

РОЗДІЛ II

Аналітична хімія

УДК 543.23

М. Є. Блажесвський – доктор хімічних наук, професор кафедри фізичної та колоїдної хімії Харківського національного фармацевтичного університету;

Т. О. Томаровська – кандидат хімічних наук, доцент кафедри фізичної та колоїдної хімії Харківського національного фармацевтичного університету

Застосування кінетичних методів у фармацевтичному аналізі (огляд)

Роботу виконано на кафедрі фізичної та колоїдної хімії ХНФУ

Оглянуто праці, які стосуються застосування кінетичних методів аналізу для визначення лікарських та біологічно активних речовин. Показано переваги та обмеження використання кінетичних методів у фармацевтичному аналізі.

Ключові слова: метод кінетики, визначення ліків, фармацевтичний аналіз.

Блажеевский М. Е., Томаровская Т. А. Применение кинетических методов в фармацевтическом анализе (обзор). Рассмотрены работы, касающиеся применения кинетических методов анализа для определения лекарственных и биологически активных веществ. Показаны преимущества и ограничения использования кинетических методов в фармацевтическом анализе.

Ключевые слова: кинетические методы, определение лекарств, фармацевтический анализ.

Blazhejevskiy M. Ye, Tomarovska T. O. The Use of Kinetic Methods in Pharmaceutical Analysis (Review). The articles are concerning to the application kinetic methods for the determination of drugs and biologically actives substances is reviewed. Advantages and limitation using kinetic methods in the pharmaceutical analysis are shown.

Key words: kinetic method, determination of drug, pharmaceutical analysis.

Кінетичні методи набувають все більшого поширення у хімічному та фармацевтичному аналізі [1]. Завдяки автоматизації відносно дешевих та простих за будовою приладів і пристроїв, а також застосуванню сучасних комп'ютеризованих систем вони стали важливим засобом здійснення рутинних аналізів різноманітних класів лікарських препаратів за вельми короткий час.

Цю оглядову працю присвячено новітнім досягненням методу кінетики у фармацевтичному аналізі. Однак, слушно зазначити, що в літературі ще порівняно мало трапляється прикладів застосування кінетичних методів під час контролю якості лікарських засобів [2].

Експериментальні та теоретичні засади кінетичних методів аналізу опрацював К. Б. Яцимірський [3].

Кінетичні методи аналізу засновані на відомій залежності швидкості хімічних реакцій від концентрацій реагуючих речовин. Визначити можна один із реагентів (*некаталітичні методи*) або *каталізатор* і взаємодіючі з ним речовини (*каталіметрія*).

Реакція, за допомогою якої визначають речовини, називають *індикаторною*. Її швидкість знаходять за зміною в часі концентрації так званої *індикаторної речовини*, якою можуть бути продукт реакції або вихідна речовина. Щоб визначити концентрацію обраної як індикаторної речовини, можна застосовувати практично будь-які методи. Найчастіше використовують титриметрію (як правило, некаталітичні реакції), фото- або спектрофотометрію, вольтамперометрію, флуориметрію та хемілюмінометрію, йонометрію, нефелометрію тощо.

У кінетичних методах аналізу використовують гомогенні реакції – окисно-відновні, обміну в координаційних сполуках, реакції карбонільних сполук та їх похідних (гідроліз естерів, декарбоксілювання) та ферментні (ензимні) реакції.

Залежність швидкості хімічної реакції $A + B \rightarrow X + Y$ від концентрації реагентів описується кінетичним рівнянням: $v = \pm dx / dt = k ([A]_0 - x) \cdot ([B]_0 - x)$, де k – константа швидкості реакції, зміна концентрації індикаторної речовини $x = [A]_0 - [A] = [B]_0 - [B] = [X]_0 - [X] = [Y]_0 - [Y]$ за період часу t ; $[A]_0$, $[B]_0$, $[X]_0$, $[Y]_0$ і $[A]$, $[B]$, $[X]$, $[Y]$ відповідно вихідні та поточні концентрації реагентів (A і B) та продуктів реакції (X і Y).

Залежно від співвідношення концентрацій вихідних речовин та x застосовують або “диференціальний”, або “інтегральний” варіант обробки результатів дослідження індикаторних реакцій.

Якщо x порівняно з $[A]_0$ і $[B]_0$ значно менша, а відтак останні практично не змінюються і можуть бути включені в константу швидкості реакції ($[A]_0 \gg x$, $[B]_0 \gg x$), то застосовують *диференціальний варіант*. Диференційні методи стосуються реакцій псевдонульового порядку, оскільки вони базуються на вимірюваннях, зроблених у початковий момент процесу. У випадку гомогенних каталітичних реакцій, які використовують для визначення концентрації каталізатора $[K]$, кінетичне рівняння має вигляд: $dx / dt = k' + k'_k [K]$, де $k' = k [A]_0[B]_0$ і $k'_k = k_k [A]_0[B]_0$. Константа швидкості каталітичної реакції k_k має більш важливе значення, ніж відповідна константа швидкості некаталітичної реакції k . Її називають каталітичним коефіцієнтом. Відношення k_k / k – ефективністю каталізатора. Для реакцій, які використовують в аналітичних цілях, ефективність каталізатора часто характеризують так званім кругообіговим числом N_k . Його розраховують як відношення зміни концентрації індикаторної речовини Δx за час Δt до заздалегідь відомої концентрації каталізатора $[K]_0$ у цій каталітичній реакції: $N_k = \Delta x / \Delta t [K]_0 = k_k [A]_0[B]_0$. Швидкість реакції зазвичай вимірюють графічним методом за нахилом кінетичних кривих залежності концентрації індикаторної речовини від часу t . Завдяки цьому способу обробки результатів покращується репродуктивність визначень і дуже спрощується співвідношення між швидкістю реакції і концентрацією каталізатора. Для застосування диференційного варіанта обробки результатів насамперед необхідна наявність відповідного аналітичного обладнання, за допомогою якого можна вимірювати найменші зміни концентрації індикаторної речовини; з метою зменшення помилок визначення зазвичай спостерігають за продуктами реакції, що також легше експериментально здійснити.

Інтегральний варіант обробки результатів застосовують у тому випадку, коли x співмірна з $[A]$ і/або $[B]$, за якими і здійснюють визначення швидкості реакції. У простішому випадку, коли, наприклад, реагент B узятий в надлишку і слід враховувати лише зміну концентрації A , для знаходження вмісту каталізатора використовують таке інтегральне рівняння: $\ln [A]_0 - \ln ([A]_0 - x) = (k' + k'_k [K]) t$. Коли необхідно врахувати також і зміни концентрації компонента B , застосовують часовий закон другого порядку: $1 / ([A]_0 - x) - 1 / [A]_0 = (k + k_k [K]) t$.

На практиці при використанні диференційного або інтегрального варіанта одержання результатів здійснюється або завдяки неперервному спостереженню за перетворенням речовин у часі, або завдяки вимірюванню деякого параметра через заданий часовий чи концентраційний інтервал (метод одноразового вимірювання).

Залежно від виду одержуваної інформації розрізняють метод *тангенсів* (або *метод початкових швидкостей*), *фіксованого часу* і метод *фіксованої концентрації*.

У *методі тангенсів* неперервно реєструють зміну концентрації A (або B) або X (або Y) – індикаторної речовини – під час перебігу реакції та будують відповідну кінетичну криву – графічну залежність $[X] = f(t)$. Тангенс кута нахилу одержаної прямої $\text{tg } \alpha = - \Delta[A] / \Delta t \cong \Delta x / \Delta t$ при цьому прямо пропорційний концентрації каталізатора $[K]$. Для знаходження концентрації каталізатора будують градувальний графік у координатах “ $\text{tg } \alpha - [K]$ ”. У випадку інтегрального варіанта обробки результатів (для реакцій першого порядку) контролюють залежно від часу концентрацію вихідних речовин $\ln [A]$ або $\ln [A]_0 / [A]$ або продуктів реакції $\ln [A]_0 / ([A]_0 - [x])$. Концентрацію каталізатора визначають за нахилом прямої або розрахунковим шляхом за відповідним кінетичним рівнянням. Нині для вимірювання аналітичного сигналу (нахилу початкової ділянки кінетичної кривої) широко застосовують мікрокомп'ютери для безпосереднього розрахунку кривої, що забезпечує високу репродуктивність. Важливими перевагами такого методу є виконання аналізу за умов постійності швидкості індикаторної реакції (практична відсутність перебігу зворотньої та побічних реакцій), а також висока чутливість її вимірювання.

Найпростішим серед трьох названих вище методів є *метод фіксованого часу*. У цьому випадку задається постійний часовий інтервал від початку реакції і вимірювання концентрації індикаторної речовини $[X]$ здійснюється лише в кінці цього інтервалу Δt . При диференційному варіанті обробки результатів концентрація каталізатора визначається безпосередньо з рівняння: $[K] = \Delta x / \text{const}$. Графічна обробка результатів вимірювання передбачає побудову градуовальної залежності $\Delta [X]$ від концентрації каталізатора $[K]$.

В інтегральному варіанті (для реакції першого порядку) одержуємо $[K] \cong \ln [A]_0 - \ln ([A]_0 - x)$. Графічний варіант зводиться до побудови градуовальної напівлогарифмічної залежності $\Delta \ln [A]$ від $[K]$, за допомогою якої знаходять невідому концентрацію каталізатора. Цей метод є найкращим для реакцій псевдонульового порядку або при вимірюванні концентрацій субстратів ферментних реакцій.

