

Рекомендована д.ф.н., професором П.О. Безуглім

УДК 615.213/214:615.07:543.42.061/0.62

ЕКСТРАКЦІЙНО-ФОТОМЕТРИЧНЕ ТА СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ЛЕПОНЕКСУ

В.В.Болотов, І.І.Тернінко

Національна фармацевтична академія України

Розроблена методика екстракційно-фотометричного визначення лепонексу на підставі утворення іонного асоціату з кислотним барвником метиловим оранжевим. Методика дозволяє визначити препарат при його вмісті в пробі від 10 мкг до 90 мкг. Відносна помилка методу — ±2,29%. Запропонований метод спектрофотометричного визначення лепонексу, який дає можливість визначати від 12 мкг до 120 мкг лепонексу у 10 мл розчину. Відносна помилка методу — ±2,25%.

Лепонекс (азалептин, клозапін, іпрокс) — 8-хлор-11-(4-метил-1-піперазиніл)-5Н-дibenzo-[b,e] [1,4]-діазепін — нейролептик з вираженою антипсихотичною дією, який застосовується для лікування резистентної шизофренії у випадках неефективності інших нейролептиків. Виробляється фірмою "Сандоз" у вигляді таблеток (25 мг та 100 мг) та ампульних розчинів (25 мг/мл) [6].

Токсична доза препарату для людини складає від 800 мг до 1300 мг [9]. Межа дозволених доз лепонексу встановлюється індивідуально та складає від 25 до 600 мг на день [6].

Інтерес до лепонексу в хіміко-токсикологічному відношенні пов'язаний з випадками отруєння цим препаратом [7, 9, 10]. Однак методи його хіміко-токсикологічного аналізу практично не розроблені.

Одним з методів кількісного визначення, який знайшов широке використання у хіміко-токсикологічному аналізі, є метод екстракційної фотометрії [3, 4].

Ми поставили собі за мету розробити екстракційно-фотометричне визначення лепонексу з використанням кислотно-основного індикатора метилового оранжевого.

Нами встановлено, що 0,1% розчин метилового оранжевого утворює з лепонексом у середовищі ацетатного буферного розчину іонні асоціати, які екстрагуються хлороформом. Так як розчини іонних асоціатів виявилися нестійкими, а їх забарвлення малоінтенсивним, то для підсилення чутливості методу утворені іонні асоціати руйнували

додаванням до їх хлороформних розчинів 1% розчину сірчаної кислоти в абсолютному етанолі. При цьому одержували розчини, які мали значно вищу оптичну густину.

У процесі розробки найефективніших умов визначення були підібрані оптимальні об'єми розчину метилового оранжевого та хлороформу. Встановлено, що оптимальне значення кількості 0,1% розчину метилового оранжевого складає 5 мл, а іонні асоціати практично повністю екстрагуються в процесі одноразової екстракції 10 мл хлороформу. Також було підібране оптимальне значення pH буферного розчину та довжина кювети. Для підбору оптимального значення pH буферного розчину нами був виготовлений ряд ацетатних буферних розчинів з pH від 3,0 до 6,0 [5]. Величини pH буферних розчинів контролювали потенціометрично. Найбільш придатне значення pH буферного розчину становить 4,6.

Для розрахунку вмісту лепонексу в розчинах, що досліджували, використовували калібрувальний графік або рівняння прямої, яке було розраховане за допомогою методу найменших квадратів [1]: $D = 0,009653 \cdot C + 0,0937$, де: D — оптична густина розчину, C — вміст лепонексу у пробі, мкг. Світлопоглинання забарвлених розчинів підлягає закону Бугера-Ламберта-Бера в межах концентрацій лепонексу від 10 до 90 мкг у пробі. Результати кількісного визначення лепонексу в розчинах за допомогою наведеної методики представлені в табл. 1. Як свідчать дані табл. 1, відносна помилка визначення середнього результату складає ±2,29%.

Серед сучасних методів, які застосовуються у хіміко-токсикологічному аналізі, широку увагу приділяють також методу спектрофотометрії [8]. У зв'язку з цим ми розробили методику спектрофотометричного визначення лепонексу.

