

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**КОРЕТНІК ОКСАНА ІВАНІВНА**

**УДК 615.062: 543.552: 543.554.4: 543.612.3: 543.632.552: 543.242.3**

**ЗАСТОСУВАННЯ РЕАКЦІЙ СУЛЬФУРОВМІСНИХ СПОЛУК З КАЛІЙ  
ГІДРОГЕНПЕРОКСОМОНОСУЛЬФАТОМ У ФАРМАЦЕВТИЧНОМУ  
АНАЛІЗІ**

**15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія**

**Автореферат  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата фармацевтичних наук**

**Харків – 2015**

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі фізичної та колоїдної хімії Національного фармацевтичного університету Міністерства охорони здоров'я України.

**Науковий керівник:** доктор хімічних наук, професор  
**БЛАЖЕЄВСЬКИЙ МИКОЛА ЄВСТАХІЙОВИЧ**  
Національний фармацевтичний університет,  
професор кафедри фізичної та колоїдної хімії

**Офіційні опоненти:** доктор хімічних наук, професор  
**ГРИЗОДУБ ОЛЕКСАНДР ІВАНОВИЧ**  
Державне підприємство «Український науковий  
фармакопейний центр якості лікарських засобів»  
МОЗ України, м. Харків, директор, завідувач  
Відділу Державної Фармакопеї України

кандидат фармацевтичних наук  
**НАЗАРОВА ОЛЕНА СЕРГІЇВНА**  
Державне підприємство «Державний науковий  
центр лікарських засобів і медичної продукції» (ДП  
«ДНЦЛЗ»), м. Харків, Державна служба України з  
лікарських засобів, завідувач лабораторії аналізу,  
якості і стандартизації лікарських препаратів

Захист відбудеться «25» червня 2015 року о 10<sup>00</sup> годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.01 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Блюхера, 4).

Автореферат розісланий «22» травня 2015 р.

Учений секретар  
спеціалізованої вченої ради,  
професор

О.А. Рубан

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Фармацевтичний аналіз здійснюється на кожному етапі виготовлення лікарських засобів. Вихід та якість кінцевого продукту залежить не лише від суворого дотримання технологічного регламенту, але й від застосування надійних аналітичних методів здійснення постадійного контролю та оцінювання якості сировини та готової продукції. У зв'язку з уведенням на фармацевтичних заводах України правил належної виробничої та лабораторної практик змінюються і підходи до контролю якості лікарських субстанцій та лікарських препаратів. Підвищення вимог до чутливості, правильності, відтворюваності та тривалості аналізу вимагає удосконалення існуючих та опрацювання нових методів та методик контролю якості лікарських засобів. У зв'язку з цим, все ширше впроваджуються в практику фармацевтичного аналізу електрохімічні, а саме потенціометричні та полярографічні, а також титриметричні методики, які засновані на нових більш вибіркових окисно-відновних аналітичних реакціях, що дозволяють визначати вміст не лише діючих, але й допоміжних речовин на стадії виробництва ліків. Не менш важливе значення має і уніфікація аналітичних методик, оскільки на її основі досягається удосконалення методів аналітичного контролю: формується єдиний підхід до аналізу субстанцій і ЛЗ, скорочується час аналізу та кількість використовуваних реагентів. До таких перспективних аналітичних реакцій належать реакції S-окиснення за посередництвом калій гідрогенпероксомоносульфату сульфуровмісних сполук аліфатичного ряду, котрі знаходять широке застосування у фармацевтичній галузі як активно діючі та допоміжні речовини. Ці реакції, які розглядають як нуклеофільне заміщення зовнішнього атома Оксигену у пероксидній групі пероксомоносульфату, у теперішній час мають лише препаративне значення, а в аналітичному аспекті практично не вивчені, а тому їх хіміко-аналітичне дослідження є, вельми, актуальним. Без сумніву, що з'ясування умов кількісної взаємодії та стехіометрії реакцій різноманітних сульфуровмісних сполук з калій гідрогенпероксомоносульфатом, котрий пропонується використовувати у вигляді стійкої потрійної калійної солі, можуть бути покладені в основу опрацювання нових високочутливих, експресних, простих та вибіркових титриметричних методик кількісного визначення лікарських і/або допоміжних речовин у напівмікроріанті без використання стандартних зразків та особливих умов виконання аналізу.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота Коретнік О.І. виконана на кафедрі фізичної та колоїдної хімії Національного фармацевтичного університету і є складовою частиною держбюджетної теми «Хімічний синтез, виділення та аналіз нових фармакологічно-активних речовин, встановлення зв'язку «структура – дія», створення нових лікарських препаратів» (номер державної реєстрації 198U007011).

**Мета і задачі дослідження.** Удосконалення фармацевтичного аналізу лікарських засобів сульфуровмісних органічних сполук аліфатичного ряду з використанням окисно-відновних реакцій за участю калій гідрогенпероксомоносульфату методом потенціометричного та йодометричного титрування, а також методом непрямой вольтамперометрії.

Для досягнення цієї мети необхідно було вирішити такі задачі:

1. Здійснити порівняльний аналіз методів, рекомендованих вітчизняною та зарубіжною нормативною документацією для кількісного визначення сульфуровмісних органічних сполук аліфатичного ряду (*N*-ацетилцистеїну, *d,l*-метіоніну, *d*(+)-біотину, натрій метамізолу, диметилсульфоксиду), а також неорганічних солей (сульфіту, метабісульфіту) та аскорбінової кислоти, які використовуються як допоміжні речовини у досліджуваних ЛЗ. Критично розглянути методики кількісного визначення зазначених аналітів методом перексоксидометрії та іншими загальновідомими методами, описаними в науковій літературі.

2. Вивести рівняння залежності окисно-відновного потенціалу системи перексомоносульфат/сульфат, вода від рН середовища; здійснити його теоретичну інтерпретацію.

3. З'ясувати кінетичні особливості та стехіометрію процесу S-окиснення *N*-ацетилцистеїну, а також сульфиту (метабісульфіту) та аскорбінової кислоти калій гідрогенперексомоносульфатом в присутності та за відсутності калій йодиду залежно від рН методом йодометричного та окисно-відновного потенціометричного титрування. Розробити методики кількісного визначення *N*-ацетилцистеїну, аскорбінової кислоти, сульфиту (метабісульфіту) методом прямого потенціометричного титрування та оберненого йодометричного титрування з контрольним дослідом за допомогою калій гідрогенперексимоносульфату. Здійснити валідаційну оцінку методики визначення АЦЦ.

4. Встановити кінетичні особливості та стехіометрію реакцій S-окиснення *d,l*-метіоніну, натрій метамізолу, *d*(+)-біотину та диметилсульфоксиду калій гідрогенперексомоносульфатом залежно від рН методом йодометричного титрування. Розробити методики кількісного визначення субстанцій *d,l*-метіоніну, *d*(+)-біотину, натрій метамізолу та диметилсульфоксиду, а також ЛЗ на їх основі методом йодометричного титрування з контрольним дослідом за участю калій гідрогенперексомоносульфату. Здійснити валідаційну оцінку методик визначення *d,l*-метіоніну та *d*(+)-біотину.

5. Опрацювати методики кількісного визначення *d,l*-метіоніну та *d*(+)-біотину в лікарських засобах у вигляді відповідних сульфоксидів, добутих за реакцією з калій гідрогенперексомоносульфатом, методом вольтамперометрії на р.к.е.

