

Рекомендована д.х.н., професором В.В.Болотовим

УДК 615.25:54.062

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ НІФЕДИПІНУ В ЛІКАРСЬКИХ ФОРМАХ КІНЕТИЧНИМ МЕТОДОМ ІНГІБУВАННЯ ХЕМІЛЮМІНЕСЦЕНЦІЇ

Н.Ю.Бондаренко, М.Є.Блажеєвський

Національний фармацевтичний університет

З'ясовані умови та розроблена методика кількісного визначення вмісту основної речовини ніфедипіну у модельних розчинах субстанції та таблетках «Фенігидин-Здоров'я» та «Ніфедипін» кінетичним методом інгібування хемілюмінесценції в системі $H_2L - H_2O_2 - (H) - Hem$. При визначенні ніфедипіну $RSD \leq 3,3\%$ ($n = 5$, $P = 0,95$), нижня межа визначуваних концентрацій $c_{\text{н}} = 5 \cdot 10^{-6}$ моль/л (1,7 мкг/мл).

Ніфедипін (**H**) (диметиловий естер (2,6-диметил-4-(2'-нітрофеніл)-1,4-дигідропіридин-3,5-дикарбонової кислоти) – основний представник антагоністів іонів кальцію, похідних 1,4-дигідропіридину, що знаходиться широке застосування в медичній практиці. Він блокує потенціалозалежні кальцієві канали і перешкоджає проникненню іонів кальцію в клітини гладких м'язів артеріальних судин. **H** знижує артеріальний тиск, покращує коронарний потік крові, виявляє антиангінальну, гіполіпідемічну та антисклеротичну дію. Його випускають у вигляді порошку, розчину для ін'єкцій, капсул, таблеток - ретард, крапель та інших лікарських форм [4].

У науковій літературі описані методики кількісного визначення **H** методом церійметричного титрування у неводному середовищі [6, 8], а також методом ВЕРХ [12, 15, 16], вольтамперометрії [13, 14], полярографії [7] та УФ-спектрофотометрії [1, 5, 11]. Крім того, відома методика високочутливого кінетичного визначення **H** з використанням хемілюмінесцентної системи люмінол (H_2L) – персульфат [10]. У результаті взаємодії H_2L з персульфатом у лужному середовищі виникає слабка хемілюмінесценція, яка сенсibiliзується **H**. C_{min} для **H** за цією методикою становить 0,017 мкг/мл, $RSD = 0,028$.

Для кількісного визначення **H** у субстанції хемілюмінесцентним методом нами запропонована нова аналітична система $H_2L - \text{гідроген пероксид} (H_2O_2) - \text{гемін} (Hem) - (H)$, в якій **H** чинить блокуючу дію на виникнення хемілюмінесценції (XL).

Для з'ясування оптимальних умов вивчали вплив порядку змішування розчинів H_2L , натрію гідроксиду, H_2O_2 , **H** і *Hem* та їх концентрацій на вихід XL . Виникнення XL досліджували у дискретному режимі, вимірювання здійснювали фотоелектричним мето-

дом. За аналітичний відгук було обрано максимальне значення величини інтенсивності ($I_{\text{хл}}$) XL .

Експериментальна частина

Для досліджень використовували субстанцію ніфедипіну, що відповідає вимогам [9], та лікарські форми, які містять ніфедипін, зокрема таблетки «Фенігидин-Здоров'я» виробництва ЗТ Фармацевтична компанія «Здоров'я», Україна, 10 мг діючої речовини, серія 151110 та таблетки «Ніфедипін» виробництва «Astartis», Болгарія, серія 1153210.

Вихідний 0,001 М розчин люмінолу (H_2L) виготовляли з очищеного комерційного препарату кваліфікації ч.д.а. (НПФ «Синбіас», ТУ 6-09-08-973) перекристалізацією з льодової ацетатної кислоти в присутності активованого вугілля, а відтак – з насиченого розчину луку за точною наважкою у 0,01 М розчині натрію гідроксиду. У роботі використовували розчини, виготовлені за Гілленбрандом [2].