Метод фіксованої концентрації (в англійській літературі використовують термін *variable-time method*). Якщо спостереження за перебігом реакції кожен раз здійснюють до заздалегідь вибраного x , то як при диференційному або інтегральному варіантах, концентрацію каталізатора знаходять з оберненої величини необхідного для цього проміжку часу Δt : $[K] = \text{const} / \Delta x$. Коли використовують диференційний або інтегральний варіанти, то вибирають різні умови: для першого $\Delta x = \text{const}$, для другого $\Delta \ln [x] = \text{const}$. Фактично, метод полягає у реєстрації певного значення вимірювального параметру (наприклад, світлобливання або інтенсивності хемілюмінесценції) і вимірюванні часу, за який досягається це значення, для серії проб з відомими концентраціями каталізатора. Графік залежності $1 / \Delta t$ від концентрації каталізатора $[K]$ використовують як градуовальний. Цей метод має більше обмежень, ніж попередній, оскільки для одержання надійних результатів необхідно, щоб ступінь перетворення був пропорційний часу всередині вибраного для вимірювань часового інтервалу Δt . Відповідні функціональні залежності для реакцій першого порядку при диференційному (як індикаторна речовина – продукт реакції X) і інтегральному варіантах (як індикаторна речовина – вихідна речовина A) наведено в таблиці 1.

Таблиця 1

Обробка експериментальних даних для визначення концентрації каталізатора

Диференційний варіант $[K] = D [X] / (Dt k_k [A]_0 [B]_0)$;

Інтегральний варіант $[K] = D \ln [A] / (Dt k_k [B]_0)$

Метод	Диференційний варіант	Інтегральний варіант
Метод тангенсів	$\Delta [X] / \Delta t \rightarrow [K]$	$\Delta \ln [A] / \Delta t \rightarrow [K]$
Метод фіксованого часу ($\Delta t = \text{const}$)	$\Delta [X] \rightarrow [K]$	$\Delta \ln [A] \rightarrow [K]$
Метод фіксованої концентрації ($\Delta [X]$ або $\Delta \ln [A] = \text{const}$)	$1 / \Delta t \rightarrow [K]$	$1 / \Delta t \rightarrow [K]$

Чутливість некаталітичних методів визначається чутливістю самого методу, вибраного для контролю за швидкістю реакції. Диференційні некаталітичні методи аналізу високо вибіркові і дозволяють визначати без попереднього розділення хімічно споріднені, близькі за властивостями органічні (наприклад, зі спільною функціональною групою в межах одного гомологічного ряду, ізомери тощо) або неорганічні сполуки (РЗЕ, перехідні або лужноземельні метали тощо). Каталітичним методам притаманні висока чутливість та, як правило, низька вибірковість. Тому їх переважно широко використовують для визначення слідових кількостей індивідуальних речовин. Величина, яка характеризує детектуючу здатність каталітичної аналітичної системи $[K]_{0, \text{мін}} = (\Delta [X]_{\text{мін}} / \Delta t_{\text{макс}} N_{K_{\text{макс}}}) + \alpha (k / k_k)$, де α – множник, який враховує так званий “фоновий ефект” некаталітичної реакції і змінюється від 0 (відсутня некаталітична реакція) до 1 (відсутня каталітична реакція), визначається чутливістю методу вимірювання зміни концентрації $\Delta [X]_{\text{мін}}$, тривалістю спостереження Δt і активністю каталізатора $N_{K_{\text{макс}}}$, тобто числом циклів каталізатора за період часу Δt . Найнижчі межі виявлення відповідають максимальній різниці констант швидкостей каталітичної та фонові – некаталітичної реакцій (енергій активації), тобто випадку, коли другим членом у наведеному вище рівнянні можна знехтувати. В таблиці 2 наведено спрощені рівняння (для індикаторних реакцій другого порядку при $\alpha = 0$), за якими можуть бути розраховані чутливість і межі виявлення різних варіантів кінетичних методів аналізу.

Чутливість і межі виявлення кінетичних методів

Метод рівняння градуального графіка	Чутливість	Межі виявлення, S_{\min}
Метод тангенсів $\Delta[X] / \Delta t = k_k [A]_0[B]_0[K]_0$	$k_k [A]_0[B]_0$	$3 S_B / k_k [A]_0[B]_0$
Метод фіксованого часу $\Delta[X] = k_k [A]_0[B]_0\Delta t [K]_0$	$k_k [A]_0[B]_0\Delta t$	$3 S_B / k_k [A]_0[B]_0\Delta t$
Метод фіксованої концентрації $1 / \Delta t = k_k [A]_0[B]_0[K]_0/\Delta[X]$	$k_k [A]_0[B]_0 / \Delta[X]$	$3 S_B\Delta[X] / k_k [A]_0[B]_0$

Примітка: S_B – стандартне відхилення сигналу холостого досліду (фону).

Межі виявлення S_{\min} в каталіметрії досягають 10^{-8} – 10^{-10} , а в ряді випадків – 10^{-12} г до 1 см^3 кінцевого об'єму, тобто є на 1–2 порядки нижчі, ніж для спектрофотометрії, полярографії і полуменевого варіанта атомної абсорбції, відносно стандартне відхилення 5–10 %.

Вибірковість каталітичних методів можна підвищити, використовуючи відповідні активатори, здійснюючи визначення у водно-органічних, уводячи маскуючі агенти або інгібітори, які уповільнюють реакції за участю каталітично активних домішок. Часто власне визначенню аналіту передують попередня стадія екстракції або хроматографічного розділення досліджуваної суміші, що дозволяє суттєво підвищити вибірковість каталітичних методів. У так званих екстракційно-каталітичних методах каталізатор визначають безпосередньо в екстракті. При цьому можна добитися того, що каталізувати індикаторну реакцію буде лише одна визначувана речовина досліджуваної суміші.

Каталітичні кінетичні методи аналізу застосовують для визначення не лише каталізаторів, але й інгібіторів або, навпаки, активаторів (зокрема, органічних сполук різноманітних класів) індикаторних реакцій. Чутливість каталітичних методів можна підвищити, використовуючи так звані “організовані” середовища за участю дифільних молекул поверхнево активних речовин, які мають здатність зближувати і концентрувати компоненти індикаторної реакції у мікропсевдофазі системи, а відтак підвищувати її швидкість у 100–1000 разів.

Запропоновано більше як 200 каталітичних індикаторних реакцій. Найчастіше застосовують гомогенне окиснення органічних та неорганічних сполук киснем або гідроген пероксидом, такими оксигеновмісними окисниками, як $S_2O_8^{2-}$, SO_5^{2-} , IO_3^- , IO_4^- , ClO_3^- , MoO_4^{2-} , RCO_3H , а також катіонами перехідних металів, наприклад, $Se(IV)$, $Fe(III)$ тощо. Як індикаторні часто використовують хемілюмінесцентні і ферментні реакції, які дозволяють у значній мірі підвищувати чутливість і, що найважливіше, вибірковість кінетичних методів аналізу. Залежності інтенсивності хемілюмінесценції від концентрації лінійні у значно ширшому інтервалі, ніж у випадку фотометрії.

На взаємодії каталізатора з інгібітором засновано методи *каталітичного титрування*, яким притаманна висока репродуктивність (відносно стандартне відхилення 1–3 %). У цих методах розчин проби з каталізатором титрують стандартним розчином інгібітора, а точку кінця титрування встановлюють за різкою зміною швидкості індикаторної реакції. Наприклад, окиснення аскорбінової кислоти киснем каталізують йони Cu^{2+} , які визначають титруванням розчином ЕДТА або іншими інгібіторами (останні зв'язують Cu^{2+} у каталітично неактивний комплекс). Цими методами можна визначати йони металів з більш високою чутливістю, ніж, наприклад, комплексометрично.

Кінетичні методи аналізу використовують для визначення слідових кількостей речовин (в тому числі більше 40 елементів), а також для дослідження будови хімічних сполук. Кінетичні методи широко застосовують під час аналізу води, повітря, реактивів та речовин високого ступеня очищення (наприклад, визначення домішок катіонів, органічних лігандів у неорганічних солях, відхилень від стехіометрії складу сполук, для експресного контролю технології очищення речовин), під час виконання клінічних аналізів та біологічних досліджень, а також для вирішення задач фармацевтичного (наприклад, при здійсненні контролю чистоти й оцінки стабільності лікарських препаратів) та хіміко-токсикологічного аналізів (наприклад, при виявленні сильнодіючих та отруйних речовин або встановленні їх структури), для контролю корозійної стійкості апаратури тощо.

Каталітичні кінетичні методи аналізу корисні також під час вивчення механізмів реакцій та утворення інтермедіатів. Приклад – спостереження *спектрофотометрично* за відносно швидкою

реакцією, цікавої з точки зору фармакокінетики, – кислотного гідролізу пеніциліну. Таке похідне 6-амінопеніцилянтної кислоти, як калієва сіль 6-фенілацетиламінопеніцилянтної кислоти, піддається гідролізу під дією шлункового соку. Утворюються неактивні продукти пеніцилоїнатна кислота (I, $\lambda_{\max} = 322$ нм) (вона відповідальна за появу алергічних реакцій на пеніцилін); пеніцилінова кислота (II, $\lambda_{\max} = 240$ нм); пенамальдинова кислота (III, $\lambda_{\max} = 240$ та 290 нм) та інші продукти (IV, $\lambda_{\max} = 240$ нм). За допомогою контролю одночасно при різних довжинах хвиль можна ідентифікувати усі ці речовини і визначати їх вміст у суміші (зазвичай 33 % II, 5,8 % III і 61 % IV – в результаті швидкого розкладання бензилпеніциліну до I, а відтак перетворення останнього у II). А під час визначення хрому в різноманітних водах за допомогою хемілюмінесцентної реакції між люмінолом і гідроген пероксидом виявляється лише Cr (III), а не Cr (VI).

