2 \cdot 10^{-5}$ моль/л до $2 \cdot 10^{-4}$ моль/л даже при 10-кратном избытке V_1 . Случайная погрешность определения не превышает 10 % во всем указанном диапазоне концентраций. Возможность определения V_1 существенно зависит от его соотношения с V_6 . Правильные результаты удастся получить при молярном соотношении $V_1:V_6$ не превышающем 1:4. При больших соотношениях наблюдается отрицательная систематическая погрешность. Это, по всей вероятности, обусловлено влиянием атома азота в молекуле V_6 на равновесие между катионной и молекулярной формами тиамин, которые характеризуются различными спектрами поглощения [23, 24].

Таблица 1

Результаты определения витаминов V_1 , V_6 и V_{12} в модельных водных растворах 0,1 М HCl при совместном присутствии методом МЛР ($P=0,95$; $n=3$)

Витамин	Введено $C, 10^{-5}$ моль/л	Найдено $C, 10^{-5}$ моль/л	S_r
V_{12}	1,00	$1,04 \pm 0,07$	0,016
V_{12}	2,00	$2,01 \pm 0,09$	0,010
V_{12}	4,00	$3,93 \pm 0,12$	0,007
V_{12}	6,00	$6,12 \pm 0,18$	0,008
V_{12}	8,00	$7,89 \pm 0,21$	0,006
V_{12}	10,00	$10,2 \pm 0,3$	0,007
V_{12}	20,00	$19,8 \pm 0,5$	0,006
V_1	2,00	$2,10 \pm 0,15$	0,016
V_6	2,00	$2,04 \pm 0,13$	0,015
V_1	4,00	$4,06 \pm 0,25$	0,014
V_6	4,00	$4,00 \pm 0,23$	0,013
V_1	6,00	$6,09 \pm 0,43$	0,016
V_6	6,00	$6,04 \pm 0,38$	0,015
V_1	8,00	$8,23 \pm 0,52$	0,015
V_6	8,00	$8,08 \pm 0,55$	0,015
V_1	10,00	$10,5 \pm 0,6$	0,013
V_6	10,00	$10,2 \pm 0,5$	0,011
V_1	20,00	$20,5 \pm 0,9$	0,010
V_6	20,00	$20,4 \pm 0,8$	0,009
V_1	20,00	$20,3 \pm 0,8$	0,009
V_6	2,00	$1,98 \pm 0,11$	0,013
V_1	20,00	$20,1 \pm 0,8$	0,009
V_6	4,00	$4,03 \pm 0,23$	0,013
V_1	20,00	$19,9 \pm 0,9$	0,011
V_6	6,00	$5,95 \pm 0,35$	0,014
V_1	20,00	$20,2 \pm 0,8$	0,009
V_6	8,00	$8,25 \pm 0,52$	0,015
V_1	20,00	$20,0 \pm 0,8$	0,009
V_6	10,00	$9,8 \pm 0,5$	0,012
V_1	2,00	$2,05 \pm 0,13$	0,015
V_6	4,00	$4,04 \pm 0,22$	0,013
V_1	2,00	$2,00 \pm 0,15$	0,017
V_6	6,00	$6,14 \pm 0,23$	0,009
V_1	2,00	$1,95 \pm 0,13$	0,016
V_6	8,00	$8,25 \pm 0,32$	0,009

Окончание табл. 1

Витамин	Введено С, 10 ⁻⁵ моль/л	Найдено С, 10 ⁻⁵ моль/л	S _г
В ₁	2,00	1,82 ± 0,11	0,014
В ₆	10,00	9,88 ± 0,42	0,010
В ₁	2,00	1,46 ± 0,09	0,014
В ₆	20,00	20,3 ± 0,9	0,010
В ₁	4,00	3,42 ± 0,23	0,0016
В ₆	20,00	20,2 ± 0,8	0,009
В ₁	6,00	5,92 ± 0,28	0,011
В ₆	20,00	20,2 ± 0,9	0,010
В ₁	8,00	8,12 ± 0,42	0,012
В ₆	20,00	19,9 ± 0,8	0,009
В ₁	10,00	9,25 ± 0,44	0,011
В ₆	10,00	9,56 ± 0,38	0,009
В ₁₂	1,00	1,02 ± 0,07	0,016

Предложенный метод может быть использован также для анализа трехкомпонентного раствора, однако, правильные результаты можно получить лишь при условии, что молярные соотношения В₁₂:В₁ и В₁₂:В₆ более 1:100. При меньших соотношениях значительное поглощение В₁₂ в аналитическом интервале длин волн (225–308 нм) существенно искажает результаты определения В₁ и В₆.