Для створення та підтримки необхідної кислотності середовища використовували 0,1 М розчин натрію гідроксиду, величину рН розчинів контролювали за допомогою лабораторного потенціометра «Іономер И-130» зі скляним електродом ЕСЛ-43-07 в парі з аргентумхлоридним (ЕВЛ-1), заповненим насиченим розчином калію хлориду.

Розчин гідрогену пероксиду (H_2O_2) 6% концентрації готували із 50% препарату о.с.ч. (Чехія) розбавленням його двічі дистильованою водою з наступним контролем вмісту гідрогену пероксиду перманганометрично [3].

Вихідний розчин геміну (*Hem*) 0,1 мг/мл виготовляли розчиненням 10 мг геміну виробництва фірми «Fluka» у 75 мл 0,5% розчину калію гідрофосфату при нагріванні до 323 К. Об'єм доводили до 100 мл двічі дистильованою водою при 293 К і перемішували. Робочий розчин з концентрацією геміну 1,0 мкг/мл виготовлений шляхом розбавлення вихідного розчину двічі дистильованою водою. Розчин придатний до використання протягом доби.

Приготування стандартного розчину ($PC3$) ніфедипіну (**H**) $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л. У затемненому місці розчиняли 0,02 г субстанції ніфедипіну (точна наважка) у мірній колбі на 50 мл у 25 мл метанолу х.ч. Об'єм розчину доводили до позначки при 293 К. Розчин придатний до застосування протягом 2 тижнів

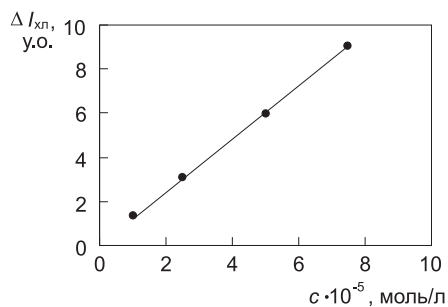


Рис. Градувальна залежність кількісного визначення H за ефектом інгібування $ХЛ$ в системі $H_2L - H_2O_2 - (H) - Hem$.

при зберіганні у темному місці. Розчини з меншою концентрацією ніфедипіну виготовляли з основного стандартного розчину відповідним розбавленням метанолом х.ч.

Інтенсивність хемілюмінесценції вимірювали в умовних одиницях (у.о.) на установці з фотоелектронним помножувачем ФЭУ-84-А, вимірювачем малих струмів ИМТ-0.5 і швидкодіючим (постійна часу 0.1с) потенціометром-самописцем. Реакцію, що супроводжується хемілюмінесценцією, проводили у кварцовій кюветі циліндричної форми діаметром 30 мм з робочим об'ємом 10 мл. При проведенні дослідів зберігали наступний порядок змішування реагентів: до суміші індикатора люмінолу в розчині лугу та гідрогену пероксиду в присутності або у відсутності H додавали за допомогою піпеткового дозувача П-1 0,50 мл розчину геміну і безперервно реєстрували кінетичну криву – інтенсивність хемілюмінесценції ($I_{хл}$) – час (x). Дозувач влаштований у зйомний тримач, який ізолює фотокатод фотоелектронного помножувача від стороннього світла, а відтак дозволяє працювати при звичайному освітленні. Усі досліді виконували при температурі 290...293°C.

Результати та їх обговорення

У результаті проведених досліджень було встановлено, що оптимальним для інгібування $ХЛ$ в системі $H_2L - H_2O_2 - (H) - Hem$ є порядок змішування, коли останнім додається розчин Hem . Оптимальними концентраціями реактивів є: $c(NaOH) = 0,052$ Моль/л, $c(H_2O_2) = 0,15\%$, $c(H_2L) = 1 \cdot 10^{-4}$ Моль/л, $C(Hem) = 5 \cdot 10^{-2}$ мкг/мл.