Потенціометричне детектування зазвичай поєднують з методом фіксованої концентрації, тобто вимірюють час, за який потенціал змінюється від одного заданого значення до іншого. Особливо часто у потенціометричних методиках використовують йонселективні електроди. Вони достатньо чутливі до зміни концентрації та зручні для дослідження механізму реакції. Типовим прикладом є застосування йодид-селективного електроду для контролю за індикаторною реакцією пербромату з йодидом, індукованої Fe (II). Автоматично вимірюється час, необхідний для зміни потенціалу на 10 мВ. Застосування як активатора 1,10-фенантроліну дозволяє визначати 4–40 нг феруму ($2 \cdot 10^{-8}$ – $2 \cdot 10^{-7}$), а також слідові кількості ЕДТА та інших комплексонів, які інгібують реакцію.

Майже всі методики визначення мікроелемента йоду, які застосовують у біохімічних і клінічних лабораторіях, здійснюють кінетичним методом аналізу, а саме *методом фіксованого часу у спектрофотометричному варіанті* за каталітичною реакцією між Se (IV) і As (III) в присутності йодид-йонів (реакція Сендела-Кольтгофа).

Для одночасного визначення тіаміну і рибофлавіну у полівітамінних препаратах використано *флуориметричні* вимірювання за допомогою багатоканальної системи при двох хвилях, застосовуючи діодну матрицю та комп'ютер.

Основними тенденціями розвитку сучасних кінетичних методів аналізу є застосування нових високочутливих та вибіркових індикаторних реакцій (зокрема, хемілюмінесцентних і/або за участю ферментів) та специфічних “організованих” середовищ, створення уніфікованих аналітичних систем з високим ступенем технологічної досконалості за рахунок використання спектроскопічних, хемілюмінесцентних, електрохімічних (особливо на основі ЙСЕ) детекторів, а також високошвидкісних пристроїв реєстрації та мікропроцесорів, які дозволяють частково або повністю автоматизувати аналіз.

Калій перманганат як сильний окисник широко використовують в аналітичних методиках під час кінетичного визначення багатьох сполук [4–13]. Під час реакції валентність Мангану змінюється. Гептавалентний манган у лужному середовищі відновлюється в манган (VI) зеленого кольору, в той час як у нейтральному чи кислому середовищі перманганат-йон відновлюється до безколірного Mn(II). Таку поведінку перманганату покладено в основу розробки кінетичного спектрофотометричного методу. Спектр світлобірання свідчить про наявність смуги з максимумом близько 500 нм. У присутності препарату, який визначають, з'являється новий продукт – манганат-йон – з максимумом вбирання світла при 600–625 нм. Оптимізовано умови та розроблено методики кількісного визначення широкого кола лікарських засобів за швидкістю утворення манганату в індикаторній реакції перманганату з аналітом. Як приклад, зображено кінетичну спектрофотометричну методику визначення норфлоксацину з лужним розчином калій перманганату. За реакцією слідкують спектрофотометрично, реєструючи зміну світлопоглинання при 603 нм. Для обробки результатів використовували метод тангенсів та фіксованого часу (час 3 хв). Градувальні графіки лінійні в межах концентрацій 2,0–20 мкг/мл і 1,0–20 мкг/мл відповідно. Результати валідовано належним чином, середнє значення добре узгоджується з таким, одержаним незалежним методом [4].

Розроблено просту та чутливу методику кінетичного визначення оксамніхину в лікарських формах і біологічних рідинах, яка ґрунтується на реакції окиснення препарату лужним розчином перманганату при кімнатній температурі методом фіксованого часу за 20 хв. Світлопоглинання забарвленого манганату вимірювали при 610 нм. Одночасно фіксували зменшення світлопоглинання перманганату в альтернативній методиці при 525 нм. Використовували метод фіксованої концентрації, сталої початкової швидкості та фіксованого часу. Останній спосіб давав більш

варіабельні результати. Абсорбційні концентраційні залежності в інтервалі 0,5–4 мкг/мл були лінійні. Обидві перші методики з успіхом використано для аналізу готових лікарських препаратів, результати добре погоджували з такими, одержаними за офіційними методиками. Метод фіксованого часу за 20 хв був використаний під час аналізу людської сечі та плазми з результатами $100,94 \pm 0,57 \%$ і $98,07 \pm 0,88 \%$ при 610 нм, а також $97,51 \pm 1,27 \%$ і $95,69 \pm 1,23 \%$ при 525 нм відповідно [5].

Опрацьовано прості у виконанні та достатньо чутливі методики кількісного визначення восьми цефалоспоринових антибіотичних препаратів, а саме: Цефотаксиму, Цефепірину, Цефрадину дигідрату, Цефалексину моногідрату, Цефтазидиму пентагідрату, Цефазоліну, Цефтриаксону та Цефуросиму, засновані на окисненні їх калій перманганатом у лузі (рис. 1). Швидкість реакції контролювали спектрофотометрично за світлопоглинанням утвореного манганату при 610 нм. Для одержання градувальних графіків використано методи початкової швидкості та фіксованого часу (3 хв), які зберегли лінійний характер в інтервалі концентрацій 5–15 мкг/мл і 5–25 мкг/мл відповідно. Порівняння статистично оброблених результатів із результатами, одержаними за офіційними методиками, засвідчили їх добру узгодженість та правильність. Запропоновані методики дозволяють уникнути можливого заважаючого впливу інших інгредієнтів, не вимагають операції екстракції продукту і можуть бути з успіхом застосовані в лабораторіях з контролю якості лікарських препаратів [6].

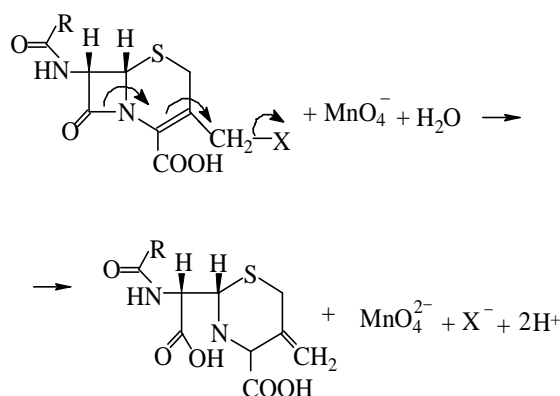


Рис. 1. Механізм окиснення Цефалоспоринів калій перманганатом у лужному середовищі на підставі літературних даних.

Дві прості та чутливі методики запропоновано для кількісного визначення рибавіріну у субстанції та лікарських препаратах, використовуючи калій перманганат як окисник. Вони засновані на дослідженні кінетики реакції окиснення препарату методом фіксованого часу, вимірюючи світлопоглинання утвореного манганат-йону при 610 нм за 20 хв та зменшення світлопоглинання калій перманганату через 30 хв відповідно. Концентраційні залежності були лінійні в межах 3–15 мкг/мл, межа виявлення (LD) 0,028 мкг/мл та 0,229 мкг/мл для другої методики відповідно. Опрацьовані методики успішно використано під час здійснення аналізу готових лікарських форм: середні значення становили $100,15 \pm 1,34 \%$, $100,06 \pm 0,86 \%$ відповідно. Порівняння одержаних результатів з результатами офіційних методик засвідчили їх правильність [7].

Описано дві чутливі кінетичні методики визначення дозулепіну гідрохлориду, які полягають у вимірюванні світлопоглинання манганат-йонів, утворених під час реакції препарату з перманганатом у лужному середовищі при 610 нм при кімнатній температурі через 25 хв або реєстрації поглинання світла продуктом реакції між дозулепіном та 4-хлор-7-нітробензофуразаном, утвореним в присутності 0,1 моль/л калій гідрокарбонату при 470 нм через 60 хв. За оптимальних умов концентраційні залежності зберігали лінійний характер у межах 4–24 і 50–250 мкг/мл, одержані результати становили $99,33 \pm 0,42 \%$ і $99,88 \pm 0,53 \%$ відповідно. Розроблені методики успішно використано для аналізу порошку та капсул дозулепіну гідрохлориду. Результати аналізу узгоджували з результатами, отриманими методом неводного титрування за методиками рекомендованими Фармакопеею Великобританії. Методики були валідовані згідно з вимогами Фармакопеї Сполучених Штатів Америки. Крім того, одержано результати, які дозволяють надати перевагу методу фіксованого часу під час виконання аналізу [8].

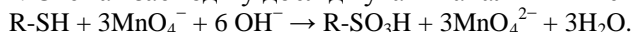
Зображено нові прості та чутливі методики кінетичного спектрофотометричного визначення Нізатидину та Ранітидину, які передбачають здійснення реакцій з лужним розчином калій перманганату з

утворенням зелених манганат йонів з максимумом при 610 нм, за яким і контролюють швидкість аналітичної реакції спектрофотометрично. Градувальні графіки лінійні в інтервалі концентрацій 0,8–4,0 мкг/мл, відносне стандартне відхилення середнього *RSD* становить 1,80 % та 1,53 % для Нізатидину і Ранітидину відповідно. Метод використано під час аналізу готових лікарських форм препаратів та постульованих схем механізму індикаторних реакцій [9].

Описано нову кінетичну методику кількісного визначення у спектрофотометричному варіанті Силімарину, яка ґрунтується на реакції окиснення препарату калій перманганатом при рН 7. Швидкість реакції оцінювали за зменшенням світлопоглинання реагента при 530 нм. Градувальний графік лінійний у межах концентрацій 18–50 мкг/мл. Опрацьований метод з успіхом використано для визначення силімарину в готових лікарських формах. Порівняння одержаних результатів з такими, одержаними референтним методом, засвідчили їх хорошу узгодженість [10].

