*Рекомендована д.ф.н., професором В.М.Ковальовим*

УДК 615.22.224:54.61/062/001.08

# РОЗРОБКА МЕТОДІВ ІДЕНТИФІКАЦІЇ ДИЛТІАЗЕМУ

Ю.П.Медведєва , В.С.Бондар

Національний фармацевтичний університет

**Розроблені методи ідентифікації дилтіазему за допомогою хімічних реакцій (осадових, мікрокристалоскопічних, кольорових реакцій), тонкошарової хроматографії та УФ-спектрофотометрії в різних розчинниках. Показана можливість застосування методу тонкошарової хроматографії для розділення дилтіазему та інших препаратів серцево-судинної дії.**

Дилтіазем-D-цис-3-ацетокси-2,3-дигідро-5-[2-(диметиламіно)етил]-2-(2-метоксифеніл)-1,5-бензотіазепін-4(5Н)-ону гідрохлорид — препарат з групи антагоністів іонів кальцію, похідне бензотіазепіну. Широко застосовується у сучасній кардіологічній практиці при ішемічній хворобі серця, артеріальній гіпертензії [1, 2, 6, 10].

У деяких випадках препарат може викликати серйозні побічні ефекти та важкі отруєння. Найбільш небезпечними клінічними проявами інтоксикації дилтіаземом є виражена гіпотензія, *колапс, синусова брадикардія та порушення AV*-проводимості [5, 7]. У хіміко-токсикологічному відношенні дилтіазем вивчений недостатньо [8, 9, 12]. Метою даної роботи є розробка ефективних та доступних методів ідентифікації дилтіазему, які можна застосовувати в фармацевтичному та хіміко-токсикологічному аналізі.

**Експериментальна частина**

Для ідентифікації дилтіазему за допомогою хімічних методів використовували осадові, мікрокристалоскопічні та кольорові реакції. Для цього застосовували широке коло реактивів, які при взаємодії з дилтіаземом давали позитивний чи негативний результат (утворення або відсутність осадів та забарвлення). При проведенні осадових реакцій використовували наступні реактиви: реактиви Драгендорфа різних модифікацій, розчин пікринової кислоти, сіль Рейнеке та ін. Для виконання осадових реакцій використовували метанольний розчин дилтіазему, який наносили на скляні предметні пластинки і після випаровування метанолу залишки розчиняли у 1-2 краплях 0,1 Н розчину хлористоводневої кислоти. До одержаних розчинів додавали відповідні реактиви. Якщо зміни не відбувалися зразу, то скло поміщали у вологу камеру та спостерігали за зміною через 10-30 хв. У тих випадках, коли протягом вказаного часу осади не з'являлися, проби залишали на декілька годин.

Для проведення кольорових реакцій використовували концентровану сірчану та азотну кислоти, реактиви Ердмана, Манделіна, Фреде, Маркі та ін. При проведенні кольорових реакцій на фарфорові пластинки наносили метанольний розчин дилтіазему та випаровували досуха. Після цього додавали реактиви та спостерігали забарвлення. Паралельно проводили контрольний дослід (замість розчину препарату вносили розчинник — метанол). Для проведення ТШХ аналізу використовували 4 типи пластинок з різними типами твердого носія: "Silufol УФ-254", ВЕТШХ, "Сорбфіл" та "Армсорб". Для розвитку хроматограм як рухомі фази було обрані системи розчинників, регламентовані фармакопейними статтями та Міжнародним комітетом по систематичному токсикологічному аналізу Міжнародної асоціації судових токсикологів [4, 5]. При проведенні досліджень на лінію старту (на відстані 2 см від краю пластинки) наносили в точку діаметром 0,3 см капіляром по 10 мкл метанольного розчину дилтіазему і висушували при кімнатній температурі. Пластинки вносили в камери об'ємом 2000 см$^3$, в яких знаходилися системи розчинників. Після досягнення розчинником лінії фронту пластинки виймали з камери, висушували і проявляли реактивом Драгендорфа за Муньє.

У літературних джерелах особливо відзначено, що велику кількість отруєнь складають змішані отруєння [3, 5, 11]. Тому було проведено дослідження з розділення дилтіазему та інших препаратів серцево-судинної групи при сумісній присутності за допомогою методу ТШХ. Для цього були проаналізовані існуючі схеми лікування та визначені фармакологічні групи препаратів, які найчастіше застосовують разом з антагоністами кальцію [2, 7]. До цих груп були віднесені бета-адреноблокатори та інгібітори АПФ. З обраних груп було досліджено по одному препарату (атенолол з групи бета-адреноблокаторів та каптоприл з групи інгібіторів АПФ). З групи антагоністів іонів кальцію як препарат нового покоління, який починає широко застосовуватися в терапевтичній практиці, було обрано амлодипін.