6. Здійснити ідентифікацію продуктів окиснення *d,l*-метіоніну та диметилсульфоксиду (диметилсульфон) методами препаративної хімії (сульфоксид *d,l*-метіоніну, сульфон *d,l*-метіоніну) з використанням сучасних фізико-хімічних методів аналізу.

*Об'єкт дослідження* – вивчення кінетичних особливостей та стехіометрії реакцій S-окиснення сульфуровмісних органічних сполук аліфатичного ряду (на прикладі *N*-ацетилцистеїну, *d,l*-метіоніну, натрій метамізолу, *d*(+)-біотину та диметилсульфоксиду) калій гідрогенперексомоносульфатом та розроблення методик їх кількісного визначення.

*Предмет дослідження* – застосування калій гідрогенперексомоносульфату як аналітичного реагента у фармацевтичному аналізі сульфуровмісних органічних сполук аліфатичного ряду на прикладі *N*-ацетилцистеїну, *d,l*-метіоніну, *d*(+)-біотину, натрій метамізолу та диметилсульфоксиду.

**Методи дослідження.** Хімічна кінетика, термодинаміка, потенціометрія, йодометричне титрування, хроматографія, вольтамперометрія, ІЧ-, хроматомас-спектроскопія.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Уперше здійснено термодинамічне виведення рівняння для окисно-відновного потенціалу системи пероксомоносульфат/сульфат, вода з використанням загальних констант утворення протонуваних частинок як функції рН середовища. Здійснений чисельний розрахунок та зроблена його теоретична інтерпретація.

Уперше на прикладі опрацьованих методик послідовного визначення аскорбінової кислоти та АЦЦ (в присутності доданого калій йодиду) у грануляті, а також аскорбінової кислоти та натрій метабісульфіту у розчині для ін'єкцій з використанням ефекту маскування методом потенціометричного титрування за допомогою калій гідрогенпероксомоносульфату теоретично обґрунтована та експериментально доведена можливість здійснення одночасного напівмікровизначення двох сильних відновників при їх сумісній присутності в одній аліквоті розчину проби методом окисно-відновного титрування. Здійснена валідаційна оцінка запропонованої методики визначення АЦЦ.

За даними кінетичних досліджень та ідентифікації продуктів реакції вперше з'ясований механізм S-окиснення *d,l*-метіоніну надлишком калій гідрогенпероксомоносульфату, згідно якого  $\beta$ -Оксиген пероксогрупи електрофільно приєднується до атома Сульфуру субстрата, та запропоновані умови кількісної взаємодії. Знайдені стехіометричні коефіцієнти: в інтервалі рН 4 – 5,6 на 1 моль *d,l*-метіоніну витрачається 1 моль  $\text{KHSO}_5$  (зберігається впродовж 15 хв) і на основі експериментальних даних запропоновані можливі схеми реакцій. Запропонована принципово нова методика здійснення кількісного визначення *d,l*-метіоніну у субстанції та ЛЗ (таблетки) за реакцією з калій гідрогенпероксомоносульфатом методом оберненого йодометричного титрування з контрольним дослідом, котра характеризується експресністю, яка поєднується з простотою виконання та достатньо високою точністю. Здійснена валідаційна оцінка розробленої методики.

За результатами дослідження кінетики взаємодії диметилсульфоксиду з калій гідрогенпероксомоносульфатом в інтервалі рН 4,6 – 10,7 встановлено що реакція підпорядковується кінетичному рівнянню другого порядку, найвища швидкість реакції досягається при рН 9-9,3, яке співпадає з таким значенням оптимального рН середовища самовільного розкладення калій гідрогенпероксоосульфату. Показано, що в лужних розчинах окиснення відбувається за механізмом нуклеофільної атаки SO-групи спряженими основами пероксополуки (головним чином  $\text{SO}_5^{2-}$ -йонами). Запропоновані умови кількісного перебігу аналітичної реакції: при рН 8,5 (фосфатний буферний розчин) за умов <50% надлишку калій гідрогенпероксомоносульфату кількісне окиснення ДМСО досягається за 15 хв. Знайдені стехіометричні коефіцієнти і на основі експериментальних та літературних даних запропоновані можливі схеми реакцій. Як єдиний продукт реакції ідентифіковано диметилсульфон.

За даними дослідження кінетики взаємодії *d*(+)-біотину та натрій метамізолу з калій гідрогенпероксомоносульфатом у кислому середовищі (рН 1,4-1,8)

встановлено, що стехіометричне окиснення відбувається практично миттєво: впродовж 1 хв і зберігається впродовж 15 хв (час спостереження).

Запропоновані невідомі раніше уніфіковані титриметричні методики здійснення кількісного визначення  $d(+)$ -біотину, натрій метамізолу та ДМСО у субстанціях та ЛЗ (таблетки та рідина і гель для зовнішнього застосування відповідно) за реакціями з калій гідрогенпероксомоносульфатом методом оберненого йодометричного титрування з контрольним дослідом, котрі характеризуються експресністю, яка поєднується з простотою виконання та достатньо високою точністю. Здійснена валідаційна оцінка запропонованої методики визначення  $d(+)$ -біотину.

Уперше запропоновано спосіб здійснення кількісного визначення  $d,l$ -метіоніну,  $d(+)$ -біотину в таблетках методом постійнострумової полярографії на р.к.е. у вигляді відповідних сульфоксидів, добутих за допомогою калій гідрогенпероксомоносульфату.

**Практичне значення одержаних результатів.** Знайдені та апробовані робочі умови (рН, природа реагента (власне  $\text{KHSO}_5$  або *in situ* генерований йод для АЦЦ, аскорбінової кислоти, натрій метамізолу), його надлишок, час взаємодії) здійснення кількісного та стехіометричного S-окиснення лікарських сульфуровмісних речовин – *N*-ацетилцистеїну,  $d,l$ -метіоніну, натрій метамізолу (анальгін),  $d(+)$ -біотину (вітаміну Н) та диметилсульфоксиду (димексиду), а також сульфїту (метабісульфїту) та аскорбінової кислоти (вітамін С), котрі застосовують як допоміжні речовини у готових ЛЗ, калій гідрогенпероксомоносульфатом дозволяють стандартизувати виконання випробувань та забезпечити підвищення ефективності контролю якості субстанцій та ЛЗ.

З використанням калій гідроген пероксомоносульфату як аналітичного реагента розроблені уніфіковані методики кількісного визначення сульфуровмісних сполук методом потенціометричного титрування (*N*-ацетил-*L*-цистеїну та аскорбінової кислоти; аскорбінової кислоти та натрій метабісульфїту), методом оберненого йодометричного титрування ( $d,l$ -метіоніну, натрій метамізолу, диметилсульфоксиду,  $d(+)$ -біотину), методом непрямой постійнострумової полярографії ( $d(+)$ -біотину,  $d,l$ -метіоніну) у субстанціях та лікарських препаратах (таблетках, грануляті, розчині для ін'єкцій, розчині та гелі для зовнішнього застосування). Розроблені методики аналізу характеризуються експресністю у поєднанні з простотою виконання, високою чутливістю та вибірковістю. Крім того, відсутня необхідність у використанні токсичних органічних розчинників і стандартних зразків препарату, а також висококоштовного устаткування.