Розроблено чотири кінетичні спектрофотометричні методики (I–IV) для кількісного визначення тримезатидину дигідрохлориду. Перша методика заснована на реакції окиснення препарату перманганатом у лужному середовищі з утворенням зеленого манганату. Друга методика ґрунтується на утворенні забарвленого продукту конденсації тримезатидину з 4-хлор-7-нітробензофуразаном. Третя методика передбачає одержання помаранчевого продукту взаємодії між тримезатидином та 1,2-нафтохінон-4-сульфонатом. Четверта заснована на утворенні фіолетового комплексу з перенесенням заряду між тримезатидином основою та *n*-хлоранілом. Швидкість реакцій реєстрували шляхом вимірювання зростання світлопоглинання при 610, 475, 485 та 560 нм для реакцій з перманганатом, 4-хлор-7-нітробензофуразаном, 1,2-нафтохінон-4-сульфонатом та *n*-хлоранілом відповідно. Оптимізовано умови, встановлено стехіометрію та запропоновано схеми перебігу реакцій. Використовували методи початкової швидкості та фіксованого часу для одержання градувальних графіків на тримезатидин. Межі виявлення становили 0,2–2,5 мкг/мл. Опрацьовані методики успішно використано для кількісного визначення тримезатидину дигідрохлориду в лікарських препаратах. Методики були валідовані, а одержані результати добре узгоджувалися з результатами референтного методу [11].

Розроблено простий та чутливий кінетичний метод фіксованого часу для кількісного визначення карбоцистеїну та пеніциламіну в порошках та їх лікарських формах з використанням як окисника калій перманганату в лужному середовищі при кімнатній температурі. Вимірювали світлопоглинання манганат-йонів при 610 нм. Схема взаємодії у досліджуваній аналітичній системі така:



Межі виявлення карбоцистеїну та пеніциламіну становили 0,14–0,21 мг/мл відповідно. Запропоновані методики простіші у виконанні, чутливіші, швидші та з низькими витратами, порівняно з офіційними, їх успішно використали під час контролю якості дозованих лікарських препаратів. Більше того, вони не вимагають здійснення процедур, передбачених у хроматографічних методиках [12].

Описано дві прості і чутливі кінетичні методики кількісного визначення трамадолу гідрохлориду. Перша ґрунтується на вимірюванні швидкості реакції окиснення перманганатом препарату в лужному середовищі при кімнатній температурі за 20 хв, реєструючи світлопоглинання утвореного манганату при 610 нм. Інша – заснована на реакції трамадолу гідрохлориду з 4-хлор-7-нітробензофуразану в присутності 0,1 моль/л натрій гідроген карбонату. Спектрофотометричні вимірювання виконували при 467 нм через 25 хв термостатування реакційної суміші при 90 ± 1 °С. Градувальні залежності лінійні в межах 5–25 та 50–250 мкг/мл відповідно для першого та другого методів. Розроблені методики використано під час кількісного визначення трамадолу в капсулах та розчинах для ін'єкцій. Більш придатним для аналізу виявився метод фіксованого часу [13].

Запропоновано дві відносно прості методики кінетичного визначення кофеїну методом фіксованого часу та постійної концентрації з використанням $3,2 \cdot 10^{-3}$ моль/л розчину церію (IV) та $8,0 \cdot 10^{-2}$ моль/л сульфатної кислоти. Світлопоглинання вимірювали при 405 нм; у способі фіксованого часу – за 350 с. Градувальні залежності виглядали так: $A = (2,31 - 3,55) \cdot 10^{-3} C$ та $1/t = -1,25 \cdot 10^{-3} + 2,48 \cdot 10^{-5} C$. Одержані результати добре узгоджувалися з такими ж, одержаними за фармакопесю Великобританії [14].

Показано можливість простого кінетичного спектрофотометричного визначення Цефалексину та Тримезоприму, що ґрунтуються на різній швидкості окиснення цих сполук з жовтим амоній церій (IV) сульфатом в кислому середовищі з утворенням безбарвного церій (III) сульфату в лікарських препаратах та сечі. Одержані результати порівнювали з такими ж, одержаними за допомогою ВЕРХ [15].

Виявлено простий та чутливий кінетичний метод кількісного визначення етамсилату в лікарських препаратах, який ґрунтується на взаємодії етамсилату з 3-метил-2-бензотіазолінонгідрозон

гідрохлориду в присутності амоній церій (IV) сульфату при кімнатній температурі за 20 хв. Світлопоглинання вимірювали при 514 нм. Градувальна залежність лінійна в межах 4–30 мкг/мл. Межа виявлення – 0,267 мкг/мл ($9,110 \cdot 10^{-6}$ М), нижня межа концентрацій – 0,808 мкг/мл. Розроблений метод використано для кількісного визначення препарату в лікарських формах, одержані результати добре узгоджуються з результатами референтного методу. Крім того, методики застосовано для визначення вмісту етамсилату в плазмі на рівні терапевтичних концентрацій [16].

Наведено результати порівняльного вивчення двох кінетико-спектрофотометричних методик кількісного визначення аскорбінової кислоти та *L*-цистеїну за реакцією з надлишком феруму (III) в присутності 1,10-фенантроліну. Контроль за швидкістю реакцій здійснюють за світлопоглинанням кольорового продукту реакції, комплексу $\text{Fe}(\text{phen})_3^{2+}$ з максимумом при 510 нм. Першу методику засновано на вимірюванні швидкості реакцій за двома точками кінетичної кривої, другу – на різниці швидкостей реакцій окиснення аскорбінової кислоти та *L*-цистеїну надлишком феруму (III) за різних значень рН середовища. З'ясовано, що взаємодія *L*-цистеїну з ферумом (III) є простою реакцією першого порядку, в той час як окиснення аскорбінової кислоти відбувається двостадійно. Показано, що обидва аналіти можна визначати в інтервалі 0,5–5,0 ppm із задовільною точністю. Опрацьовані методики успішно використали для аналізу модельних сумішей та реальних зразків. Відносні помилки визначення *L*-цистеїну та аскорбінової кислоти двома згаданими вище методами становили 5,15, 5,12 та 5,18, 11,98 % відповідно [18].

Опрацьовано відносно чутливі та прості методики кількісного визначення амлодипіну бесилату та нефідипіну в субстанціях та дозованих лікарських препаратах, які ґрунтуються на реакції відновлення ними солі феруму (III), а відтак на визначенні утворених йонів феруму (II) за реакцією з калій гексаціанофератом (III) у вигляді Пруської блакиті. Для побудови градувальних графіків використовували кінетичні методи початкової швидкості та фіксованого часу, які зберігали лінійний характер в інтервалі концентрацій 1,0–20,0 мкг/мл та 3,0–19,0 мкг/мл для амлодипіну бесилату та нефідипіну, межі виявлення становили 0,10 мкг/мл та 0,19 мкг/мл відповідно. Відносні помилки визначення трьох різних вмістів препаратів при семиразовому виконанні аналізу не перевищують 1,6 % ($RSD \leq 4\%$) і свідчать про достатньо високу точність опрацьованих методик аналізу. Останні успішно використали для аналізу готових лікарських препаратів [19].

На аналогічній аналітичній реакції запропоновано просту та чутливу методику кінетико-спектрофотометричного визначення каптоприлу: швидкість реакції реєстрували при 730 нм за оптимальних концентрацій $1,23 \cdot 10^{-3}$ моль/л FeCl_3 та $3,04 \cdot 10^{-4}$ моль/л калій гексаціаноферату (III). Під час побудови градувального графіку використовували диференціальний метод початкової швидкості, який був лінійним у межах концентрацій $4,60 \cdot 10^{-6}$ – $5,06 \cdot 10^{-5}$ моль/л каптоприлу; межа виявлення становила $1,99 \cdot 10^{-7}$ моль/л. Методика провалідована; результати аналізу коливаються в межах від 99,8 до 101,4 % з $RSD < 2\%$. Допоміжні речовини готових лікарських форм, які традиційно використовують, не заважали аналізу. Показано можливість успішного застосування опрацьованої методики під час аналізу субстанції та дозованих лікарських форм препарату [20].

Суміш антиоксидантів бутилоксіанізолу, бутилокситолуену та пропілгалату проаналізували кінетико-спектрофотометричним методом, що ґрунтується на різній швидкості взаємодії їх з Fe (III). Утворені йони Fe (II) визначали у вигляді комплексу з 2,2'-дипіридиллом при 510 нм у часі. У порівняльному аспекті розглянуто декілька хемометричних процедур обробки одержаних результатів вимірювань та показано можливість здійснення аналізу деяких комерційно доступних продуктів на вміст згаданих антиоксидантів [21].

Як індикаторну реакцію для каталітичного визначення алкільних похідних фентіазину (аміназину, дипразину, промазину, метеразину, тизерцину та трифтазину) запропоновано реакцію окиснення *n*-фетидину ванадатом. Оптимізовано умови кінетичного визначення. Показано можливість кількісного визначення шести алкільних похідних фентіазину в інтервалі концентрацій 3–100 нг/мл. Межа виявлення (3–10 нг/мл) залежить від природи алкільного замісника в молекулі похідного фентіазину, RSD – в межах 3–20 % [22].

Опрацьовано кінетико-спектрофотометричні методики кількісного визначення цефоперазону, цефазоліну та цефтріаксону в порошках балк та лікарських формах, які основані на їх реакціях з окисненою формою кверцетину. Кінетичне визначення здійснюють методом фіксованого часу за 30 хв при кімнатній температурі: реєструють зменшення світлопоглинання розчину реагента після

додавання цефалоспоринолу при 510 нм. Концентраційна залежність ΔA зберігала лінійність у межах 80–400 мкг/мл для всіх досліджуваних цефалоспоринолів. Виявлено, що найкращі результати одержують під час кінетичного визначення згаданих цефалоспоринолів за градувальним графіком, побудованим за даними методу фіксованого часу. Розроблені методики успішно використані під час аналізу лікарських препаратів, результати добре узгоджуються з даними, отриманими за іншими відомими методиками [23].

