

УДК 615.25:54.062

Н. Ю. БОНДАРЕНКО

Національний фармацевтичний університет

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ НІФЕДИПІНУ В ЛІКАРСЬКИХ ФОРМАХ КІНЕТИКО-ХЕМІЛЮМІНЕСЦЕНТНИМ МЕТОДОМ

З'ясовані умови та розроблена методика кількісного визначення вмісту основної речовини ніфедипіну у модельних розчинах субстанції і таблетках «Фенігідин-Здоров'я» та «Ніфедипін» кінетико-хемілюмінесцентним методом у системі $H_2L - H - H_2O_2$. При визначенні ніфедипіну $RSD \leq 9\%$ ($n = 5, P = 0,95$), нижня межа визначуваних концентрацій $c_n = 2$ нг/мл.

Ключові слова: кількісне визначення; люмінал; ніфедипін; кінетико-хемілюмінесцентний метод

ВСТУП

Ніфедипін (**H**) (диметилловий естер (2,6-диметил-4-(2'-нітрофеніл)-1,4-дигідропіридин-3,5-дикарбонової кислоти) є основним представником антагоністів іонів кальцію, похідних 1,4-дигідропіридину і широко використовується як серцево-судинний засіб. **H** знижує артеріальний тиск, покращує коронарний потік крові, виявляє антиангінальну, гіполіпідемічну та антісклеротичну дію. Його випускають у вигляді порошку, розчину для ін'єкцій, капсул, таблеток-ретард, крапель та інших лікарських форм [5].

У науковій літературі описані методики кількісного визначення **H** методом церійметричного титрування у неводному середовищі [7, 10], а також методом ВЕРХ [9, 14, 17], вольтамперометрії [15, 16], полярографії [8] та УФ-спектрофотометрії [2, 6, 13]. Крім того, відома методика високочутливого кінетичного визначення **H** з використанням хемілюмінесцентної системи люмінал (H_2L) – персульфат [12]. У результаті взаємодії H_2L з персульфатом у лужному середовищі виникає слабка хемілюмінесценція, яка сенсифікується **H**. C_{\min} для **H** за цією методикою становить 0,017 мкг/мл, $RSD = 0,028$.

Раніше нами була опрацьована методика кількісного визначення **H** з використанням хемілюмінесцентної системи H_2L – гідроген пероксид (H_2O_2) – гемін (**Нет**) – (**H**), в якій **H** чинить інгібуючу дію на виникнення хемілюмінесценції (**ХЛ**) [1].

У теперішній роботі для кількісного визначення **H** методом **ХЛ** у субстанції та лікарських препаратах запропонована аналітична система $H_2L - H - H_2O_2$, в якій **H** виступає активатором **ХЛ**.

Для з'ясування оптимальних умов вивчали вплив порядку змішування розчинів H_2L , натрію гідрокси-

ду, H_2O_2 , і **H** та їх концентрацій на $I_{\text{ХЛ}}$ **ХЛ**, що виникає. Виникнення **ХЛ** досліджували у дискретному режимі, вимірювання здійснювали фотоелектричним методом. За аналітичний відгук було обрано максимальне значення величини інтенсивності ($I_{\text{ХЛ}}$) **ХЛ**.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

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

Вихідний 0,001 М розчин люміналу (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 Гіллебрандтом [3].

Для створення та підтримки необхідної кислотності середовища використовували 0,1 М розчин натрію гідроксиду, величину рН розчинів контролювали за допомогою лабораторного потенціометра «Іономер І-130» зі скляним електродом ЕСЛ-43-07 у 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 перманганатометрично [4].