Таблиця 1

Результати осадових реакцій дилтіазему

| Реактив | Спостереження | Межа визначення, мкг/мл | Граничне розбавлення |
|---|---|---|---|
| Сіль Рейнеке — 1% розчин | Дрібні кристали гострокінцевої форми, які зростаються між собою, слабко-рожевого кольору | 10 | 1:5000 |
| Розчин калію перманганату 0,1 М | Дрібні кристали, які зрослися між собою, невизначеної форми, безкольорові | 20 | 1:2000 |
| Реактив Драгендорфа | Аморфний осад світло-коричневого кольору | 20 | 1:2000 |
| Реактив Драгендорфа за Муньє | Аморфний осад коричневого кольору | 20 | 1:2500 |
| Водний розчин пікринової кислоти 0,5% | Аморфний осад світло-жовтого кольору | 10 | 1:5000 |
| Реактив Вагнера | Темно-коричневий аморфний осад | 20 | 1:2500 |
| Реактив Бушарда | Темно-оранжевий аморфний осад | 5 | 1:10000 |

Таблиця 2

Чутливість реакцій дилтіазему з деякими реактивами забарвлення

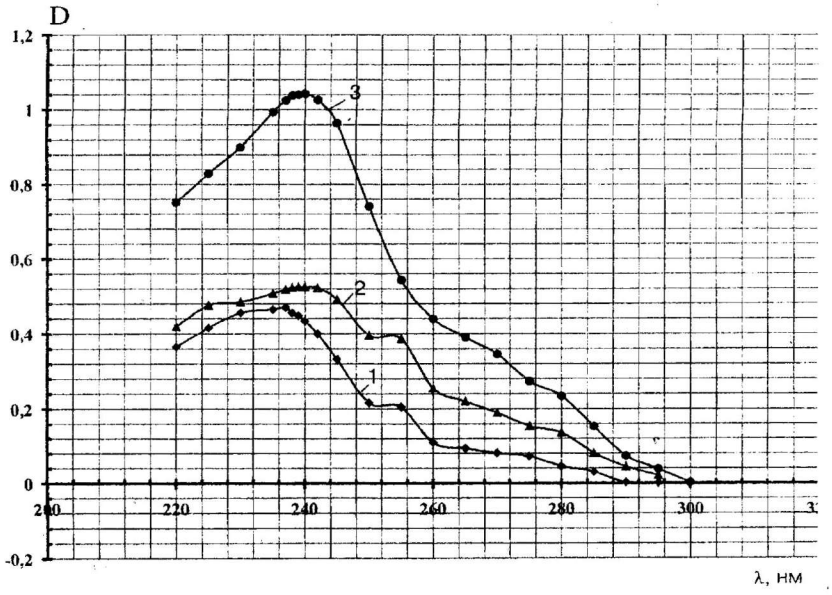
| Реактив | Забарвлення | Межа визначення (мкг в пробі) |
|---|---|---|
| $H_2SO_4$ конц. | — | — |
| $HNO_3$ конц. | — | — |
| Реактив Маркі | Світло-фіолетове | 25 |
| Реактив Ердмана | Жовто-коричневе | 25 |
| Реактив Манделіна | Зелено-фіолетове | 20-25 |
| Реактив Фреде | Фіолетове | 10-15 |
| Реактив Лібермана | — | — |
| 10% р-н $FeCl_3$ | Жовто-зелене | 20 |

Крім хімічних методів ідентифікації та ТШХ аналізу проводили дослідження з ідентифікації дилтіазему за допомогою УФ-спектроскопії. Була досліджена поведінка дилтіазему в УФ-області спектра в різних розчинниках (воді, метанолі та етанолі). Концентрація досліджених розчинів становила 10 мкг в 1 мл.

Точні наважки препарату вміщували в мірні колби об'ємом 10 мл та розчиняли у різних розчинниках. Після цього з отриманих розчинів методом розведення готували розчини з концентрацією 10 мкг в 1 мл і досліджували на спектрофотометрі СФ-46 (з товщиною кювети 1 см) через 5 та 2 нм.

**Результати та їх обговорення**

Як видно з результатів, наведених в табл. 1 і табл. 2, найбільш чутливим осадовим реактивом




1 — водний розчин;
2 — метанольний розчин;
3 — етанольний розчин

Рис. УФ-спектри різних розчинів дилтіазему (10 мкг/мл)