Використання реакцій гідролізу

Розроблено кінетико-спектрофотометричні методики кількісного визначення ампіциліну та амоксициліну в лікарських препаратах, які полягають у здійсненні кислотного гідролізу препаратів у середовищі 1,0 моль/л HCl на киплячому водяному нагрівнику, нейтралізації кислоти 1,0 моль/л NaOH, а відтак проведенні реакції з PdCl₂ в середовищі Britton-Robinson буферного розчину при рН 6,0 (рис. 2). Світлопоглинання утвореного комплексу пеніциламіну з PdCl₂ вимірювали при 335 нм. Методики провалідовані в межах концентрацій 8–40 мкг/мл та 10–40 мкг/мл з межею виявлення 0,73 мкг/мл і 0,76 мкг/мл для ампіциліну та амоксициліну відповідно. Показано, що метод фіксованого часу мав переваги порівняно зі способом виконання аналізу методом фіксованої концентрації. Одержані результати аналізу готових лікарських препаратів добре узгоджували з даними, отриманими за офіційними методиками USP [24].

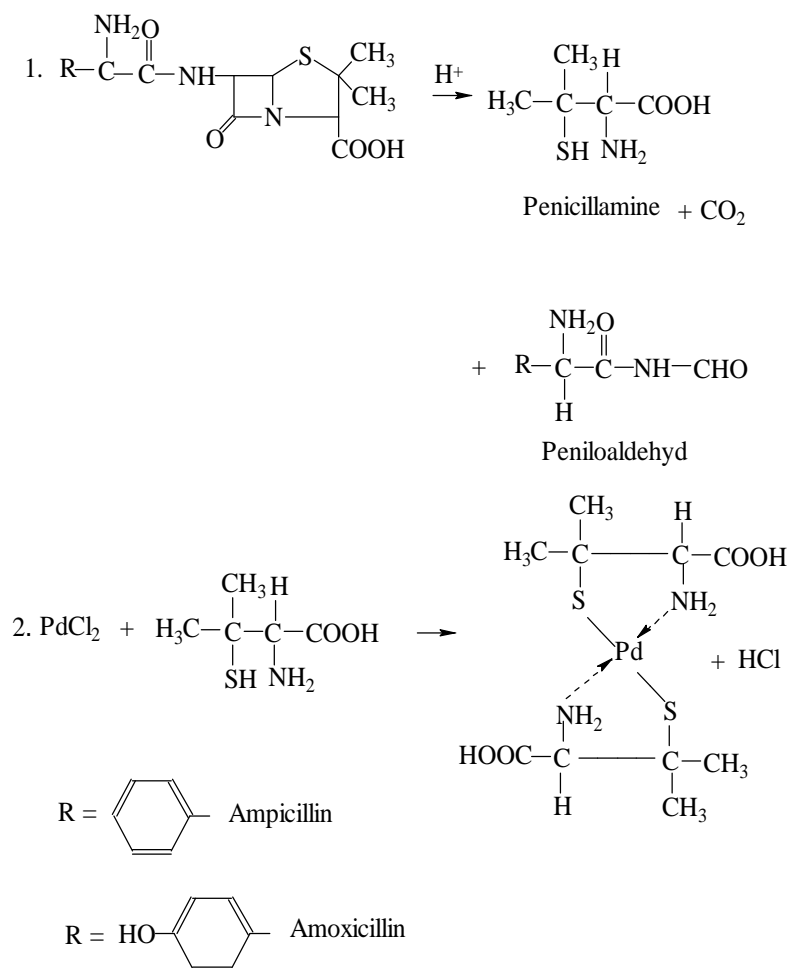


Рис. 2. Схеми реакцій гідролізу пеніцилінів та взаємодії продукту гідролізу з паладій (II) хлоридом

Опрацьовано методику кінетичного визначення цефалексину методом фіксованого часу за індикаторною реакцією з $5 \cdot 10^{-3}$ М Со (II) нітратом у $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л розчині натрій гідроксиді при 60 °С з наступним вимірюванням світлопоглинання при 310 нм. Вміст цефалексину визначали методом градувального графіка, побудованого за даними світлопоглинання розчину через 6 хв. Метод фіксованої концентрації та початкових швидкостей давав менш точні результати. Отримані результати аналізу за розробленою методикою порівнювали з результатами, які отримано за рекомендованою методикою Фармакопеї Великобританії [25].

Запропоновано методики кінетичного флуориметричного визначення семи цефалоспоринових антибіотиків, а саме натрієвих солей цефотаксиму, цефепірину, цефрадину, цефалексину моногідрату, цефазоліну, цефтріаксону та цефуроксиму, які основані на їх деградації за заздалегідь оптимізованих умов у лужному середовищі з утворенням флуоресціюючих продуктів. Швидкість реакції реєстрували за зміною інтенсивності флуоресценції при певній довжині хвилі люмінесценції. Градувальні графіки, одержані методом початкової швидкості та фіксованого часу, зберігали лінійний характер у межах 0,2–1,2 мкг/мл та 0,2–2,2 мкг/мл відповідно. Методики валідовані та успішно використані для аналізу готових лікарських препаратів досліджуваних цефалоспоринів. Розроблено високочутливі методики кінетичного визначення випробуваних цефалоспоринів у плазмі крові. Порівняння результатів аналізу з результатами референтного методу свідчить про вдале узгодження знайдених середніх вмістів та незначну різницю в точності [26].

Розроблено нові кінетико-спектрофотометричні методики кількісного визначення ацетилсаліцилової кислоти (ASA) в лікарських формах. Як правило, відомі методики кількісного визначення ASA не є прямими і вимагають попереднього здійснення її лужного гідролізу з утворенням аніонів саліцилової кислоти. Запропонований спосіб здійснення аналізу ґрунтується на лігандно-обмінній реакції з комплексом Co (II) з 1-нітросо-2-нафтолом, кінетику контролювали за зменшенням світлопоглинання комплексу Co (II) з 1-нітросо-2-нафтолом за оптимальних умов у лужному середовищі при 410 нм. Градувальний графік, одержаний за даними кінетичного методу початкової швидкості, зберігав лінійний характер в інтервалі концентрацій 0,72–9,00 мкг/мл. Межа виявлення, розрахована за 3S критерієм, становила 0,35 мкг/мл. Методика дозволяє селективно визначати ASA в присутності інших супутніх інгредієнтів, амінокислот, наявних у плазмі крові йонів металів. Запропонований кінетико-спектрофотометричний метод успішно використали для аналізу готових лікарських форм та різноманітних зразків, що містили ASA. Зазначено, що його перевагами є простота й експресність [27].

Опрацьовано просту та достатньо точну методику кінетико-спектрофотометричного визначення ASA за реакцією окиснення її калій перманганатом у сильно кислому середовищі ($[H^+] = 0,93$ моль/л). Вона не вимагає здійснення попередніх процедур розділення чи перетворення ASA в саліцилову кислоту і полягає у вимірюванні світлопоглинання розчину при 520 нм. Графік залежності в координатах ефективної константи швидкості реакції псевдопершого порядку від концентрації ASA зберігав лінійність у широких межах; рівняння лінії регресії таке: $k_{obs} = (0,7 \pm 2,8) \cdot 10^{-6} + (4,11 \pm 0,06) \cdot 10^{-2} \cdot [ASA]$ ($r = 0,9989$), $s = 6 \cdot 10^{-5} s^{-1}$. Межу виявлення розраховано за 3S критерієм, 0,02 мкг/мл. Під час визначення $3,35 \cdot 10^{-2}$ г/л ASA RSD = 0,5 % ($n = 7$). Більшість катіонів важких металів та органічних сполук не впливали на результати аналізу навіть у 200-разовому надлишку стосовно ASA (відносна помилка ≤ 3 %). Встановлено, що аскорбінова кислота, тіамін, піридоксин, цистеїн та метіонін заважають кількісному визначенню ASA [28].

Запропоновано методику кінетичного визначення ASA за її інгібіторною дією на реакцію каталітичного розкладу гідроген пероксиду в присутності каталази. Швидкість реакції вимірювали за допомогою кисневого сенсору – електроду Кларка. Визначено параметри рівняння Міхаеліса-Ментен за графічними даними в координатах Lineweaver-Burk за відсутності та в присутності ASA. Графік, побудований в координатах константи швидкості реакції першого порядку від концентрації ASA, зберігав лінійність у межах $(2,99-19,98) \cdot 10^{-4}$ моль/л, розрахована межа виявлення становила $4,12 \cdot 10^{-5}$ моль/л ASA з RSD $2,1 \cdot 10^{-5}$ моль/л. Під час аналізу пігулок опрацьованим кінетичним методом вміст ASA коливався в межах від 98,4 % до 101,4 % [29].

Можливості та переваги застосування спряжених реакцій у каталітичних методах кількісного визначення широкого кола лікарських препаратів переконливо показано на прикладі каталізованих гідроген пероксидом або пероксикислотами реакцій лужного гідролізу активованих естерів та β -лактамових антибіотиків – так званих реакцій пергідролізу за участю аніону гідроген пероксиду або перкарбоксилатних іонів у лужному середовищі [31–35]. Опрацьовано низку методик кінетико-спектрофотометричного визначення ASA [36–37], ацетилхоліну [38], зопіклону [39–40], дитиліну (сукцинілхолін йодиду) [41] в готових лікарських препаратах, які ґрунтуються на використанні двох спряжених реакцій – пергідролізу і пероксикислотного окиснення індикаторних речовин *n*-фенетидину та 3,3',5,5'-тетраметилбензидину. ASA, ацетилхолін, дитилін і зопіклон піддавалися гідролізу в слабо лужному середовищі в присутності гідроген пероксиду, а відтак утворену пероксикарбонову кислоту визначали методом тангенсів чи методом фіксованого часу. Схеми реакцій пергідролізу та пероксикислотного окиснення *n*-фенетидину та 3,3',5,5'-тетраметилбензидину наведено на рисунках 3 і 4.