Новоопрацьовані методики кількісного визначення за допомогою калій гідрогенпероксомоносульфату як аналітичного реагента методами потенціометричного та оберненого йодометричного титрування, а також непрямой постійнострумової полярографії дозволяють удосконалити фармацевтичний аналіз лікарських засобів групи сульфуровмісних органічних сполук аліфатичного ряду.

Результати роботи впроваджено у практику Ужгородської прикордонної державної контрольно-токсикологічної лабораторії, приватного підприємства «Аналітик» (м. Ужгород) та у науково-дослідну роботу кафедри токсикологічної та аналітичної хімії Львівського національного медичного університету ім. Данила

Галицького, кафедри токсикологічної та неорганічної хімії Запорізького державного медичного університету.

**Особистий внесок здобувача.** Постановка завдань дослідження зроблена науковим керівником за безпосередньою участю дисертанта. Збір літературних даних, експериментальна робота, аналіз та узагальнення результатів досліджень та безпосереднє написання тексту дисертації зроблені автором самостійно під керівництвом наукового керівника. Вольтамперометричні визначення виконувались спільно з доцентом кафедри аналітичної хімії Львівського національного університету пані Дубенською Л. Й.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення дисертаційної роботи викладені, обговорені та отримали позитивну оцінку на: річній сесії Наукової ради з проблеми „Аналітична хімія” НАН України (Гурзуф, 2010), Всеукраїнській науково-практичній конференції студентів та молодих вчених, присвяч. 140-річчю з дня народження д-ра фармац. та хім. наук., проф. М.О. Валяшка (Харків, 2011), XXXII International Scientific and Practical Conference and the II stage of Research Analytics Championship in physico-mathematical and technical sciences, the III stage of Research Analytics Championship in chemical sciences (London, 2012), III науково-практичному семінарі молодих учених „Прикладні аспекти електрохімічного аналізу” (Львів, 2012), Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів „Актуальні питання створення нових лікарських засобів” (Харків, 2013), Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів „Актуальні питання створення нових лікарських засобів” (Харків, 2014), міжнародній науково-практичній конференції „Медичні науки: напрямки та тенденції розвитку в Україні та світі” (Одеса, 2014), 1<sup>st</sup> International academic conference “Science and education in Australia, America and Eurasia: fundamental and applied science” (Australia, Melbourne, 2014), LXXXV International research and practice conference and II stage of the championship in medicine and pharmaceuticals, biology, veterinary medicine and agriculture (London, 2014).

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 16 праць, з них 7 статей у наукових фахових виданнях, в тому числі – 4 за кордоном, 9 тез доповідей у збірниках матеріалів наукових конференцій.

**Обсяг і структура дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 145 сторінках друкованого тексту, складається зі вступу, огляду літератури, експериментальної частини (розділи 2–6), загальних висновків, списку використаних джерел, що містить 177 найменувань та додатків. Робота ілюстрована 20 таблицями, 24 рисунками та схемами. Обсяг основного тексту – 114 сторінок.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У **вступі** обґрунтована актуальність теми дисертаційної роботи, сформульовані мета та завдання дослідження, показана наукова новизна та практичне значення отриманих результатів.

У **розділі 1** «Калій гідрогенпероксомоносульфат як окисник сульфуровмісних сполук. Аналітичні методи визначення сульфуровмісних лікарських речовин. Застосування реакцій S-окиснення у хімічному аналізі

**(огляд літератури)**» проаналізовано відомості стосовно хімічних та фізико-хімічних властивостей пероксосульфатних кислот. Розглянута кінетика та механізм реакцій окиснення сульфуровмісних сполук аліфатичного ряду пероксидними сполуками. Представлений огляд загальних аналітичних методів кількісного визначення сульфуровмісних лікарських речовин аліфатичного ряду, а також аскорбінової кислоти та натрій метабісульфіту та методи кількісного визначення останніх, заснованих на реакціях окиснення. Зроблено висновок, що використання калій гідрогенпероксомоносульфату як аналітичного реагента убачається вельми перспективним напрямком в практиці фармацевтичного аналізу для удосконалення відомих та опрацювання нових методик кількісного визначення сульфуровмісних речовин у лікарських препаратах.

У розділі 2 «Умови експерименту та методи досліджень» наведені дані щодо випробуваних об'єктів дослідження, робочих стандартних зразків та використаних реактивів, методики приготування та стандартизації вихідних і робочих розчинів; описане обладнання, яке було використане під час виконання роботи, методи та умови здійснення експерименту, описані методи, які використовували для з'ясування механізму взаємодії  $\text{KHSO}_5$  з *d,l*-метіоніном та диметилсульфоксидом. Як аналітичний реагент-окисник використовували калій гідрогенпероксомоносульфат,  $\text{KHSO}_5$  у вигляді потрійної калійної солі кислоти Каро ( $2\text{KHSO}_5 \cdot \text{K}_2\text{SO}_4 \cdot \text{KHSO}_4$ ) – «Оксон<sup>®</sup>». Перевагами запропонованого реагента, які вигідно відрізняють його від запропонованих раніше органічних перокси кислот, є його комерційна доступність, порівняно висока окисаційна здатність ( $E^0=1,82 \text{ В}$ ), достатня розчинність у воді та стійкість як у твердому стані під час зберігання, так і під час застосування у робочих розчинах. Для вимірювання об'єму титранта використовували мікrobюретку 2 класу на 10 мл з точністю  $\pm 0,01$  мл. ІЧ-спектри знімали на спектрофотометрі «Specord M 80». Вольтамперометричні вимірювання здійснювали на цифровій установці у триелектродному електролізері з ртутним краплинним індикаторним електродом у постійно струмовому режимі зі швидкою розгорткою (0,5 В/с). Як електрод порівняння використовували насичений калій хлоридом каломельний електрод (н.к.е.). Під час потенціометричного титрування використовували електродну пару платиновий електрод *ЭПВ-1* – насичений калій хлоридом хлоридосрібний електрод порівняння (*НХСЕ*). Зміну потенціалу реєстрували лабораторним потенціометром «Иономер лабораторный И-130» (Аналітприбор, Гомель).

У розділі 3 «Окисно-відновний потенціал системи пероксомоносульфат/сульфат та його залежність від рН середовища» виведене узагальнене електрохімічне рівняння взаємодії протонуваних частинок окисненої та відновленої форм системи пероксомоносульфат/сульфат та здійснена теоретична інтерпретація залежності окисно-відновного потенціалу системи від рН середовища.

Було виведене через загальні константи утворення (стійкості) протонуваних частинок окисненої  $\text{H}_2\text{SO}_5$  та відновленої  $\text{H}_2\text{SO}_4$  форм системи узагальнене електрохімічне рівняння взаємодії, яке дозволяє врахувати у явному вигляді вклад усіх частинок в процес рівноваги.