Попередньо нами був знятий УФ-спектр абсорбції лепонексу у 0,1 М розчині хлороводневої кислоти. Спектр зміали на спектрофотометрі СФ-26 у діапазоні довжин хвиль 220-320 нм в кюветі з товщиною шару 10 мм. Максимуми абсорбції лепонексу спостерігали при 240 та 285-

Таблиця 1

Результати екстракційно-фотометричного визначення лепонексу в хлороформних розчинах

Вміст лепонексу в пробі, мкг	Оптична густинна	Знайдено лепонексу		Метрологічні характеристики
		мкг	%	
10	0,195	9,5	95,00	
40	0,480	40	100,00	
50	0,580	50,7	101,40	
60	0,680	61	101,66	
80	0,870	81	101,25	
90	0,940	88,7	98,25	

$$\begin{aligned} \bar{X} &= 99,55\% \\ S &= 2,45 \\ S_x &= 0,93 \\ \Delta X &= 2,28 \\ \varepsilon &= 2,29\% \\ \bar{X} \pm \Delta X &= = 99,55 \pm 2,28 \end{aligned}$$

295 нм (плато) (див. рис.). Для розрахунку вмісту лепонексу в розчинах користувались калібрувальним графіком або рівнянням прямої, яке було розраховане за допомогою методу найменших квадратів [1]: $D = 0,008357 \cdot C + 0,00133$, де: D — оптична густинна розчину, C — вміст лепонексу в 10 мл розчину, в мкг. Світлопоглинання розчинів підлягає закону Бугера-Ламберта-Бера в межах концентрацій від 12 мкг до 120 мкг лепонексу в 10 мл розчину. Результати кількісного визначення лепонексу в розчинах за допомогою наведеної методики представлені в табл. 2. Як свідчать дані, наведені в табл. 2, відносна помилка визначення середнього результату становить $\pm 2,25\%$.

Методика побудови калібрувального графіка для екстракційно-фотометричного визначення лепонексу

А. У ділильні лійки вносять по 5 мл ацетатного буферного розчину з pH 4,6, по 5 мл 0,1% розчину метилового оранжевого та по 1,0; 2,0; 4,0; 5,0; 6,0; 8,0; 9,0 мл стандартного розчину лепонексу у хлороформі, в 1 мл якого міститься 10 мкг препарату. До отриманої суміші додають хлороформ до 10 мл загального об'єму хлороформного шару. Суміш у ділильних лійках струшують протягом 10 хв. за

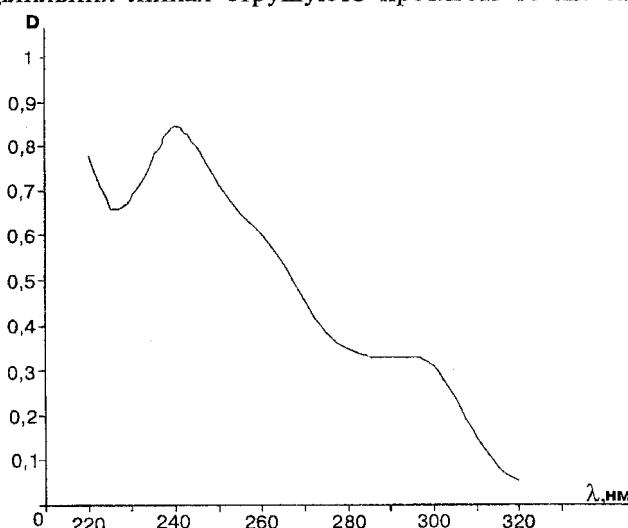


Рис. УФ-спектр лепонексу в 0,1 М розчині кислоти хлороводневої (0,001% розчин)

Таблиця 2

Результати спектрофотометричного визначення лепонексу в 0,1 М розчині кислоти хлороводневої

Вміст лепонексу в 10 мл розчину, мкг	Оптична густинна	Знайдено лепонексу		Метрологічні характеристики
		мкг	%	
20	0,164	20,0	100,00	$\bar{X} = 98,95\%$ $S = 2,24$ $S_x = 0,91$ $\Delta X = 2,34$ $\varepsilon = 2,25\%$ $\bar{X} \pm \Delta X = = 98,95 \pm 2,34$
40	0,338	40,6	101,50	
60	0,495	59,4	99,00	
80	0,640	76,8	96,00	
100	0,810	97,2	97,20	
120	1,000	120,0	100,00	

допомогою механічного струшувача і залишають на 10 хв. для розділення шарів. Збирають по 9 мл хлороформних екстрактів, відкидаючи їх перші та останні порції (блізько 0,7 мл), і додають до них по 2 мл 1% розчину кислоти сірчаної в абсолютному етанолі. Одержану суміш ретельно перемішують. Оптичну густину одержаних розчинів визначають на фотоелектроколориметрі КФК-2, (світлофільтр з $\lambda_{\text{eff}} = 540 \pm 10$ мм, кювета з товщиною шару 10 мм), як розчин порівняння використовують хлороформ. Визначення розчинів, що досліджують, проводять в аналогічних умовах.