Приготування стандартного розчину (РСЗ) ніфедипіну (**H**) $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л. У затемненому місці розчи-

© Бондаренко Н. Ю., 2013

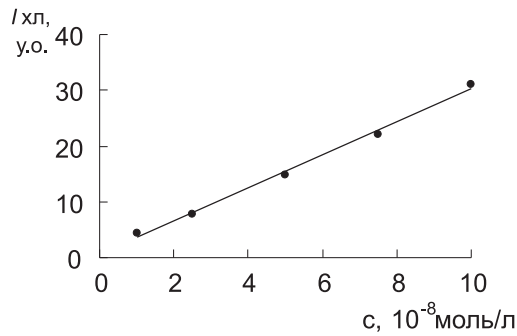


Рис. Градувальна залежність кількісного визначення **H** за ефектом активування **ХЛ** у системі $H_2L - H - H_2O_2$

няли 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 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 ФЕУ-84-А, вимірювачем малих струмів (ИМТ-0,5) і швидкодіючим (постійна часу 0,1 с) 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 в присутності або у відсутності **H** додавали за допомогою піпеткового дозувача П-1 0,50 мл розчину гідрогену пероксиду і безперервно реєстрували кінетичну криву інтенсивності хемілюмінесценції ($I_{хл}$) – час (хв). 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 К.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У результаті проведених досліджень було встановлено, що оптимальним для активування **ХЛ** в системі $H_2L - H - H_2O_2$ є порядок змішування, коли останнім додається розчин H_2O_2 . Оптимальними концентраціями реактивів є: $c(NaOH) = 0,03$ моль/л, $c(H_2O_2) = 0,3\%$, $c(H_2L) = 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л.

Методика кількісного визначення H у субстанції методом активування ХЛ. У кварцову кювету послідовно вносили: 1,00 мл 10^{-3} моль/л розчину H_2L , 1,50 мл 0,2 моль/л натрію гідроксиду, двічі дистильовану воду ($10 - x$, де x – сумарний об'єм усіх реактивів і проби, мл), 0,5 мл досліджуваного метанольно-го розчину **H** (для побудови градувального графі-

ка 0-1,00 мл $H 10^{-6}$ моль/л), ретельно перемішували струшуванням, ставили кювету у світлонепроникну камеру фотометра, відкривали шторку, вмикали самописець потенціометр і вливали 0,5 мл 6% розчину H_2O_2 у затемнених умовах камери. Реєстрували кінетичну криву хемілюмінесценції. Кінетична крива виникнення **ХЛ** за відсутності **H** нагадувала короткочасний спалах з подальшим згасанням **ХЛ** за експоненціальним законом впродовж декількох секунд. При додаванні активатора максимальна $I_{хл}$ підвищувалась пропорційно до вмісту доданої речовини. За аналітичний сигнал нами було обрано максимальне значення інтенсивності хемілюмінесценції ($I_{хл}$) з урахуванням фоновго світіння у холостому досліді за відсутності активатора. Градувальний графік **ХЛ** визначення **H** представлений на рисунку.

Лінійна залежність $I_{хл}$ (у.о.) від концентрації **H** (моль/л) зберігалась в інтервалі концентрацій $(1-10) \cdot 10^{-8}$ моль/л. Рівняння градувального графіка має вигляд $I_{хл} = 2,96 \cdot 10^8 c + 0,61$ ($r = 0,998$). Під час визначення $5,575 \cdot 10^{-5}$ моль/л **H** у модельних розчинах субстанції методом активування $RSD = 3,9\%$ ($n = 5$, $P = 0,95$), $c_n = 2$ нг/мл.

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

Методика кількісного визначення H у 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. Одержаний розчин розбавляли точно у 1000 разів. Аналогічно готували об'ємно-ваговим методом розчин робочого стандартного зразка **H** з концентрацією $1,93 \cdot 10^{-5}$ г/мл на метанолі.

У кварцову кювету послідовно приливали 1,00 мл $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л розчину H_2L , 1,50 мл 0,2 моль/л натрію гідроксиду, двічі дистильовану воду ($10 - x$, де x – сумарний об'єм усіх реактивів і проби, мл) та 0,5 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 6% розчину H_2O_2 . Аналогічного порядку додавання розчинів дотримувались при виконанні досліді з **РСЗ H**. Вміст **H** у препараті знаходили методом стандарту [4].