При зміні рН розчину змінюється природа хімічних частинок, а відтак, змінюється і вигляд узагальненого електрохімічного рівняння взаємодії, що і



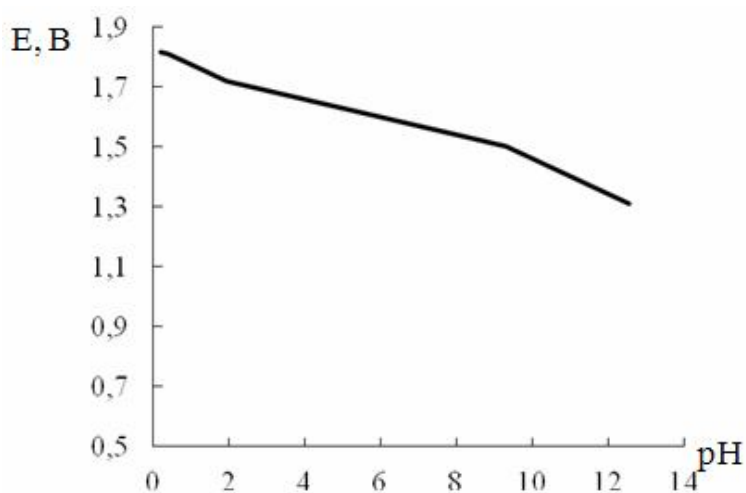


Рис. 1. Залежність окисно-відновного потенціалу від рН середовища системи пероксомоносульфат/сульфат

призводить до залежності  $E$  від  $pH$  (рис. 1).

Зроблено висновок, що залежність  $E$  від  $pH$  обумовлена головним чином двома причинами: по-перше, при зміні  $pH$  змінюється кислотно-основна форма реагуючих частинок внаслідок перебігу реакцій протонування, по-друге, змінюється активність у розчині, власне, самих іонів гідрогену, які безпосередньо беруть участь у окисно-відновній реакції.

У розділі 4 «Опрацювання методик кількісного визначення сульфуровмісних сполук методом потенціометричного титрування за допомогою калій гідрогенпероксомоносульфату» наведені результати вивчення кінетики та стехіометрії реакцій окиснення *N*-ацетил-*L*-цистеїну, аскорбінової кислоти та натрій метабісульфіту калій гідрогенпероксомоносульфатом і/або *in situ* генерованим йодом. Показано, що в умовах потенціометричного визначення реакції перебігають кількісно та стехіометрично: на 1 моль випробуваної речовини (*N*-ацетил-*L*-цистеїну, аскорбінової кислоти) витрачається 1 моль  $KHSO_5$  (рис. 2, 3).

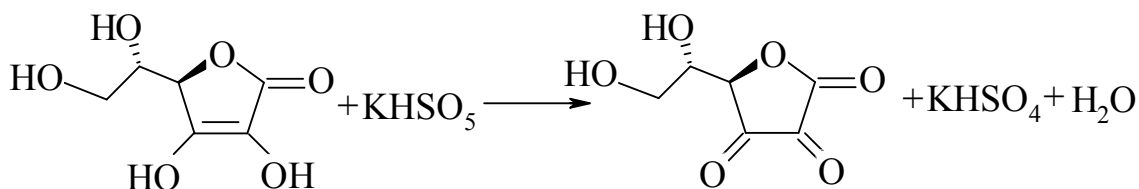


Рис. 2. Схема окиснення аскорбінової кислоти калій гідрогенпероксомоносульфатом

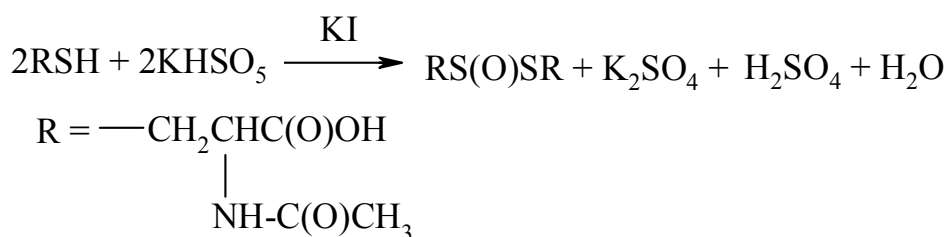


Рис. 3. Схема процесу окиснення АЦЦ при титруванні його  $KHSO_5$

Теоретично обґрунтована та експериментально доведена можливість здійснення одночасного напівмікровизначення двох сильних відновників (аскорбінової кислоти та АЦЦ у грануляті, а також аскорбінової кислоти та натрій метабісульфіту у розчині для ін'єкцій) з використанням ефекту маскування методом

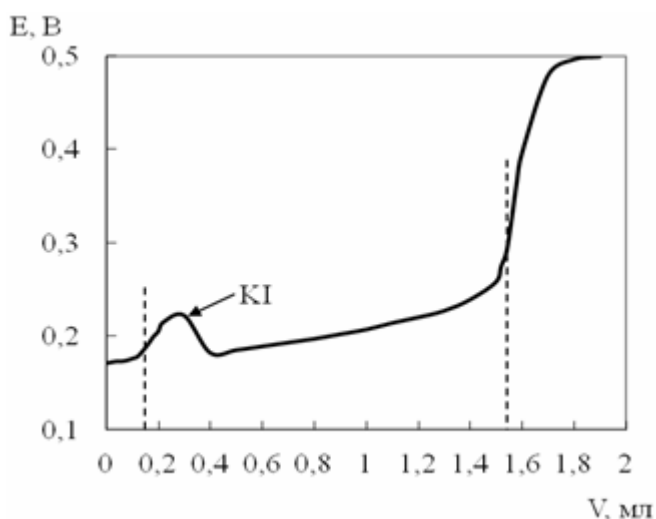


Рис. 4. Потенціограма титрування 2,00 мл розчину АЦЦ 100 (3 г гранулята до 50 мл) 0,02 моль/л  $\text{KHSO}_5$ . рН 4,7

вільний йод (у розчині фактично  $I_3^-$ ), котрий за кімнатної температури і рН 4,7 (фосфатний буфер) кількісно окиснює АЦЦ з утворенням, ймовірно, відповідного тіолсульфінату. Вміст обох компонентів у суміші знаходили за результатами послідовного титрування (аскорбінової кислоти) за відсутності ( $V_{\text{КТТ1}}$ ) та наступного титрування випробуваного розчину у присутності калій йодиду ( $V_{\text{КТТ2}}$ ); вміст АЦЦ відповідав:  $\Delta V = (V_{\text{КТТ2}} - V_{\text{КТТ1}})$ . Титрування безпосередньо генерованим в аналізованому розчині йодом за допомогою досить розбавленого розчину титранта  $\text{KHSO}_5$  дозволяє досягти вищої чутливості визначення АЦЦ і спростити температурні умови, що є неможливим при класичному макровизначенні методом йодиметрії.

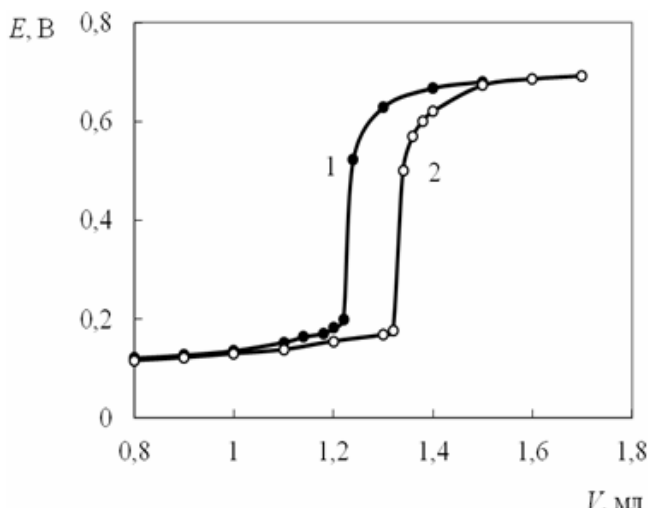


Рис. 5. Потенціограми титрування 2,00 мл розчину для ін'єкцій аскорбінової кислоти (2,00 мл до 50 мл води) 0,02 моль/л  $\text{KHSO}_5$ , рН 4,7 у присутності (1) та за відсутності (2) формальдегіду

потенціометричного титрування за допомогою  $\text{KHSO}_5$  при їх сумісній присутності в одній аликвоті розчину проби.