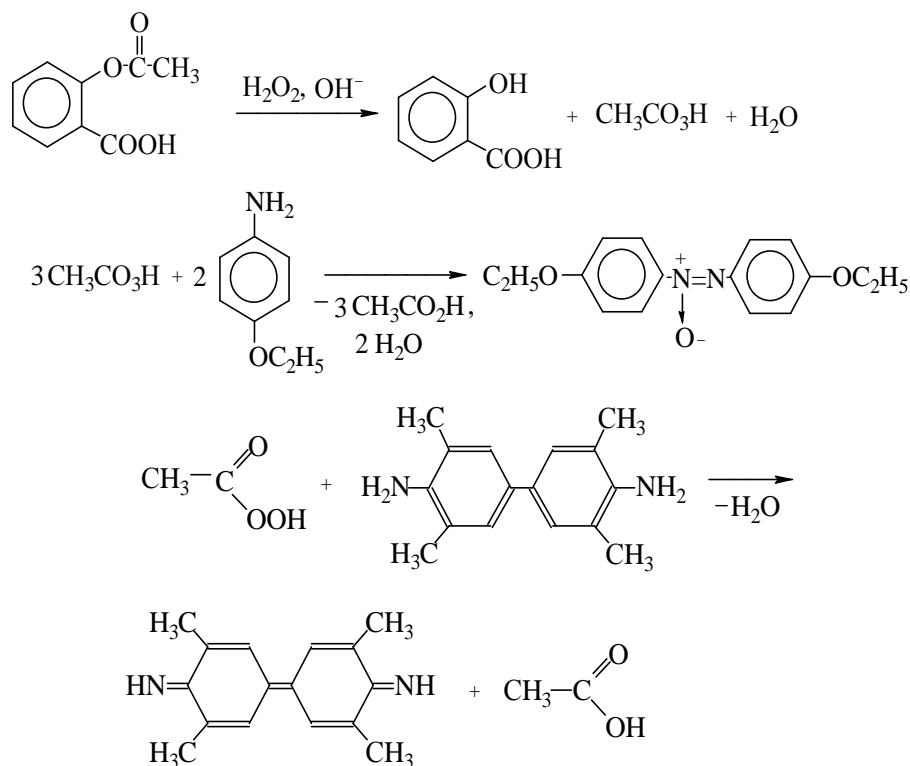


Рис. 3. Схеми спряжених реакцій пергідролізу та пероксикислотного окиснення індикаторних речовин *n*-фенетидину та 3,3',5,5'-тетраметилбензидину

Дві молекули 3,3',5,5'-тетраметилдифенохінондіміно конденсуються з утворенням жовтого азобарвника – біс-(2,5,7,10-тетраметил-6-аміно)-азодифеніл:

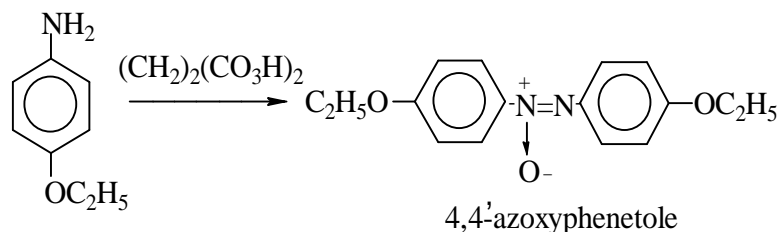
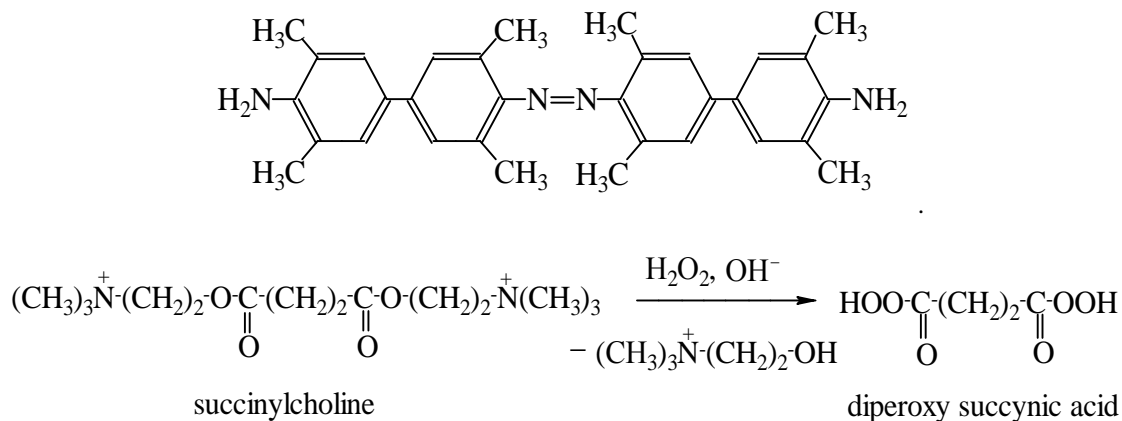


Рис. 4. Схеми спряжених реакцій пергідролізу сукцинілхоліну йодиду та пероксикислотного окиснення *n*-фенетидину

Розроблено просту та достатньо вибіркочуву кінетико-спектрофотометричну методику кількісного визначення ампіциліну та оксациліну в комбінованому двокомпонентному препараті “Ампіокс” (ампіциліну тригідрату 0,125 г і оксациліну калієвої солі 0,125 г). Вона полягає в окисненні обох антибіотиків дипероксиадипіновою кислотою впродовж 1 хв до відповідних S-оксидів, а відтак здійсненні лужного гідролізу їх β -лактамових угруповань при кімнатній температурі. Швидкість реакції вимірювали за світлопоглинанням продукту реакції при 305 нм і характеризували величиною тангенсу кута прямолінійної ділянки кінетичної кривої. Для обох досліджуваних антибіотиків градувальні залежності зберігали лінійний вигляд у межах концентрацій 1–50 мкг/мл. Комбінація результатів йодометричного визначення (методом оберненого титрування надлишку диперокси-кислоти в реакції S-оксидації в незалежному досліді) сумарного вмісту компонентів у суміші з результатами кінетичного визначення швидко реагуючого компонента (ампіциліну) дозволяє розрахувати вміст пеніцилінів у бінарній суміші. Межі визначення для ампіциліну та оксациліну становили 1,0 мкг/мл та 2,0 мкг/мл відповідно. Правильність результатів аналізу підтверджено методом “уведено-знайдено” шляхом здійснення аналізу заздалегідь виготовленої суміші (модель препарату “Ампіокс”) з точно відомим вмістом компонентів. Під час аналізу лікарського засобу $RSD \leq 3,3$ %. Одержані результати визначення середнього вмісту компонентів у препараті добре узгоджувалися з даними, отриманими за рекомендованою спектрофотометричною методикою [42].

Показано можливість застосування спряжених реакцій S-окиснення та пергідролізу β -лактамових антибіотиків за участю пероксомоносульфату для кінетико-спектрофотометричного визначення натрій ампіциліну, ампіциліну тригідрату та оксациліну в межах 1–50 мкг/мл. Опрацьовано методики кількісного визначення зазначених антибіотиків у розчинах для ін’єкцій та пігулках (ампіциліну тригідрат) з $RSD \leq 2,1$ %. Вагомими їхніми перевагами є висока вибіркочувість та швидкість виконання аналізу. Результати аналізу препаратів добре узгоджувалися з такими ж, отриманими за чинними фармакопейними методиками ($\delta = -0,23 \dots -1,82$ %). Межа виявлення 0,3–0,5 мкг/мл [43–45]. Схему аналітичних реакцій S-окиснення та пергідролізу β -лактамових антибіотиків за участю пероксомоносульфату на прикладі ампіциліну представлено на рисунку 5.

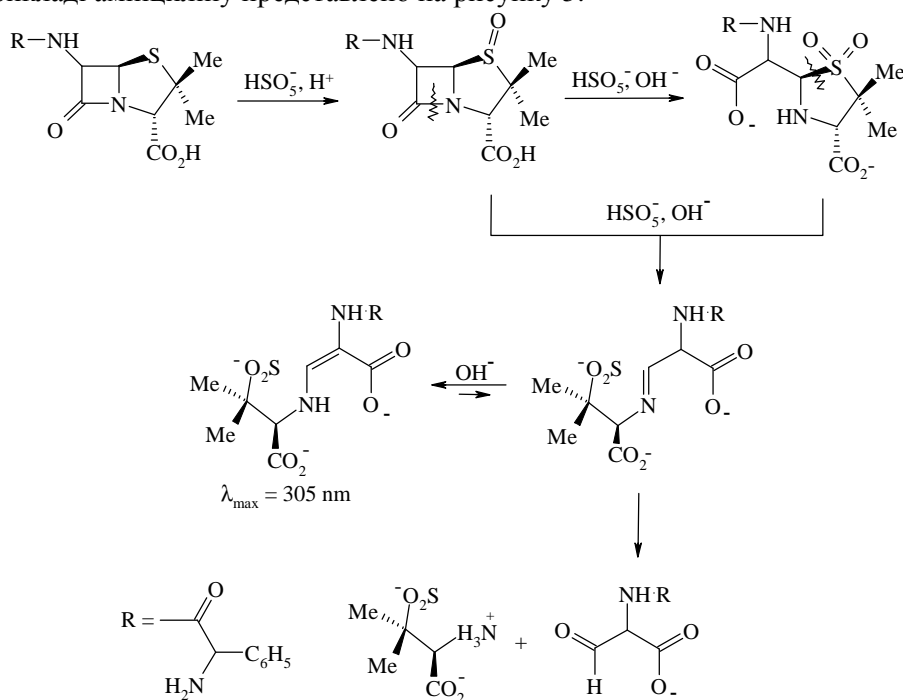


Рис. 5. Схема спряжених реакцій S-окиснення та пергідролізу ампіциліну за участю пероксомоносульфату

Розроблено методики та показано можливість кінетико-спектрофотометричного визначення цефалексину в субстанції “Пурилекс” (“DMS Anti-infectives Chemferm S.A.”, Іспанія) та гранулах для приготування суспензії для внутрішнього вживання “Цефалексин” 250 мг/5 мл виробництва “Хемофарм” (АД, Себія) за продуктом спряжених реакцій пероксокислотного S-окиснення та пергідролізу за участю пероксомоносульфату. Швидкість реакції реєстрували за зміною світлопогли-

нання продукту при 305 нм. Для побудови градувального графіку використовували метод тангенсів. Графік зберігав лінійний характер у межах концентрацій 1–16 мкг/мл ($r = 0,999$). Під час виконання аналізу методом стандарту в межах варіювання $R = 100,00$ – $104,48$ % цефалексину в субстанції $RSD = 2,00$ %, у гранулах для $R = 98,49$ – $103,77$ % цефалексину $RSD = 2,17$ % [46].