Методика кількісного визначення H у субстанції методом інгібування $ХЛ$. У кварцову кювету послідовно вносили: 1,00 мл 10^{-3} Моль/л розчину H_2L , 3,00 мл 0,172 Моль/л натрію гідроксиду, двічі дистильовану воду ($10 - x$, де x – сумарний об'єм усіх реактивів і проби, мл), 0,25 мл 6% розчину H_2O_2 та 0,5 мл досліджуваного метанольного розчину H (для побудови градувального графіка 0,00-1,00 мл H 10^{-3} Моль/л), ретельно перемішували струшуванням, ставили кювету у світлонепроникну камеру фотометра, відкривали шторку, вмикали самопишучий потенціометр і вливали 0,50 мл 1,0 мкг/мл розчину Hem в затемнених умовах камери. Реєстрували кінетичну криву хемілюмінесценції. Кінетична крива виникнення $ХЛ$ за відсутності інгібітора нагадувала короткочасний спалах з подальшим згасанням $ХЛ$ за експоненціальним законом впродовж декількох

хвилин. При додаванні інгібітора максимальна $I_{хл}$ зменшувалась пропорційно вмісту доданої речовини. За аналітичний сигнал нами було обрано величину $\Delta I_{хл}$, яка являє собою різницю між максимальним значенням $I_{хл}$ (у холостому досліді) та таким значенням величини $I_{хл}$ у робочому досліді в присутності інгібітора. Градувальний графік $ХЛ$ визначення H представлений на рис.

Лінійна залежність $\Delta I_{хл}$ (у.о.) від концентрації H (Моль/л) зберігалась в інтервалі концентрацій $(0,5 - 8) \cdot 10^{-5}$ Моль/л. Рівняння градувального графіка має вигляд $\Delta I_{хл} = 1,2 \cdot 10^5 c$, ($r = 0,99$). Під час визначення $2,13 \cdot 10^{-4}$ Моль/л H у модельних розчинах субстанції методом інгібування $RSD = 3,3\%$ ($n = 5$, $P = 0,95$), $c_n = 5 \cdot 10^{-6}$ Моль/л (1,7 мкг/мл).

Кількісне визначення H в препаратах виконували методом стандарту, використовуючи лінійні ділянки згаданої вище концентраційної залежності $\Delta I_{хл}$.

Методика кількісного визначення H в таблетках «Фенігидин-Здоров'я» по 10 мг. Біля 200 мг розтертих таблеток (точна наважка) розчиняли у мірній колбі на 50 мл у 25 мл метанолу х.ч. Об'єм розчину доводили до позначки при 293 К. Паралельно готували об'ємно-ваговим методом розчин робочого стандартного зразка H з концентрацією $2,7 \cdot 10^{-4}$ г/мл на метанолі.

У кварцову кювету послідовно приливали 1,00 мл $1 \cdot 10^{-3}$ Моль/л розчину H_2L , 3,00 мл 0,172 Моль/л натрію гідроксиду, двічі дистильовану воду ($10 - x$, де x – сумарний об'єм усіх реактивів і проби, мл), 0,25 мл 6% розчину H_2O_2 та 2,0 мл досліджуваного розчину H . Одержану суміш перемішували і встановлювали кювету у світлозахисну камеру фотометра. Відкривали шторку і вливали за допомогою піпеткового дозувача 0,5 мл розчину Hem з концентрацією 1,0 мкг/мл. Аналогічного порядку додавання розчинів дотримувались при виконанні досліді з $PC3 H$. Вміст H у препараті знаходили методом порівняння $\Delta I_{хл}$ у досліді з досліджуваним розчином H з аналогічною величиною $\Delta I_{хл}$, одержаною у досліді з розчином $PC3$.