Експериментально встановлено, що при прямому титруванні робочого розчину грануляту АЦЦ 100 в середовищі фосфатного буферу з рН 4,7 відбувається окиснення лише аскорбінової кислоти (Рис. 4), внаслідок того, що редокс-потенціал останньої нижче, ніж у АЦЦ, а реакція окиснення АЦЦ калій гідрогенпероксомоносульфатом в умовах аналізу кінетично загальмована. Після додавання надлишку калій йодиду останній при взаємодії з  $\text{KHSO}_5$  утворює

Визначення аскорбінової кислоти та натрій метабісульфіту здійснювали методом потенціометричного титрування за допомогою вільного йоду, утвореного *in situ* в реакції йодиду з розбавленим стандартним розчином калій гідрогенпероксомоносульфату. Вміст аскорбінової кислоти знаходили за різницею результатів титрування за відсутності та у присутності формальдегіду (рис. 5). При додаванні розчину формальдегіду до робочого розчину лікарської форми аскорбінової кислоти утворюється формальдегід-бісульфітний комплекс, який за умов аналізу не реагує з  $\text{KHSO}_5$ .

Результати аналізу наведені у табл. 1.

Таблиця 1

**Результати кількісного визначення вмісту АЦЦ і аскорбінової кислоти в грануляті АЦЦ 100, а також аскорбінової кислоти та натрій метабісульфіту у розчині для ін'єкцій методом потенціометричного титрування за допомогою  $\text{KHSO}_5$  ( $n = 5$ ;  $P = 0,95$ )**

Визначувана речовина	$\bar{x}$	S	$S_{\bar{x}}$	$\Delta\bar{x}$	RSD, %	$\varepsilon$ , %	$\delta^*$ , %
Аскорбінова кислота (у грануляті)	0,0124	0,0004	0,0002	0,0005	3,2%	4,0%	
N-ацетил-L-цистеїн	0,1005	0,0006	0,0003	0,0007	0,6%	0,7%	0,3%
Аскорбінова кислота (у розчині для ін'єкцій)	48,51	0,88	0,40	1,10	1,82	2,27	1,10
Натрій метабісульфіт	0,96	0,06	0,027	0,075	6,25	7,77	

Примітка. \*Розрахунок здійснений за даними середнього вмісту, знайденого за допомогою фармакопейної методики

Наведені результати валідації титриметричної методики кількісного визначення вмісту N-ацетил-L-цистеїну за такими валідаційними характеристиками: лінійність, правильність, збіжність, діапазон застосування (табл. 2, 3).

Таблиця 2

**Характеристики лінійної залежності  $Y=bx+a$**

Параметр	Значення	Стандартне відхилення (SD)	Критерій статистичної невизначеності	Критерій практичної прийнятності	Висновок
$a$	0,282	$S_a = 0,59$	$ a  \leq 1,045$		відповідає
$b$	0,9988	$S_b = 0,00585$	$ b-1  \leq 0,104$		відповідає
$S_{rest}$	0,19			$\leq 0,56$	відповідає
R	0,9999			$\geq 0,99959$	відповідає
$r^2$	0,99986			$\geq 0,99917$	відповідає
МВ	1,95				
МКВ	5,91				

Таблиця 3

**Результати аналізу модельних розчинів та результати їх статистичної обробки**

Середнє значення, %	100,17
Відносне стандартне відхилення, %	0,60
Відносний довірчий інтервал, %	1,06
Систематична похибка, %	0,19
Статистична незначимість систематичної похибки $\delta \leq \Delta_R$ $0,19 \leq 0,19$	Виконується
Практична незначимість систематичної похибки $\delta \leq \max\delta$ $0,19 \leq 0,67$	Виконується

Отримані метрологічні характеристики методики не перевищують критерії прийнятності за ДФУ. Отримані результати свідчать про можливість використання новоопрацьованої методики кількісного визначення *N*-ацетил-*L*-цистеїну за допомогою калій гідрогенпероксомоносульфату як аналітичного реагента в умовах контрольно-аналітичних та заводських лабораторій з контролю якості лікарських засобів.

У розділі 5 «Опрацювання методик кількісного визначення сульфуровмісних сполук за допомогою калій гідрогенпероксомоносульфату як аналітичного реагента методом йодометричного титрування» наведені результати вивчення кінетики та стехіометрії реакції *S*-оксидації *d,l*-метіоніну, диметилсульфоксиду (ДМСО), *d*(+)-біотину та натрій метамізолу з використанням як аналітичного реагента калій гідрогенпероксомоносульфату. Представлені розроблені методики кількісного визначення субстанцій *d,l*-метіоніну, натрій метамізолу та диметилсульфоксиду, а також ЛЗ (*d,l*-метіоніну, натрій метамізолу та диметилсульфоксиду, *d*(+)-біотину) на їх основі методом йодометричного титрування з контрольним дослідом за участю  $\text{KHSO}_5$ .

За даними кінетичних досліджень встановлено, що реакція окиснення *d,l*-метіоніну надлишком калій гідрогенпероксомоносульфату відбувається кількісно та стехіометрично: в інтервалі рН 4 – 5,6 на 1 моль *d,l*-метіоніну витрачається 1 моль  $\text{KHSO}_5$  (рис. 6).

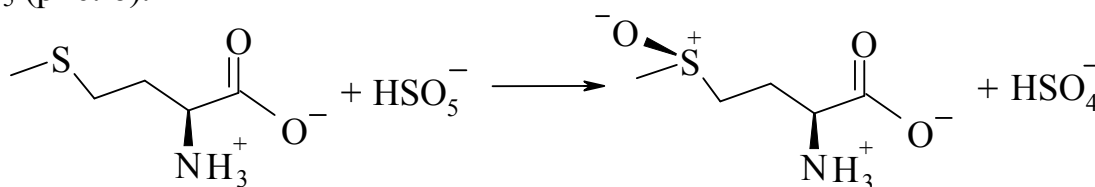


Рис. 6. Схема реакції *S*-оксидації *d,l*-метіоніну калій гідрогенпероксомоносульфатом до відповідного сульфоксиду

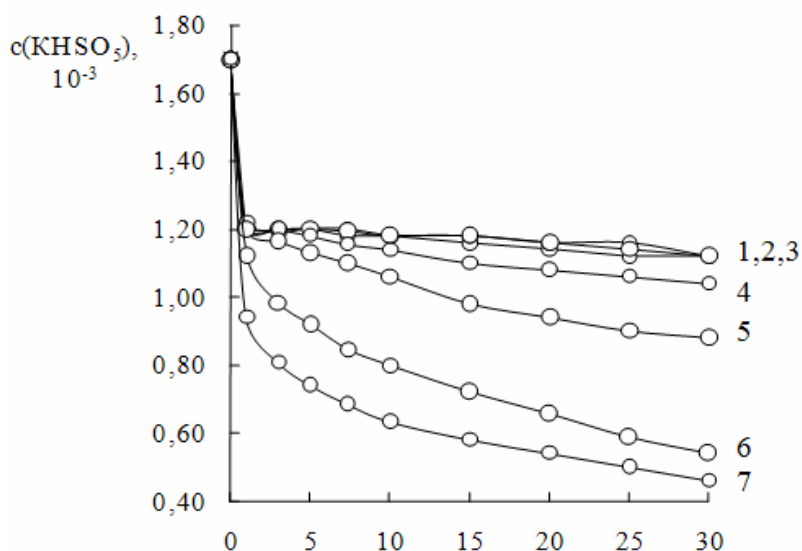
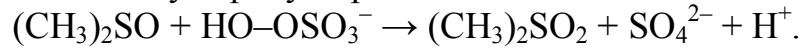