Предложенная методика применена для определения содержания витаминов В₁, В₆, В₁₂ в препаратах Мильгамма и Комбилипен в ампулах. Содержимое ампулы (2 мл) количественно переносили в мерную колбу объемом 25 мл и доводили объем раствора до метки 0,1 М НСl. Регистрировали спектр поглощения раствора и рассчитывали содержание витамина В₁₂ с использованием системы уравнений (4) в интервале длин волн 380–600 нм. Затем разбавляли последовательно раствор препарата в 10³ раз 0,1 М раствором соляной кислоты и регистрировали спектр поглощения от 225 до 308 нм с шагом 0,1 нм. Рассчитывали концентрации витаминов В₁, В₆ пользуясь системой уравнений (5) и пересчитывали на содержание витаминов в ампуле препаратов. Результаты приведены в табл. 2.

Таблица 2
Результаты определения витаминов В₁, В₆ и В₁₂ в препаратах Мильгамма и Комбилипен (Р=0,95; n=3)

Препарат	Витамины	Введено, мг	Определено, мг	S _г
Мильгамма	В ₁	100	106±7	0,06
	В ₆	100	97±5	0,05
	В ₁₂	1	0,91±0,12	0,11
Комбилипен	В ₁	100	104±7	0,07
	В ₆	100	98±4	0,05
	В ₁₂	1	1,09±0,11	0,10

Определенное содержание витаминов В₁, В₆, В₁₂ препаратах методом спектрофотометрии соответствует заявленному.

Витамин В₁₂ в лекарственных препаратах содержится в количествах значительно меньших, чем В₁ и В₆. Для определения содержания витамина В₁₂ в поливитаминальном комплексе Пентовит, содержащем В₁ (10 мг), В₃ (20 мг), В₆ (5 мг), В₉ (0,4 мг) и В₁₂ (0,05 мг) предложено гомогенное экстракционное концентрирование витамина В₁₂ [25]. Для этого 10 таблеток препарата растирали до однородности в фарфоровой ступке, переносили в мерную колбу и растворяли в воде до 50 мл. Содержимое фильтровали сначала через ватный диск, затем через бумажный фильтр. 5 мл фильтрата переносили в пробирку, добавляли 5 мл воды и 2 мл изопропанола. После перемешивания прибавляли сульфат аммония до выделения экстрагента. По значениям оптических плотностей в интервале 380–600 нм с использованием системы уравнений (4) рассчитали содержание витамина В₁₂. Погрешность определения составила ~10 %. Для определения витаминов В₁ и В₆ фильтрат

разбавляли в 100 раз 0,1 М раствором соляной кислоты. Определение проводили методом МЛР. Присутствие витаминов В₃ и В₉ не мешает определению, так как В₃ не поглощает УФ излучение в данной области, а содержание В₉ находится ниже предела его определения. Результаты представлены в табл. 3.

Таблица 3

Результаты определения витаминов В₁, В₆ и В₁₂ в препарате Пентовит (P=0,95; n=3)

Витамины	Заявлено, мг	Определено, мг	Δ, %
В ₁	10	9,6±0,5	4
В ₆	5	5,3±0,4	6
В ₁₂	0,05	0,046±0,003	10

Определенное содержание витаминов В₁, В₆, В₁₂ препаратах методом спектрофотометрии соответствует заявленному.

Выводы

1. Предложена методика спектрофотометрического определения витаминов В₁, В₆ и В₁₂ в лекарственных препаратах, основанная на переводе определяемых компонентов в водный раствор и обработке спектров поглощения полученных растворов методом множественной линейной регрессии. Методика не требует дорогостоящего оборудования и может быть реализована в любой аналитической лаборатории.