Вміст ніфедипіну в г на таблетку (X) розраховували за формулою:

$$X = \frac{m_{cm} \cdot \Delta I_{хл} \cdot 50 \cdot \bar{m} \cdot \omega}{50 \cdot \Delta I_{cm} \cdot m_n \cdot 100},$$

де: m_{cm} – маса ніфедипіну у розчині $PC3$, г; $\Delta I_{хл}$ – різниця між максимальними значеннями ΔI_{max} у контрольному та робочому (з випробуваним препаратом) досліді, у.о.; ΔI_{cm} – різниця між максимальними значеннями ΔI_{max} у контрольному та робочому (з $PC3$) досліді, у.о.; 50 – об'єм мірної колби, використаної для аналізу, мл; \bar{m} – середня маса таблетки ($n = 20$), г; m_n – маса наважки розтертих таблеток однієї серії, г; ω – вміст діючої речовини у субстанції, %.

Методика кількісного визначення H в таблетках «Ніфедипін» по 10 мг. Біля 400 мг розтертих таблеток (точна наважка) розчиняли у мірній колбі на 50 мл у 25 мл метанолу х.ч. Об'єм розчину доводили до позначки при 293 К. Паралельно готували об'ємно-ваговим методом розчин робочого стандарт-

Таблиця

Результати кількісного визначення ніфедипіну в таблетках по 0,01 г ($n = 5$, $P = 0,95$)

Лікарська форма складу	Знайдено ніфедипіну, г	Метрологічні характеристики
«Фенігідин-Здоров'я» (Україна) ніфедипіну 10,03 мг*	0,0099 0,0098 0,0102 0,0103 0,0101	$\bar{X} = 0,0101$ $S = \pm 2,1 \cdot 10^{-4}$ $S_{\bar{X}} = \pm 9,3 \cdot 10^{-5}$ $\Delta\bar{X} = \pm 2,6 \cdot 10^{-4}$ $S_r = \pm 2,06\%$ $\delta = + 0,7\%$
«Ніфедипін» (Болгарія) ніфедипіну 11,01 мг*	0,0108 0,0113 0,01135 0,0110 0,0112	$\bar{X} = 0,0111$ $S = \pm 2,3 \cdot 10^{-4}$ $S_{\bar{X}} = \pm 1,0 \cdot 10^{-4}$ $\Delta\bar{X} = \pm 2,8 \cdot 10^{-4}$ $S_r = \pm 2,05\%$ $\delta = + 0,82\%$

Примітка. * Вміст встановлено методом УФ-спектроскопії за власним світлопоглинанням при довжині хвилі 238 [5].

ного зразка **H** з концентрацією $3,6 \cdot 10^{-4}$ г/мл на метанолі. Далі виконували аналіз як і при визначенні вмісту **H** в таблетках «Фенігідин-Здоров'я» по 10 мг, і вміст **H** в г на таблетку (**X**) розраховували за аналогічною формулою. Результати кількісного визначення **H** в таблетках наведені в табл.

Отже, нами були розроблені вибіркові методики кількісного визначення ніфедипіну в субстанції лікарської речовини і таблетках методом хемілюмінесценції за ефектом інгібування люмінолової реакції.

ВИСНОВКИ

1. З'ясовані умови та розроблена методика кількісного визначення вмісту основної речовини **H** у субстанції кінетичним методом інгібування X/L в системі $H_2L - H_2O_2 - (H) - Hem$. При визначенні **H** у модельних розчинах субстанції $RSD = 3,3\%$ ($n = 5$, $P = 0,95$), $c_H = 5 \cdot 10^{-6}$ Моль/л (1,7 мкг/мл).