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

$$X = \frac{m_{cm} \cdot I_{хл} \cdot 50 \cdot \bar{m} \cdot \omega \cdot 1000}{50 \cdot I_{cm} \cdot m_n \cdot 100 \cdot 1000},$$

де: m_{cm} – маса ніфедипіну у розчині **РСЗ**, г;
 $I_{хл}$ – максимальне значення $I_{хл}$ у робочому досліді, у.о.;
 I_{cm} – максимальне значення $I_{хл}$ у розчині **РСЗ**, у.о.;
 50 – об'єм мірної колби, використаної для аналізу, мл;
 1000 – розбавлення;
 \bar{m} – середня маса таблетки ($n = 20$), г;

Таблиця

**РЕЗУЛЬТАТИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ
НІФЕДИПІНУ ($n = 5, P = 0,95$)**

Лікарська форма складу	Знайдено ніфедипіну, г	Метрологічні характеристики
«Фенігидин-Здоров'я» (Україна) ніфедипіну 10,03 мг*	0,0099 0,0104 0,0102 0,0107 0,0101	$\bar{X} = 0,01026$ $S = \pm 3,05 \cdot 10^{-4}$ $S_{\bar{x}} = \pm 1,36 \cdot 10^{-4}$ $\Delta\bar{X} = \pm 3,8 \cdot 10^{-4}$ $S_r = \pm 2,97 \%$ $\delta = + 2,24\%$
«Ніфедипін» (Болгарія) ніфедипіну 11,01 мг*	0,0110 0,0105 0,0107 0,0111 0,0102	$\bar{X} = 0,0107$ $S = \pm 3,7 \cdot 10^{-4}$ $S_{\bar{x}} = \pm 1,6 \cdot 10^{-4}$ $\Delta\bar{X} = \pm 4,6 \cdot 10^{-4}$ $S_r = \pm 3,4 \%$ $\delta = -2,9 \%$

Примітка. * Вміст встановлено методом УФ-спектроскопії за власним світлопоглинанням при довжині хвилі 238 [6].

m_n – маса наважки розтертих таблеток однієї серії, г;
 ω – вміст діючої речовини у субстанції, %.

Методика кількісного визначення H у 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. Одержаний розчин розбавляли точно у 1000 разів. Аналогічно готували об'ємно-ваговим методом розчин робочого стандартного зразка H з концентрацією $1,93 \cdot 10^{-5}$ г/мл на метанолі. Далі виконували аналіз, як при визначенні вмісту H у таблетках «Фенігидин-Здоров'я» по 10 мг, і вміст H в г на таблетку (X) розраховували за аналогічною формулою. Результати кількісного визначення H у таблетках наведені в таблиці.

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

ВИСНОВКИ

1. З'ясовані умови та розроблена методика кількісного визначення вмісту основної речовини H у субстанції кінетичним методом активування XL в системі $H_2L - H - H_2O_2$. При визначенні H у модельних розчинах субстанції $RSD = 3,9\%$ ($n = 5, P = 0,95$), $c_H = 2$ нг/мл.
2. Розроблена методика та показана можливість кількісного визначення вмісту H у таблетках «Фенігидин-Здоров'я» та «Ніфедипін» кінетичним методом хемілюмінесценції.

**ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ
ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ**

1. Бондаренко Н. Ю. Кількісне визначення ніфедипіну в лікарських формах кінетичним методом інгібування хемілюмінесценції / Н. Ю. Бондарен-