2. Исследованы спектры поглощения витаминов В₁, В₆ и В₁₂ в 0,1 М НСl, дистиллированной воде, 0,1 М NaOH и показано, что постоянство значений молярных коэффициентов поглощения при одинаковых длинах волн, необходимое для реализации метода МЛР, наблюдается только в 0,1 М НСl. В нейтральных и щелочных растворах спектр поглощения изменяется в зависимости от концентрации из-за равновесия между различными ионно-молекулярными формами витаминов.

3. Проведен сравнительный анализ спектров поглощения витаминов В₁, В₆ и В₁₂ в 0,1 М НСl и предложены оптимальные условия определения концентрации витаминов в водных растворах при совместном присутствии методом множественной линейной регрессии. Для определения В₁₂ следует использовать аналитический интервал длин волн 380-600 нм, для определения В₁ и В₆ – 225–308 нм.

4. Изучены возможности применения предложенной методики для анализа водных растворов без предварительного разбавления и показано, что определение витамина В₁₂ возможно в интервале концентраций $1 \cdot 10^{-5}$ – $2 \cdot 10^{-4}$ моль/л независимо от концентраций В₁ и В₆. Определение В₁ и В₆ возможно при их суммарной концентрации не более $3 \cdot 10^{-4}$ моль/л и при концентрации В₁₂ менее $2 \cdot 10^{-6}$ моль/л. Присутствие В₁ даже при 10-кратном избытке не влияет на определение витамина В₆ в интервале концентраций от $2 \cdot 10^{-5}$ моль/л до $2 \cdot 10^{-4}$ моль/л. Правильные результаты определения В₁ можно получить при $C(V_1):C(V_6) < 1:4$. Случайные погрешности определения витаминов в указанных условиях не превышают 10 %.

5. Предложено использовать гомогенное концентрирование для определения витамина В₁₂, поскольку его содержание в лекарственных препаратах на несколько порядков меньше содержания других витаминов и находится ниже уровня определяемых концентраций.

6. Предложенная методика использована для определения витаминов В₁, В₆ и В₁₂ в препаратах Мильгамма, Комбилипен для инъекций и таблетках Пентовит. Совпадение определенного содержания витаминов В₁, В₆, В₁₂ препаратах методом спектрофотометрии с заявленным свидетельствует о правильности разработанной методики и качестве лекарственных препаратов.

Список источников

1. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия: учебник. М.: Медицина, 1998. 704 с.
2. Chen P., Wolf W.R. // Anal. Bioanal Chem. 2007. V. 387, No. 7. P. 2441. DOI: 10.1007/s00216-006-0615-y.
3. Громова О.А., Ребров В.Г. Витамины, макро- и микроэлементы: обучающие программы РСЦ института микроэлементов ЮНЕСКО. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. 954 с.