Використання реакцій із бромом і йодом

Описано кінетичну методику кількісного визначення альбендазолу в порошок та таблетках, яка заснована на реакціях бромовання вільним бромом. Опрацьований метод ґрунтується на лінійній залежності між концентрацією препарату (від 5 до 25 мкг/мл) і часом (c) реакції бромовання з використанням як індикаторної реакції знебарвлення метилового оранжевого. Розроблені методики характеризують високою репродуктивністю та правильністю результатів, що встановлено за розрахунками t - та F -критеріїв і результатами референтного методу порівняння [47].

Розроблено кінетичний спектрофотометричний метод кількісного визначення раміприлу в субстанції та лікарських формах, який ґрунтується на реакції карбоксильного кислотного угруповання з йодат-йодидним реактивом у водному середовищі при кімнатній температурі. Вимірювали зростання світлопоглинання при 352 нм залежно від часу перебігу реакції. Для побудови градувальних залежностей у межах 10,0–70,0 мкг/мл використовували кінетичний метод початкової швидкості (диференційний варіант) та метод фіксованого часу. Значення LD становило 0,02 мкг/мл та 0,15 мкг/мл відповідно. Опрацьовані методики провалідовані, та показано можливість здійснення аналізу капсул і таблеток препарату [48].

Аль-Монамі [49] запропонував потоково-ін'єкційну методику кінетико-спектрофотометричного визначення амоксициліну, цефалексину та цефрадину в лікарських препаратах, основаних на реакції продуктів гідролізу препаратів з вільним йодом у кислому середовищі. Контроль за швидкістю реакції здійснювали завдяки вимірюванню зменшення світлопоглинання при 460 нм залежно від часу.

Розроблено кінетико-спектрофотометричну (диференційний варіант) методику кількісного визначення ангіотензин-конвертуючого ензимного інгібітора каптоприлу в готовому лікарському препараті. Метод заснований на реєстрації швидкості вивільнення йоду при 350 нм в індикаторній реакції між каптоприлом та йодатом. Концентраційна залежність зберігає лінійний характер в інтервалі 10,0–60,0 мкг/мл. Одержані результати узгоджували з такими, отриманими за референтною процедурою, $RSD = 1,81$ і $4,48$ % [50].

Опрацьовано та провалідовано просту селективну кінетико-спектрофотометричну методику кількісного визначення норфлоксацину (NOR) в його лікарських препаратах, яка заснована на індикаторній реакції утворення кольорового N -вінілпіпазінозаміщеного бензохінонового похідного в результаті взаємодії монозаміщених піпазінілових груп NOR з 2,3,5,6-тетрахлор-1,4-бензохіноном в присутності ацетальдегіду. Вимірювання світлопоглинання здійснювали при 625 нм. Для одержання градувальних залежностей використовували методи початкової швидкості та фіксованого часу (за 5 хв). Вони зберігали лінійний характер у межах концентрацій NOR 20–150 та 10–180 мкг/мл з LD 8,4 і 3,2 мкг/мл відповідно зі згаданими методами. Опрацьовані методики були валідовані. Зазначено відсутність заважаючого впливу складника препаратів NOR тинідазолу на результати аналізу. Запропоновані методики успішно використали для аналізу готових лікарських препаратів NOR. Розмах коливання середнього становив $98,4$ – $100,4 \pm 0,52$ – $1,04$ %. Зазначено хорошу узгодженість з результатами референтних офіційних методик [51].

Моніторинг спряжених реакцій утворення азобарвників орто-, мета-, пара-амінобензойних кислот та орципреналіну з діазотованими сульфаніламидами покладено в основу аналізу трьох бінарних сумішей, а саме: орто-бензойна кислота/орципреналін, мета-бензойна кислота/пара-бензойна кислота, орто-бензойна кислота/мета-бензойна кислота. Спектри сумішей, які сканували з кроком 2 нм кожні 30 с впродовж 15 хв 9 бінарних сумішей використано для одержання калібрувальних залежностей в координатах концентрація–час–хвиля. Найкращі результати отримані на підставі опрацювання тривимірних даних [52].

Література

1. Crouch S. R. Kinetic determinations and some kinetic aspects of analytical chemistry / S. R. Crouch, T. F. Cullen, A. Scheeline, E. S. Kirkor // *Anal. Chem.* – 1998. – 70. – P. 53–106.
2. Pérez-Bendito D. Advances in drug analysis by kinetic methods / D. Pérez-Bendito, A. Gómez-Hens, M. Silva // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 1996. – 14. – P. 917–930.

3. Яцимирский К. Б. Кинетические методы анализа / К. Б. Яцимирский. – М. : Химия, 1967. – 200 с.
4. Rahman N. Kinetic spectrophotometric method for the determination of norfloxacin in pharmaceutical formulations / N. Rahman, Y. Ahmad, S. N. Hejaz Azmi // *Europ. J. Pharm. Biopharm.* – 2004. – 57. – P. 359–367.
5. A simple kinetic spectrophotometric method for the determination of oxamniquine in formulations and spiked biological fluids / M. Rizk, F. Belal, F. Ibrahim et al. // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2000. – 23. – P. 503–513.
6. Omar Mahmoud A. Kinetic Spectrophotometric Determination of Certain Cephalosporins in Pharmaceutical Formulations / A. Mahmoud Omar, A. Osama Abdelmageed, Z. Tamer Attia // *Int. J. Anal. Chem.* – 2009. – Article ID 596379, 12 pages, 2009. doi:10.1155/2009/596379.
7. El-Brashy A. M. Kinetic Determination of Ribavirin in Drug Formulations / A. M. El-Brashy, Z. A. Sheribah, M. K. S. El-Din, R. M. El-Gamal // *Intern. J. Biomed. Sci.* – 2007. – 3. – P. 65–71.
8. Taha E. A. Kinetic spectrophotometric methods for the determination of dothiepin hydrochloride in bulk and in drug formulation / E. A. Taha // *Anal Bioanal Chem.* – 2003. – 376. – P. 1131–1136.
9. Hassan E. M. Kinetic spectrophotometric determination of nizatidine and ranitidine in pharmaceutical preparations / E. M. Hassan, F. Belal // *J. Pharm. Biomed. Analysis.* – 2002. – 27. – P. 31–38.
10. Rahman N. Kinetic spectrophotometric method for the determination of silymarin in pharmaceutical formulations using potassium permanganate as oxidant / N. Rahman, N. A. Khan, S. N. H. Azmi // *Pharmazie.* – 2004. – 59. – P. 112–116.
11. Darwish I. A. Kinetic spectrophotometric methods for determination of trimetazidine dihydrochloride / I. A. Darwish // *Anal. Chim. Acta.* – 2005. – 551. – P. 222–231
12. Walash M. I. Spectrophotometric and Kinetic Determination of Some Sulphur Containing Drugs in Bulk and Drug Formulations / M. I. Walash, A. M. El-Brashy, M. S. Metwally, A. A. Abdelal // *Bull. Korean Chem. Soc.* – 2004. – 25. – P. 517–524.
13. Abdellatef H. E. Kinetic spectrophotometric determination of tramadol hydrochloride in pharmaceutical formulation / H. E. Abdellatef // *J. Pharm. Biomed. Analysis.* – 2002. – 29. – P. 835–842.
14. Sultan S. M. Kinetic determination of caffeine in drug formulations / S. M. Sultan, A. M. Abdennabi // *Arabian J. Sci. Eng.* – 17. – P. 173–179.
15. Ni Y. N. Simultaneous kinetic spectrophotometric determination of cephalixin and trimethoprim in pharmaceutical preparation and human urine with the aid of chemometrics / Y. N. Ni, W. Q. Xiao // *Chinese Chem. Letters.* – 2008. – 19. – P. 981–984.
16. El-Enany N. Kinetic spectrophotometric determination of ethamsylate in dosage forms / N. El-Enany, F. Belal, M. Rizk // *J. AOAC Int.* – 2007. – 90. – P. 679–685.
17. Nia Y. Application of chemometrics methods for the simultaneous kinetic spectrophotometric determination of aminocarb and carbaryl in vegetable and water samples / Y. Nia, W. Xiaob, S. Kokotca // *J. Hazard. Mater.* – 2009. – 168. – P. 1239–1245.
18. Гасеми Я. Одновременное спектрофотометрическое определение аскорбиновой кислоты и L-цистеина в фармацевтических препаратах с использованием метода двух скоростей реакций и дифференциально-кинетического метода / Я. Гасеми, Ш. Найеби // *Химико-фармацевтический журнал.* – 2006. – 40, № 1. – С. 41–48.
19. Hemmateenejad B. A kinetic spectrophotometric method for determination of amlodipine and nifedipine in pharmaceutical preparations / B. Hemmateenejad, R. Miri, R. Kamali // *J. Iran. Chem. Soc.* – 2009. – 6. – P. 113–120.
20. Rahman N. A sensitive kinetic spectrophotometric method for the determination of captopril in bulk and dosage forms / N. Rahman, N. Anwar, M. Kashif, N. Hoda // *Acta Pharm.* – 2006. – 56. – P. 347–357.
21. Ni Y. Artificial neural networks and multivariate calibration for spectrophotometric differential kinetic determinations of food antioxidants / Y. Ni, C. Liu // *Anal. Chim. Acta.* – 1999. – 396. – P. 221–230.
22. Гайдук О. В. Новая каталитическая реакция для определения производных фенотиазина / О. В. Гайдук, Р. П. Панталер, А. Б. Бланк // *Журн. аналит. химии.* – 2004. – 59, № 7. – С. 768–772.
23. Saleh Gamal A. Kinetic spectrophotometric determination of certain cephalosporins using oxidized quercetin reagent / A. Saleh Gamal, R. El-Shaboury Salwa, A. Mohamed Fardous, H. Rageh Azza // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy.* – 2009. – 73. – P. 946–954.
24. Belal F. Kinetic spectrophotometric determination of ampicillin and amoxicillin in dosage forms / F. Belal, M. M. El-Kerdawy, S. M. El-Ashry, D. R. El-Wasseef // *IL Farmaco.* – 2000. – 55. – P. 680–686.
25. Alwarthan A. A. Kinetic determination of cephalixin in drug formulations / A. A. Alwarthan, H. A. Al-Lohedan // *Talanta.* – 1994. – 41. – P. 225–231.
26. Omar M. A. Kinetic spectrofluorimetric determination of certain cephalosporins in human plasma / M. A. Omar, O. H. Abdelmageed, T. Z. Attia // *Talanta.* – 2009. – 77. – P. 1394–1404.