Б. Замість вказаного стандартного розчину лепонексу в хлороформі можна використовувати його стандартний розчин в 0,01 М розчині кислоти хлороводневої (концентрація лепонексу 100 мкг в 1 мл). В ділильні лійки вносять по 10 мл хлороформу, 0,1; 0,2; 0,4; 0,5; 0,6; 0,8; 0,9 мл стандартного розчину лепонексу в 0,01 М розчині кислоти хлороводневої, додають ацетатний буферний розчин з pH 4,6 до загального об'єму водної фази 5 мл, а потім 5 мл 0,1% розчину метилового оранжевого. Далі діють так, як описано у методіці А.

Методика побудови калібрувального графіка для спектрофотометричного визначення лепонексу

У ряд мірних колб місткістю 10 мл вносять по 1,0; 3,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 10,0 мл стандартного розчину лепонексу у 0,1 М розчині кислоти хлороводневої з концентрацією 12 мкг препарату в 1 мл і доводять об'єм розчину до мітки 0,1 М розчином кислоти хлороводневої. Після ретельного перемішування визначають оптичну густину одержаних розчинів на спектрофотометрі при довжині хвилі $\lambda = 240 \pm 2$ нм (кювета з товщиною шару 10 мм); як розчин порівняння використовують 0,1 М розчин кислоти хлороводневої.

ВИСНОВКИ

1. Розроблена методика екстракційно-фотометричного визначення лепонексу з використанням у ролі реагента кислотного барвника метилового оранжевого, який утворює з лепонексом іонні асоціати. Запропонований метод дає можливість визначати від 10 мкг до 90 мкг лепонексу в

пробі. Відносна помилка визначення середнього результату складає $\pm 2,29\%$.

2. Розроблена методика спектрофотометричного визначення лепонексу. Запропонована мето-

дика дає можливість визначати від 12 мкг до 120 мкг лепонексу в 10 мл кінцевого об'єму. Відносна помилка визначення середнього результату складає $\pm 2,25\%$.

ЛІТЕРАТУРА

1. Алексовский В.Б., Бардин В.В., Бойчинова Е.С. Физико-химические методы анализа. — Л.: Химия, 1988. — 376 с.
2. Алимов Х.А., Монасыпов И.Х. // Клин. психиатрия Узбекистана. — 1987. — С. 3-6.
3. Болотов В.В., Баюрка С.В. // Вісник фармації. — 1996. — №3-4. — С. 35-36.
4. Болотов В.В., Ахмедов Е.Ю. // Вісник фармації. — 1998. — №2. — С. 116-117.
5. Лурье Ю.Ю. Справочник по аналитической химии. — М.: Химия, 1979. — 312 с.
6. Машковский М.Д. Лекарственные средства. В двух томах. Т.1. — Изд. 13-е; новое. — Х.: Торсинг, 1997. — 560 с.
7. Невинчаный В.И., Вольграм Е.Н. // Суд.-мед. экспертиза. — 1987. — Т. 30, №2. — С. 59-61.
8. Clarke's isolation and identification of drugs in pharmaceuticals body fluids and post-mortem material. — London: The pharm. press, 1986. — 1223 p.
9. Meeker J.E., Hermann P.W. // J. Anal. Toxicol. — 1992. — Vol. 16. — S. 54-56.
10. Proceedings of the 30-th inter. meeting. October 19-23, 1992, Fukuoka, Japan / Ed. by Takeaki Nagata; The international association of forensic toxicologists, 1992. — 1560 p.

УДК 615.213/214:615.07:543.42.061/0.62

ЭКСТРАКЦИОННО-ФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ И СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛЕПОНЕКСА

В.В.Болотов, И.И.Тернинко

Разработана методика экстракционно-фотометрического определения лепонекса на основе образования ионного ассоциата с кислотным красителем метиловым оранжевым. Методика позволяет определить препарат при его содержание в пробе от 10 мкг до 90 мкг. Относительная ошибка метода — $\pm 2,29\%$. Предложен метод спектрофотометрического определения лепонекса, который дает возможность определять от 12 мкг до 120 мкг лепонекса в 10 мл раствора. Относительная ошибка метода — $\pm 2,25\%$.

UDC 615.213/214:615.07:543.42.061/0.62

EXTRACTION-PHOTOMETRIC AND SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF LEPONEX

V.V.Bolotov, I.I.Terninko

Methods of extraction-photometric determination of leponex on the basis of ionic associate formation in reaction with acid stain methyl orange have been elaborated. The methods allow to determine the preparation in a sample with its content from 10 mkg to 90 mkg. Relative error of the methods is $\pm 2,29\%$. The article also suggests the method of leponex spectrophotometric determination, which allows to determine from 12 mkg to 120 mkg of leponex in 10 ml of solution. Relative error of the method is $\pm 2,25\%$.