Рис. 7. Кінетичні криві реакції окиснення *d,l*-метіоніну  $\text{KHSO}_5$  залежно від рН середовища.  $c(\text{KHSO}_5) = 1,72 \cdot 10^{-3}$  моль/л;  $c(\text{Met}) = 0,5 \cdot 10^{-3}$  моль/л; рН: 1 – 4,0; 2 – 5,1; 3 – 5,6; 4 – 6,6; 5 – 6,9; 6 – 7,8; 7 – 8,1

За цих умов відбувається окиснення *d,l*-метіоніну до відповідного сульфоксиду практично миттєво (час спостереження 1 хв). Ця стехіометрія реакції зберігається впродовж наступних 10-15 хв. При рН > 6,5 спостерігається помітне подальше окиснення утвореного *d,l*-метіоніну сульфоксиду до відповідного сульфонового похідного (рис.7).

Показано, що реакція *S*-оксидації ДМСО перебігає кількісно та стехіометрично: на 1 моль ДМСО витрачається 1 моль  $\text{KHSO}_5$ . Окиснення

відбувається до відповідного сульфону впродовж 15 хв:



Результати дослідження кінетики взаємодії диметилсульфоксиду з  $\text{KHSO}_5$  в інтервалі рН 4,6 – 10,7 показали (рис. 8), що реакція підпорядковується кінетичному рівнянню другого порядку, найвища швидкість реакції досягається при рН 9-9,3, яке співпадає з таким значенням оптимального рН середовища самовільного розкладення калій гідрогенпероксосульфату у водних розчинах. Зменшення швидкості реакції при рН > 9,3 пояснюється зниженням окисно-відновного потенціалу окисника (див.рис. 1).

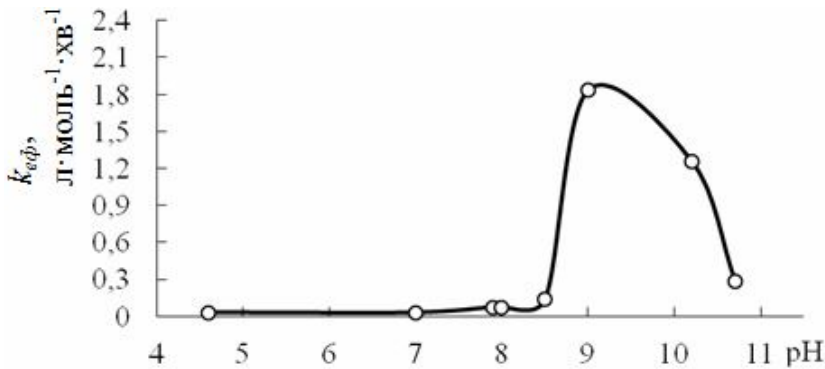


Рис. 8. Залежність ефективної константи швидкості реакції S-окиснення ДМСО калій гідрогенпероксосульфатом від рН середовища.  $c(\text{ДМСО})=1 \cdot 10^{-3}$  моль/л;  $c(\text{KHSO}_5)=3,52 \cdot 10^{-3}$  моль/л

Константи швидкості реакції окиснення розраховували методом найменших квадратів за тангенсом нахилу кінетичних кривих у координатах  $\lg(a-x)/(b-x)$  від часу  $t$ , де,  $a$  і  $b$  – початкові концентрації реагуючих речовин, моль/л, а  $x$  – це концентрація прореагованого  $\text{KHSO}_5$  до моменту часу  $t$  (рис. 8).

У результаті дослідження кінетики взаємодії  $d(+)$ -біотину з калій гідрогенпероксосульфатом у кислому середовищі (рН 1,8) було встановлено, що реакція відбувається практично миттєво: впродовж 1 хвилини. На 1 моль  $d(+)$ -біотину витрачається 1 моль  $\text{KHSO}_5$ .

Анальгін (метамізол-натрій) у кислому середовищі в умовах аналізу (рН 1,2-1,7) швидко і кількісно гідролізує з утворенням монометиламіноантипірину, формальдегіду та гідрогенсульфіт-іонів. Добуті гідрогенсульфіт йони одразу окиснюються кількісно і швидко за допомогою  $\text{KHSO}_5$  (рис. 9).

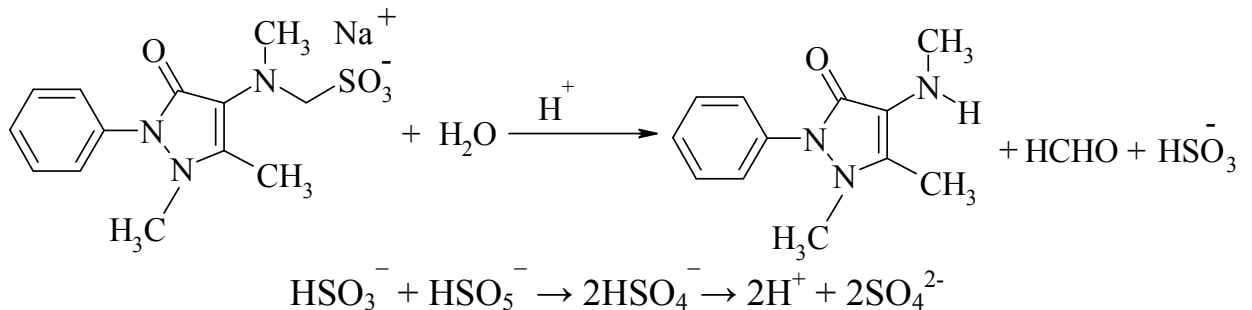


Рис. 9. Схема окиснення натрій метамізолу у кислому середовищі

У результаті взаємодії з 0,1 або 1,0 ммоль анальгину витрачається 0,1 або 1,0 ммоль гідрогенпероксосульфату відповідно, тобто витрачена в реакції кількість окисника, знайдена методом оберненого йодометричного титрування, є еквівалентна

вмісту анальгін у розчині. Результати вивчення стехіометрії реакції показали, що монометиламіноантипін та формальдегід в умовах аналізу (рН 1,2-1,7) виявляють повну інертність стосовно гідрогенпероксимоноссульфату, а також триодид-йонів. Час кислотного-окисаційного розкладення анальгін під дією калій гідрогенпероксимоноссульфату не перевищує 10 хв при 20°C.

Було встановлено, що допоміжні речовини, котрі входять до складу лікарських форм визначуваних речовин не впливають на стехіометрію аналітичної реакції. Результати кількісного визначення вмісту *d,l*-метіоніну, ДМСО, *d(+)*-біотину та натрій метамізолу у субстанції та у лікарських формах наведені в табл. 4.