Таблиця 3

Значення Rf для різних тонких шарів і систем розчинників для дилтіазему та інших препаратів

| Типи пластин | Silufol | | | | ВЕТШХ | | | | Сорбфіл | | | | Армсорб | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Системи розчинників | Д | К | Н | А | Д | К | Н | А | Д | К | Н | А | Д | К | Н | А |
| 1 | 0,36 | 0,46 | 0,12 | 0,12 | 0,30 | 0,67 | 0,32 | 0,51 | 0,50 | 0,52 | 0,19 | 0,32 | 0,52 | 0,53 | 0,23 | 0,43 |
| 2 | 0,67 | 0,99 | 0,92 | 0,98 | 0,80 | 0,87 | 0,90 | 0,81 | 0,75 | 0,87 | 0,78 | 0,70 | 0,69 | 0,90 | 0,80 | 0,72 |
| 3 | 0,72 | 0,77 | 0,72 | 0,70 | 0,78 | 0,88 | 0,92 | 0,78 | 0,76 | 0,76 | 0,74 | 0,65 | 0,71 | 0,78 | 0,73 | 0,68 |
| 4 | 0,59 | 0,19 | 0,41 | 0,12 | 0,71 | 0,37 | 0,39 | 0,31 | 0,60 | 0,18 | 0,18 | 0,18 | 0,55 | 0,60 | 0,43 | 0,27 |
| 5 | — | — | — | — | 0,22 | — | — | — | 0,14 | — | — | — | — | — | — | — |

Примітки: Д — дилтіазем; К — каптоприл; Н — норваск; А — атенолол.
Системи розчинників: 1: етанол — 25% р-н аміаку (100:1,5);
2: оцтова кислота — вода — хлористий метилен — етанол (1:3:10:12);
3: бутанол — оцтова кислота — вода (1:1:1);
4: етилацетат — метанол — 25% р-н аміаку (80:10:10);
5: хлороформ — етанол (95:5).

є реактив Бушарда (чутливість 5 мкг у пробі), меншу чутливість мають 1% розчин солі Рейнеке і 0,5% розчин пікринової кислоти (чутливість 10 мкг у пробі). З реактивів забарвлення найбільш чутливим по відношенню до дилтіазему виявився реактив Фреде (чутливість 10-15 мкг у пробі).

За результатами хроматографічних досліджень оптимальними системами розчинників, які призводять до надійних значень величин Rf (0,60-0,75) при використанні різних хроматографічних пластинок, можна вважати етилацетат — метанол — 25% розчин аміаку (80:10:10) та оцтова кислота — вода — хлористий метилен — етанол (1:3:10:12). За результатами, наведеними в табл. 3, оптимальними системами для розділення дилтіазему та інших досліджуваних препаратів при сумісній присутності є етилацетат — метанол — 25% розчин аміаку (80:10:10) та етанол — 25% розчин аміаку (100:1,5), а найбільш придатним є тип пластинок "Силуфол".

Дослідження поведінки дилтіазему в УФ-області спектра в різних розчинниках показує, що в усіх досліджуваних розчинах дилтіазем має характерні смуги поглинання в області довжини хвиль 220-320 нм. При цьому в усіх досліджуваних розчинниках (воді, етанолі та метанолі) спостерігається один максимум поглинання при 238±2 нм.

## ВИСНОВКИ

1. Розроблені хімічні методи ідентифікації дилтіазему (осадові, мікрокристалоскопічні, кольорові реакції) та встановлено їх чутливість.

2. За допомогою методу ТШХ з використанням різних аналітичних пластинок та різних рухомих систем розчинників проведена ідентифікація дилтіазему та виявлені оптимальні умови, які дозволяють одержати надійні значення Rf, розроблені оптимальні умови для відділення дилтіазему від інших препаратів серцево-судинної групи при сумісній присутності з використанням цього методу.

3. Вивчена можливість ідентифікації дилтіазему за допомогою УФ-спектроскопії в різних розчинниках.

## ЛІТЕРАТУРА


1. *Амосова Е.Н. // Укр. мед. часопис. — 1999. — №2. — С. 97-100.*
2. *Белоусов Ю.Б., Моисеев Ю.С., Лепахин В.К. Клиническая фармакология и фармакотерапия. — М.: Универсум паблишинг, 1997. — 530 с.*
3. *Бобров В.О., Давидова І.В., Шликова Н.О. та ін. Використання блокаторів кальцієвих каналів в кардіологічній практиці (метод. рекоменд.). — К., 2001. — 17 с.*
4. *Ерёмин Б.Н., Изотов Н.В. Анализ наркотических средств. Руководство по химико-токсикологическому анализу наркотических и других одурманивающих средств. — М.: "Мысль", 1993. — 377 с.*
5. *Клиническая токсикология детей и подростков. Т.2. — С.-Пб.: "ИНТЕРМЕДИКА", 1999. — 400 с.*
6. *Латогуз І.К., Мала Л.Т. , Циганенко А.Я. Клінічна фармакологія. Т. 1. — Х.: "Основа", 1995. — 526 с.*
7. *Хансон Л., Хендер Т., Ланд-Джоансен П. // Новини кардіології. — 2001. — №1. — С. 109-112.*
8. *Burnett D., Wiliams J. Clarc's Isolation and Identification of Drugs. — London : The Pharmaceutical Press, 1986. — 1224 p.*
9. *Devarajan P.V., Dhavse V.V.// J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl. — 1998. — №3. — P. 706.*
10. *Hansson L., Lindholm L.-H., Ekbom T. // Lancet. — 1999. — Vol. 354. — P. 1751-1756.*