- ко, М. Є. Блажеєвський // Вісник фармації. – 2012. – № 3. – С. 40-42.
2. Бугрова Е. А. Анализ капсул нифедипина (10 мг) различных производителей / Е. А. Бугрова, А. В. Титова, А. П. Арзамасцев // Хим.-фармац. журн. – 2000. – № 4 (34). – С. 55-56.
3. Гиллебранд В. Ф. Практическое руководство по неорганическому анализу / В. Ф. Гиллебранд. – М.: Госхимиздат, 1966. – 1112 с.
4. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х.: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – 620 с.
5. Компендиум 2009 – лекарственные препараты. В 2-х т. / Под ред. В. Н. Коваленко, А. П. Викторова. – К.: МОРИОН, 2009. – 2224 с.
6. Тимошик Ю. В. Спектрофотометричне визначення фенігидину в таблетках / Ю. В. Тимошик, В. В. Петренко // Фармац. журн. – 2009. – № 3. – С. 64-69.
7. Туркевич М. Фармацевтична хімія / М. Туркевич, О. Владзімірська, Р. Лесик. – Вінниця: Нова книга, 2003. – 464 с.
8. Шаповалов В. А. Определение фенигидина методом дифференциальной импульсной полярографии с накоплением / В. А. Шаповалов // Журн. аналит. химии. – 2002. – № 2 (57). – С. 185-186.
9. Bingyi Y. Одновременное определение четырех блокаторов кальциевых каналов с помощью двух-электродного и двухканального электрохимического детекторов и мицеллярной электрокинетической хроматографии / [Yang Bingyi, Mo Jinyuan, Lai Rong et al.] // Chin. J. Anal. Chem. – 2004. – № 10. – P. 1304-1308.
10. British Pharmacopoeia. – London: The Stationary Office, 2009. – Vol. 1, 2. – 6481 p.
11. Ćwiczenia z chemii leków / Pod red. M. Gorczykowej, F. Zejca. – Kraków: Collegium Medium UJ, 1996. – 200 p.
12. 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. – № 1 (6). – P. 113-120.
13. He Shuhua. Проточно-инжекционное хемілюмінесцентное определение нифедипина, основанное на реакции персульфат – люминол / [He Shuhua, Lü Yi, He Deyong et al.] // Chin. J. Anal. Chem. – 2004. – № 4 (32). – P. 474-476.
14. Niopas I. Determination of nifedipine in human plasma by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography: validation and application to pharmacokinetic studies / Ioannis Niopas, Athanasios C. Daftsios // J. Pharm. and Biomed. Anal. – 2003. – № 6 (32). – P. 1213-1218.
15. Özaltın Nuran. Determination of nifedipine in human plasma by square wave adsorptive stripping voltammetry / Nuran Özaltın, Ceren Yardimci, In-

- cilay Süslü // J. Pharm. and Biomed. Anal. – 2002. – № 3 (30). – P. 573-582.
16. Reddy Madhusudana T. Differential pulse adsorptive stripping voltammetric determination of nifedipine and nimodipine in pharmaceutical formulation, urine and serum samples by using a clay-modified carbon-paste electrode / T. Madhusudana Reddy, S. Jayarama Reddy // Anal. Lett. – 2004. – № 10 (37). – P. 2079-2098.
17. Vertzoni M. V. Sensitive and simple liquid chromatographic method with ultraviolet detection for the determination of nifedipine in canine plasma / M. V. Vertzoni, C. Reppas, H. A. Archontaki // Anal. chim. acta. – 2006. – № 573. – P. 298-304.

УДК 615.25:54.062

Н. Ю. Бондаренко

**КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ НИФЕДИПИНА В ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМАХ
КИНЕТИКО-ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНЫМ МЕТОДОМ**

Подобраны условия и разработана методика количественного определения содержания основного вещества нифедипина в модельных растворах субстанции, таблетках «Фенигидин-Здоровье» и «Нифедипин» кинетическим методом активирования хемилюминесценции в системе $H_2L - H - H_2O_2$. При определении нифедипина $RSD \leq 3,9\%$ ($n = 5, P = 0,95$), нижняя граница определяемых концентраций $c_n = 2$ нг/мл.

Ключевые слова: количественное определение; люминол; нифедипин; кинетико-хемилюминесцентный метод

UDC 615.25:54.062

N. Yu. Bondarenko

**NIFEDIPINE QUANTITATIVE DETERMINATION IN MEDICINAL FORMS USING KINETIC METHOD
OF CHEMILUMINESCENCE ACTIVATION**

The procedure of Nifedipine chemiluminescence determination in model solutions of pure substance, «Phenihydrin-Zdorovye» and «Nifedipine» tablets based on activation of luminol chemiluminescence oxidation by hydrogen peroxide reaction was developed. For Nifedipine assay $RSD \leq 3.9\%$ ($n = 5, P = 0.95$), the limit of concentrations studied (LOQ) is 2 ng mL⁻¹.

Key words: determination; luminol; Nifedipine; kinetic-chemiluminescence method

Адреса для листування:
61204, м. Харків, пр. Перемоги, 66 В, кв. 272.
Тел. (066) 188-53-08.
E-mail: tropikana2003@ukr.net

Надійшла до редакції:
26.11.2013 р.