Таблиця 4

**Результати кількісного визначення вмісту *d,l*-метіоніну, ДМСО, *d(+)*-біотину та натрій метамізолу методом потенціометричного титрування за допомогою  $\text{KHSO}_5$  ( $n = 5$ ;  $P = 0,95$ ).**

Визначувана речовина	$\bar{x}$	S	$S_x$	$\Delta x$	RSD, %	$\epsilon$ , %	$\delta^*$ , %
<i>d,l</i> -метіонін субстанція	100,10%	1,68	0,75	2,09	1,68	2,09	0,30
<i>d,l</i> -метіонін таблетки	0,2480 г	0,0041	0,0018	0,0051	1,65	2,06	0,40
ДМСО субстанція	99,60%	0,89	0,40	1,11	0,90	1,12	-0,25
ДМСО розчин для зовнішнього застосування	99,80%	0,84	0,37	1,04	0,84	1,04	-0,10
ДМСО гель для зовнішнього застосування	240,16 мг/г	2,14	0,96	2,66	0,89	1,11	0,40
<i>d(+)</i> -біотин таблетки	4,94 мг	0,11	0,05	0,13	2,13	2,65	0,41
натрій метамізол субстанція	100,73%	0,88	0,39	1,09	0,87	1,09	0,29
натрій метамізол таблетки	0,5095 г	0,0063	0,0028	0,0078	1,23	1,53	-0,97

Примітка. \*Розрахунок здійснений за даними середнього вмісту, знайденого за допомогою фармакопейної методики

Здійснено ідентифікацію продуктів окиснення *d,l*-метіоніну та диметилсульфоксиду (диметилсульфон) методами препаративної хімії (сульфоксид *d,l*-метіоніну, сульфон *d,l*-метіоніну) з використанням сучасних фізико-хімічних методів аналізу. Доведено, що продуктами реакцій окиснення диметилсульфоксиду є диметилсульфон, а *d,l*-метіоніну – відповідний сульфоксид або сульфон метіоніну (надлишок окисника, рН > 6,5).

Здійснена валідація запропонованих аналітичних методик кількісного визначення вмісту *d,l*-метіоніну та *d(+)*-біотину (рис. 10, 11) за такими валідаційними характеристиками: *лінійність, правильність, збіжність, діапазон застосування.*

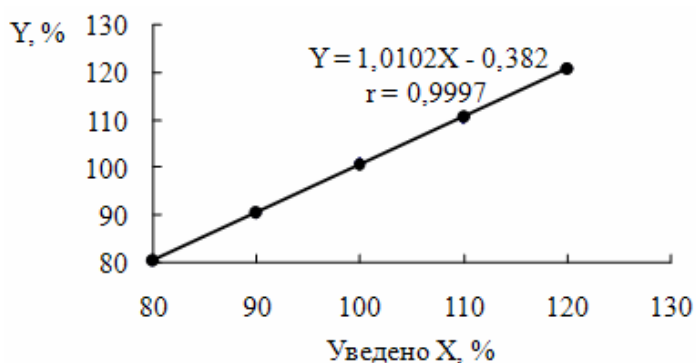


Рис. 10. Графік залежності об'єму титранта від концентрації *d,l*-метіоніну у нормалізованих координатах

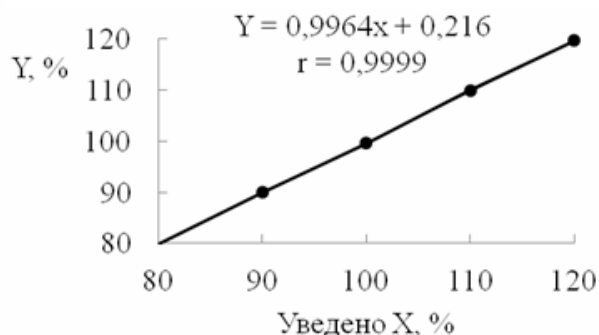


Рис. 11. Графік залежності об'єму титранта від концентрації *d(+)*-біотину у нормалізованих координатах

Отримані метрологічні характеристики методики не перевищують критерії прийнятності за ДФУ. Отримані результати свідчать про можливість використання новоопрацьованих методик кількісного визначення *d,l*-метіоніну та *d(+)*-біотину за допомогою калій гідрогенпероксомоносульфату як аналітичного реагента в умовах контрольно-аналітичних та заводських лабораторій з контролю якості лікарських засобів.

У розділі 6 «Опрацювання методик кількісного визначення сульфуровмісних сполук методом вольтамперометрії» наведені результати вивчення можливості кількісного визначення *d,l*-метіоніну та *d(+)*-біотину у таблетках методом непрямой полярографії після переведення їх у легко відновлювані сполуки – відповідні сульфоксиди – за допомогою калій гідрогенпероксомоносульфату в кислому середовищі.

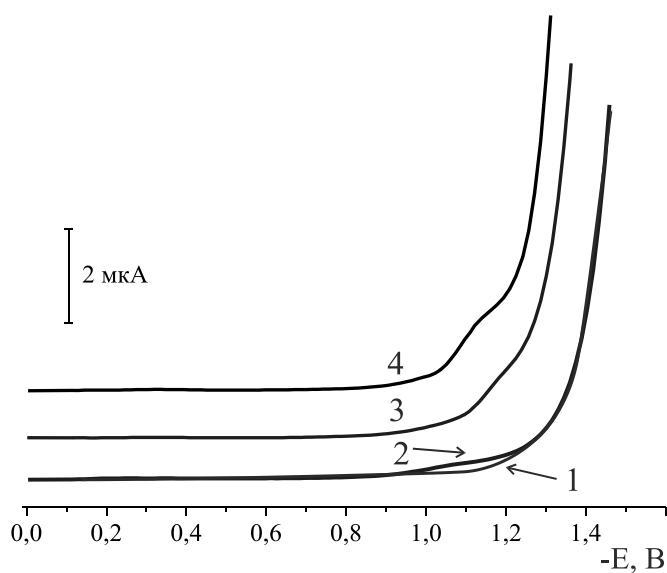


Рис. 12. Вплив рН середовища на висоту полярограми відновлення сульфоксиду *d(+)*-біотину.  $c(\text{Biotin}) = 1 \cdot 10^{-4}$  моль/л. рН: 1,2 – 3,0; 3 – 2,0; 4 – 1,4

Показано, що оптимальним для кількісного окисдування *d(+)*-біотину калій гідрогенпероксомоносульфатом у відповідний сульфоксид є рН 1,4-1,5. У межах від 1,05 до 1,1-разового молярного надлишку  $\text{KHSO}_5$  полярографічні характеристики відновлення сульфоксиду *d(+)*-біотину не змінюються. На полярограмі хвиля відновлення сульфоксиду біотину зі збільшенням рН зміщується у катодну ділянку і при рН>3 хвиля повністю зливається з такою відновлення фонового електроліту (рис.12). Процес відновлення в умовах полярографування повністю необоротний: на анодній гілці полярограми взагалі відсутня хвиля. При рН 1,4 (розчин 0,25 моль/л фосфатної кислоти) на полярограмі пік простежувався при – 1,05.....– 1,1