4. Ramos R.J., Pras-Raves M.L., Gerrits J. et al. // J. Inherited Metab. Dis. 2017. V. 40, No. 6. P. 83. DOI: 10.1007/s10545-017-0061-3.
5. Хапалюк А.В. // Лечебное дело. 2019. Т.46, № 4. С.17. EDN: RFSNWN.
6. Inada M., Toyoshima M., Kameyama M. // Int. J. Vitam. Nutr. Res. 1982. V. 52, No. 4. P. 423. PMID: 7160970.
7. Громова О.А., Торшин И.Ю., Гусев Е.И. // Фармакокинетика и фармакодинамика. 2017. № 1. С. 40. EDN: YPJQVJ.
8. Торшин И.Ю., Громова О.А. // Российский журнал боли. 2022. Т.20, № 1. С. 56. DOI: 10.17116/pain20222001156.
9. Шайдарова Л.Г., Челнокова И.А., Гафиатова И.А. и др. // Аналитика и контроль. 2022. Т. 26, № 4. С. 244. DOI:10.15826/analitika.2022.26.4.001.
10. Аронбаев С.Д., Нармаева Г.З., Абдуллаева Н.У. и др. // Universum: химия и биология: электрон. научн. журн. 2017. URL: <https://7universum.com/ru/nature/archive/item/5181> (дата обращения: 04.11.2017).
11. Тринеева О.В., Рудая М.А., Сливкин А.И. // Вестник ВГУ. Серия: химия, биология, фарма-ция. 2017. № 3. С. 131. EDN: ZRCNFH.
12. Hashim N.H., Osman R., Abidin N.A.Z. et al. // MJAS. 2021. V. 25, No 3. P. 466.
13. Kozhanova L.A., Fedorova G.A., Baram G.I. // J. Anal. Chem. 2002. V. 57, No 1. P. 40. DOI: 10.1023/a:1013657607698.
14. Markopoulou C.K., Kagkadis K.A., Koundourellis J.E. // J. Pharm. Biomed. Anal. 2002. V. 30. P. 1403. DOI: 10.1016/s0731-7085(02)00456-9.
15. Арбатский А.П., Афоньшин Г.Н., Востоков В.М. // Журн. аналит. химии. 2004. Т. 59, № 12. С. 1304. EDN: OQDXLH.
16. Власова И.В., Масякова Е.Н., Богданова Л.А. и др. // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. 2007. Т.73, № 9. С. 25. EDN: KUSYZR.
17. Lebiezinska A., Marszałł M.L., Kuta J. et al. // J. Chromatogr. A. 2007. V. 1173. P. 71. DOI: 10.1016/j.chroma.2007.09.072.
18. Poongothai S., Ilavarasan R., Karrunakaran C.M. // Int. J. Pharm. Pharm. Sci. 2010. V. 2. Suppl 4. P. 133. DOI: 10.1002/jps.2600700912.
19. Ромашевская А.Ю., Дубоделова Е.В., Горжанов В.В. // Разработка и регистрация лекар-ственных средств. 2016. № 3(16). С. 112. EDN: YGIFRT.
20. Nurtazina A., Voitsekhovskiy I., Toishimanov M. et al. // Science & Healthcare. 2023. V. 25, No. 2. P. 84. DOI: 10.34689/SH.2023.25.2.011.
21. Кутина А.А., Сумина Е.Г., Углова В.З. // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер.: Химия. Био-логия. Экология. 2023. Т. 23, вып. 4. С. 370. DOI: 10.18500/1816-9775-2023-23-4-370-381.
22. Власова И.В., Шелпакова А.С., Масякова Е.Н. // Аналитика и контроль. 2009. Т.13, № 2. С. 86. EDN: KHQBYB.
23. Тюрина Т.Г., Шевчук Н.О., Заречная О.М. и др. // Вестник ТвГУ. Серия «Химия». 2019. № 4(38). С. 89. DOI: 10.26456/vtchem2019.4.10.
24. Chahine J-M. E. H., Dubois J-E. // J. Am. Chem. Soc. 1983. V. 105, No. 8. P. 2335. DOI: 10.1021/ja00346a037.
25. Зыков А.В. Экстракция витаминов группы В и их определение в фармацевтических пре-паратах: автореф. дис. ... канд. хим. наук. Воронеж: Отдел полиграфии ФГБОУ ВПО «ВГУИТ», 2013. 20 с.

Кулешова Надежда Вячеславовна – кандидат химических наук, доцент, кафедры аналитической и медицинской химии, Национальный исследовательский Нижегородский государствен-ный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия. E-mail: nvku@yandex.ru

Джек Даноби Вера Розмонд – аспирант 4-го года обучения кафедры аналитической и меди-цинской химии, Национальный исследовательский Нижегородский государственный универси-тет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия. E-mail: laylakinvy02@gmail.com

Ковалева Юлия Николаевна – аспирант 3-го года обучения кафедры аналитической и медицинской химии, Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия; преподаватель кафедры фундаментальной химии и химической технологии, Национальный исследовательский Мордовский государственный университет, Саранск, Россия. E-mail: uliakovaleva675@gmail.com

Нипрук Оксана Валентиновна – доктор химических наук, профессор, кафедра аналитической и медицинской химии, Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия. E-mail: nipruk@yandex.ru

Князев Александр Владимирович – доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой аналитической и медицинской химии, Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия. E-mail: knyazevav@chem.unn.ru

Статья поступила в редакцию 14 апреля 2025 г.

The article was submitted 14 April 2025.