2. Розроблена методика та показана можливість кількісного визначення вмісту **H** у таблетках «Фенігідин-Здоров'я» та «Ніфедипін» кінетичним методом хемілюмінесценції.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бугрова Е.А., Титова А.В., Арзамасцев А.П. // *ХФЖ*. – 2000. – №4 (34). – С. 55-56.
2. Гиллебранд В.Ф. *Практическое руководство по неорганическому анализу*. – М.: Госхимиздат, 1966. – 1112 с.
3. *Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр»*. – 1-е вид. – Х.: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – 620 с.
4. *Компендиум 2009 – лекарственные препараты. В 2-х т. / Под ред. В.Н.Коваленко, А.П.Викторова*. – К.: МОРИОН, 2009. – 2224 с.
5. Тимошик Ю.В., Петренко В.В. // *Фарм. журн.* – 2009. – №3. – С. 64-69.
6. Туркевич М., Владзімірська О., Лесик Р. *Фармацевтична хімія*. – Вінниця: НОВА КНИГА, 2003. – 464 с.
7. Шаповалов В.А. // *ЖАХ*. – 2002. – №2 (57). – С. 185-186.
8. *British Pharmacopoeia*. – London: The Stationary Office, 2009. – Vol. 1, 2. – 6481 p.
9. *Ćwiczenia z chemii leków / Pod red. M.Gorczykowej, F.Zejca*. – Kraków: Collegium Medium UJ, 1996. – 200 p.
10. He Shuhua, Lü Yi, He Deyong et al. // *Chin. J. Anal. Chem.* – 2004. – №4 (32). – P. 474-476.
11. Hemmateenejad B., Miri R., Kamali R. // *J. Iran. Chem. Soc.* – 2009. – №1 (6). – P. 113-120.
12. Niopas Ioannis, Daftsios Athanasios C. // *J. Pharm. and Biomed. Anal.* – 2003. – №6 (32). – P. 1213-1218.
13. Özaltın Nuran, Yardimci Ceren, Süslü Incilay // *J. Pharm. and Biomed. Anal.* – 2002. – №3 (30). – P. 573-582.
14. Reddy T. Madhusudana, Reddy S. Jayarama // *Anal. Lett.* – 2004. – №10 (37). – P. 2079-2098.
15. Vertzoni M.V., Reppas C., Archontaki H.A. // *Anal. Chim. Acta.* – 2006. – №573. – P. 298-304.
16. Yang Bingyi, Mo Jinyuan, Lai Rong et al. // *Chin. J. Anal. Chem.* – 2004. – №10. – P. 1304-1308.

УДК 615.25:54.062

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ НИФЕДИПИНА В ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМАХ КИНЕТИЧЕСКИМ МЕТОДОМ ИНГИБИРОВАНИЯ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ

Н.Ю.Бондаренко, Н.Е.Блажеевский

Подобраны условия и разработана методика количественного определения содержания основного вещества нифедипина в модельных растворах субстанции, таблетках «Фенігідин-Здоров'я» и «Ніфедипін» кінетическим методом інгібування хемілюмінесценції в системі $H_2L - H_2O_2 - (H) - Hem$. При определении нифедипина $RSD \leq 3,3\%$ ($n = 5$, $P = 0,95$), нижняя граница определяемых концентраций $c_H = 5 \cdot 10^{-6}$ Моль/л (1,7 мкг/мл).

UDC 615.25:54.062

NIFEDIPINE QUANTITATIVE DETERMINATION IN MEDICINAL FORMS BY THE KINETIC METHOD OF CHEMILUMINESCENCE INHIBITION

N.Yu.Bondarenko, M.Ye.Blazheevsky

The method of Nifedipine quantitative determination in model solutions of the active substance, «Phenihydin-Zdorovyе» and «Nifedipine» tablets based on inhibition of luminol chemiluminescent oxidation by hydrogen peroxide in the reaction catalyzed by hemin has been elaborated. In determination of Nifedipine $RSD \leq 3.3\%$ ($n = 5$, $P = 0.95$), the lower limit of quantitation (LOQ) is $5 \cdot 10^{-6}$ mol/l (1.7 μ g/ml).