*11. Hansson L., Lindholm L.-H., Niskanen L. // Lancet. — 1999. — Vol. 353. — P. 611-616.*
*12. Sastry C. S. P., Szeedhar K., Reddy M. // Indian J. Pharm. Sci. — 1995. — №4. — P. 170-172.*

УДК 615.22.224:54.61/062/001.08

РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ ИДЕНТИФИКАЦИИ ДИЛТИАЗЕМА

Ю.П.Медведева, В.С.Бондарь

Разработаны методы идентификации дилтиазема с помощью осадочных, микрокристаллоскопических реакций и реакций окрашивания. Были определены условия идентификации дилтиазема с помощью ТСХ метода и возможность его применения для разделения дилтиазема и других препаратов сердечно-сосудистой группы при совместном присутствии. Проведено спектрофотометрическое исследование дилтиазема в УФ-области спектра в различных растворителях.

UDC 615.22.224:54.61/062/001.08

THE ELABORATION OF METHODS FOR DILTIAZEM IDENTIFICATION

Yu.P.Medvedeva, V.S.Bondar

The methods for Diltiazem identification by precipitation, microcristalisation reactions and reaction of coloration have been elaborated. The conditions of Diltiazem identification by thin layer chromatography and the possibility of this method application for division of Diltiazem and other cardiovascular drugs have been found. We have conducted the spectrophotometric investigation of Diltiazem in UV — the range of spectrum in different solvents.

*Продовження. Початок див. на стор. 20.*

*І.Т.Слюсаренко*, провідний науковий співробітник Інституту неврології, психіатрії і наркології АМН України *"Головний біль: підходи до фармакологічної корекції"*.

*В.О.Усенко*, менеджер з медицини та реєстрації компанії GlaxoSmithKline HealthCare Ukraine *"Фармакоекономічний аналіз безрецептурних лікарських засобів для симптоматичного лікування застудних хвороб"*.

*О.М.Заліська*, доцент кафедри ОЕФ з курсом технології ліків факультету післядипломної освіти Львівського державного медичного університету ім. Данила Галицького *"Актуальні методи фармакоекономічної оцінки лікарських засобів в Україні"*.

*П.А.Бездітко*, професор, завідувач кафедри очних хвороб Харківського державного медичного університету *"Фармакоекономіка в офтальмології"*.

*Л.Є.Зарума*, доцент кафедри технології ліків з курсом промислової фармації Львівського державного медичного університету ім. Данила Галицького *"Місце та роль фармакокінетики у фармацевтичній опіці хворих"*.

***У рамках конференції відбувся семінар з правових та освітніх питань клінічної фармації.***

*Мета семінару* — обговорення досвіту роботи опорної кафедри — кафедри клінічної фармації НФаУ у підготовці клінічних провізорів та викладанні дисципліни "Клінічна фармація" провізорам загального профілю.

На семінарі виступили:

*В.П.Черних*, член-кореспондент НАН України, професор, ректор Національного фармацевтичного університету; *І.А.Зупанець*, професор, завідувач кафедри клінічної фармації Національного фармацевтичного університету; *Г.В.Зайченко*, доцент, проректор з міжнародних зв'язків Національного фармацевтичного університету *"Сучасна концепція розвитку клінічної фармації"*.

*М.А.Вороніна*, доцент кафедри теорії держави і права Національної юридичної академії ім. Ярослава Мудрого *"Юридичні аспекти клінічної фармації"*.

*В.А.Георгіянц*, доцент, завідувачка науково-медичної лабораторії з питань фармацевтичної освіти Національного фармацевтичного університету *"Навчальний план спеціальності "Клінічна фармація": динаміка змін"*.

*І.Г.Купновицька*, професор, завідувачка кафедри фармакології з курсом клінічної фармакології Івано-Франківської медичної академії *"Реалізація знань і умінь у процесі вивчення клінічної фармакології і фармакотерапії студентами медичних і фармацевтичних факультетів"*.

*В.В.Пропіснова*, доцент кафедри клінічної фармації Національного фармацевтичного університету *"Значення практики з лабораторної та функціональної діагностики в процесі професійної підготовки клінічних провізорів"*.

*С.Б.Попов*, професор кафедри клінічної фармації Національного фармацевтичного університету "Презентація навчального посібника *"Фармацевтична опіка"*.

*Конференція "Клінічна фармація в Україні", яка регулярно проводиться вже протягом трьох років, зібрала широку аудиторію науковців та практиків.*