27. Quantitative Analysis of Acetylsalicylic Acid in Commercial Pharmaceutical Formulations and Human Control Serum Using Kinetic Spectrophotometry / S. S. Mitić, G. Ž. Miletić, A. N. Pavlović et al. // *Acta. Chim. Slov.* – 2008. – № 55. – P. 508–515.
28. Copolovici L. Determination of Acetylsalicylic Acid from Drugs Using Kinetic Methods / L. Copolovici, S. Bungau, F. Dragan // *Revista Chimie.* – 2005. – 56. – 374–377.
29. Muresanu C. Kinetic method for acetylsalicylic acid determination based on its inhibitory effect upon the catalytic decomposition of H_2O_2 / C. Muresanu, L. Copolovici // *Anal. Bioanal. Chem.* – 2004. – 378. – P. 1868–1872.
30. Блажеєвський М. Є. Реакції пергідролізу та їх застосування в кінетичних методах визначення лікарських та біологічно активних речовин / М. Є. Блажеєвський // *Досягнення та перспективи розвитку фармацевтичної галузі України : матеріали VI Нац. з'їзду фармацевтів України, м. Харків, 28–30 верес. 2005 р.* – X., 2005. – С. 132–133.
31. Блажеєвський М. Є. Кінетичний метод визначення ацетилхоліну / М. Є. Блажеєвський // *Вісник фармації.* – 2002. – № 2. – С. 110–113.
32. Блажеєвський М. Є. Кінетичне визначення ацетилсаліцилової кислоти в лікарських формах / М. Є. Блажеєвський, Н. Ю. Бондаренко // *Досягнення та перспективи розвитку фармацевтичної галузі України : матеріали VI Нац. з'їзду фармацевтів України, Харків, 28–30 верес. 2005 р.* – X., 2005. – С. 134.
33. Блажеєвський М. Є. Кінетичний метод визначення зопіклону за реакцією пероксикислотного окиснення / М. Є. Блажеєвський, Н. Ю. Бондаренко // *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів : матеріали I Міжнар. наук.-практ. конф., Тернопіль, 6–7 квіт. 2006 р.* – Т., 2006. – С. 81–83.
34. Блажеєвський М. Є. Кінетичне визначення Дитиліну (Суксаметонію йодиду) за реакцією пергідролізу / М. Є. Блажеєвський // *Динаміка наукових досліджень : матеріали III Міжнар. наук.-практ. конф.* – Д., 2004. – Т. 69. – С. 5–6.
35. Тимченко В. О. Кількісне визначення ампіциліну в лікарських формах кінетичним методом за реакцією з пероксикапріновою кислотою / В. О. Тимченко, М. Є. Блажеєвський // *Тез. доп. наук. конф. мол. вч. та студ.* – X., 2000. – С. 57.
36. Блажеєвський М. Є. Кінетичне визначення ацетилсаліцилової кислоти в лікарських формах з використанням пероксикислотного окиснення / М. Є. Блажеєвський // *Фармац. журн.* – 2003. – № 4. – С. 65–72.
37. Блажеєвський М. Є. Кінетичне визначення ацетилсаліцилової кислоти в лікарських формах / М. Є. Блажеєвський, Н. Ю. Бондаренко // *Досягнення та перспективи розвитку фармацевтичної галузі України : матеріали VI Нац. з'їзду фармацевтів України, Харків, 28–30 верес. 2005 р.* – X., 2005. – С. 134.
38. Блажеєвський М. Є. Кінетичний метод визначення ацетилхоліну / М. Є. Блажеєвський // *Вісник фармації.* – 2002. – № 2. – С. 110–113.
39. Блажеєвський М. Є. Новий метод аналітичного визначення інкапаситантів за реакцією пероксикислотного окиснення / М. Є. Блажеєвський, Н. Ю. Бондаренко // *Стан і розвиток сухопутних військ на сучасному етапі. Проблеми розвитку озброєння та військової техніки: зб. доп. та повід. наук.-практ. конф., Харків, 23–24 листоп. 2005 р.* – X., 2006. – С. 94–97.
40. Бондаренко Н. Ю. Методика кількісного визначення зопіклону в таблетках кінетичним методом за індикаторною реакцією спряженого окиснення *n*-фенетидину гідроген пероксидом : інформ. лист. / Н. Ю. Бондаренко, М. Є. Блажеєвський. – К. : Укрмедпатентінформ МОЗ України, 2005. – № 218. – 3 с.
41. Блажеєвський М. Є. Кінетичне визначення Дитиліну (Суксаметонію йодиду) за реакцією пергідролізу / М. Є. Блажеєвський // *Динаміка наукових досліджень : матеріали III Міжнар. наук.-практ. конф.* – Д., 2004. – 69. – С. 5–6.
42. Блажеєвський М. Є. Кінетичне визначення пеніцилінів у лікарських формах за реакціями з пероксикарбонowymi кислотами / М. Є. Блажеєвський // *Фармац. журн.* – 2003. – № 5. – С. 66–78.
43. Блажеєвський М. Є. Кількісне визначення натрій ампіциліну у порошку для приготування розчину для ін'єкцій кінетичним методом за реакцією пергідролізу / М. Є. Блажеєвський, С. П. Карпова // *Вісник фармації.* – 2009. – № 3 (59). – С. 16–19.
44. Блажеєвський М. Є. Кількісне визначення ампіциліну тригідрату кінетичним методом / М. Є. Блажеєвський, С. П. Карпова // *Вісник фармації.* – 2010. – № 1 (61). – С. 23–26.
45. Блажеєвський М. Є. Кількісне визначення натрію оксациліну в порошку кінетичним методом / М. Є. Блажеєвський, С. П. Карпова // *Фармац. журнал.* – 2010. – № 3. – С. 64–69.
46. Блажеєвський М. Є. Кінетичне спектрофотометричне визначення цефалексину за продуктом реакцій пероксикислотного окиснення та пергідролізу / М. Є. Блажеєвський, Ю. Ю. Лабузова // *Вісник фармації.* – 2010. – 2 (62). – С. 30–33.
47. Basavaiah K. Kinetic and titrimetric determination of albendazole using bromate and methyl orange / K. Basavaiah, H. C. Prameela // *Indial J. Pharm. Sci.* – 2005. – 67. – P. 57–60.

48. Rahman N. Kinetic spectrophotometric method for the determination of ramipril in pharmaceutical formulations / N. Rahman, Y. Ahmad, S. N. Azmi // *AAPS Pharm. Sci. Tech.* – 2005. – 6. – P. 543–551.
49. Al-Momani I. F. Flow-injection spectrophotometric method for determination of amoxicillin, cephalixin, ampicillin, and cephadrine in pharmaceutical formulations / I. F. Al-Momani // *Anal. Lett.* – 2004. – 37. – P. 2099–2110.
50. Prior João A. V. Exploiting kinetic spectrophotometric determination of captopril, an angiotensin-converting enzyme inhibitor, in a multi-pumping flow system / A. V. Prior João, L. M. Santos João, L. F. C. Lima José // *Anal. Chim. Acta.* – 2007. – 600. – P. 183–187.
51. Darwish I. A. Novel selective kinetic spectrophotometric method for determination of norfloxacin in its pharmaceutical formulation / I. A. Darwish, M. A. Sultana, H. A. Al-Arfaja // *Talanta.* – 2009. – 78 – P. 1383–1388.
52. Xie Yu-Long. Kinetic spectrophotometric resolution of binary mixtures using three-way partial least squares / Yu-Long Xie, J. J. Baeza-Baeza, G. Ramis-Ramos // *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems.* – 1995. – 27. – P. 211–220.

Ел. адреса: Blazejowski@ukr.net

Статтю подано до редколегії
14.09.2010