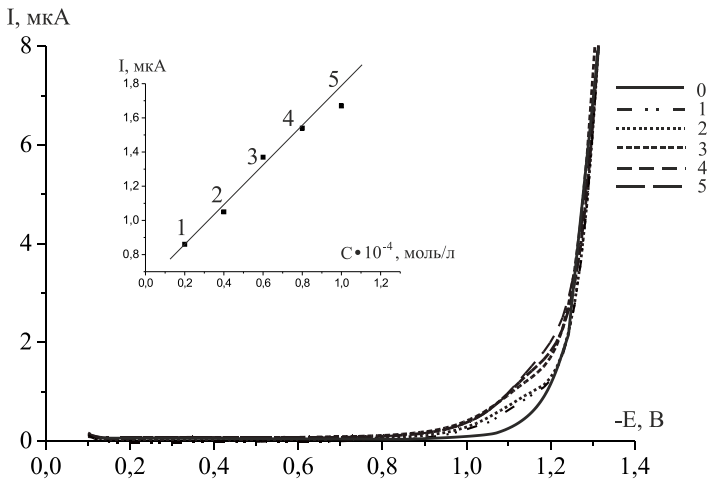


Рис. 13. Концентраційна залежність висоти полярографічної хвилі сульфоксиду біотину. 0,25 моль/л  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (рН 1,4).  $c(\text{Biotin}), 10^{-4}$  моль/л: 0 – 0 (фон); 1 – 0,2; 2 – 0,4; 3 – 0,6; 4 – 0,8; 5 – 1,0

(відносно н.к.е.) залежно від концентрації деполаризатора і був найвищим. За умов достатньо великого надлишку окисника впродовж більше як за 30 хв у слабо кислому середовищі спостерігається подальше окиснення утвореного сульфоксиду  $d(+)$ -біотину до відповідного сульфонового похідного, який за умов полярографування є електрохімічно інертним (відсутність хвилі). На фоні 0,25 моль/л  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (рН 1,4) градувальний графік зберігає лінійний характер:  $I = 1,15 \times 10^4 c + 0,63$ ,  $r = 0,996$  (рис.13).

На циклічній вольтамперограмі потенціал піка відновлення сульфоксиду  $d,l$ -метіоніну (MetO) із збільшенням рН зміщується в катодну ділянку і при рН > 3,5 хвиля повністю зникає (рис.14).

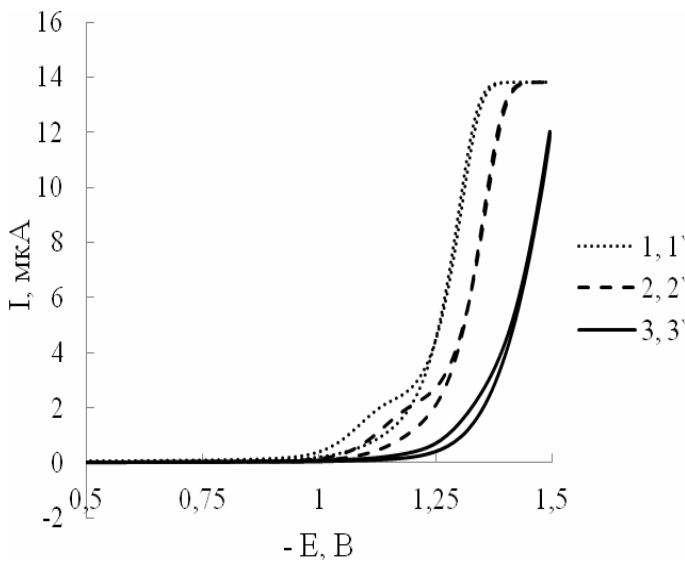


Рис. 14. Циклічні вольтамперограми: катодні – 1, 2, 3 (верхні); 1', 2', 3' – анодні MetO в залежності від рН: 1, 1' – 1,6; 2, 2' – 2,2; 3, 3' – 3,0

Процес відновлення MetO в умовах аналізу повністю незворотний: на анодній гілці полярограми взагалі відсутня хвиля. Струм дифузійної природи:  $\lg I / \lg V$  дорівнює  $0,55 \pm 0,1$ . Тому, для досягнення найбільших струмів відновлення MetO рН суміші після окиснення  $d,l$ -метіоніну (Met) знижували до 1,6, додаючи розчин фосфатної кислоти. При рН 1,6 (розчин 0,2 моль/л  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) на полярограмі пік спостерігався при - 1,1 ... ..- 1,15 (н.к.е.) залежно від концентрації деполаризатора і був максимальний. Показано, що в умовах полярографування надлишок калій гідрогенпероксомоносульфата є

електрохімічно інертним (відсутність катодної хвилі).

За оптимальних умов і 20% молярного надлишку окисника лінійна залежність сили струму відновлення від концентрації  $d,l$ -метіоніну зберігається в інтервалі  $2 \cdot 10^{-5} - 2 \cdot 10^{-4}$  моль/л (рівняння графіка має вигляд:  $I = (19,30 \pm 0,95) \cdot 10^3 c + (0,17 \pm 0,10)$ ,  $r = 0,999$ ) (рис. 15). Результати полярографічного визначення  $d,l$ -метіоніну на трьох рівнях концентрацій у присутності допоміжних речовин представлені в табл. 6.



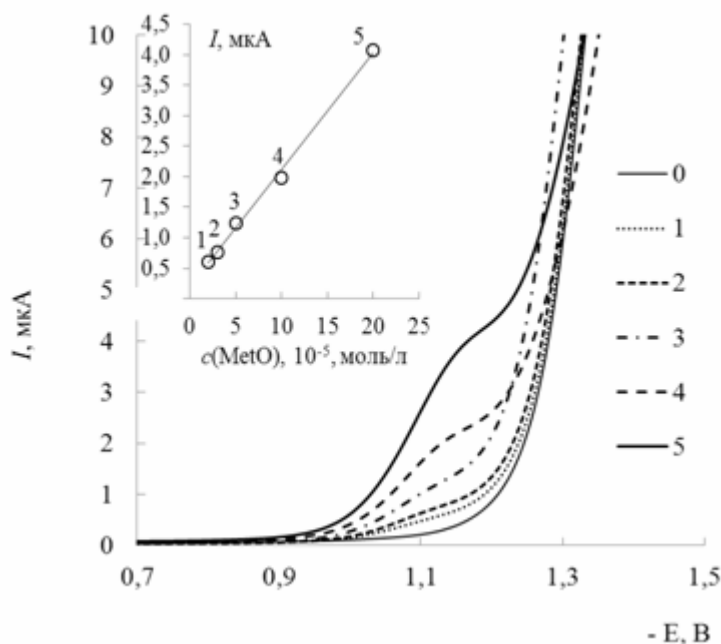


Рис. 15. Залежність величини сили граничного дифузійного струму процесу відновлення MetO на р.к.е. від  $c(\text{MetO})$ . 0,2 моль/л  $\text{H}_3\text{PO}_4$  (рН 1,6);  $V = 0,5$  В/с;  $c(\text{MetO}), 10^{-4}$ , моль/л: 0 – 0; 1 – 0,2; 2 – 0,3; 3 – 0,5; 4 – 1,0; 5 – 2,0

Методом «введено-знайдено» показано відсутність систематичної помилки ( $\delta < \text{RSD}$ ).

Вивчено вплив допоміжних речовин. При визначенні  $d(+)$ -біотину у таблетках по 5 мг  $\text{RSD} < 3\%$ ,  $\delta = 1,3\%$  ( $n=5$ ,  $P=0,95\%$ ). Межа виявлення (LOD) та межа кількісного виявлення (LOQ) дорівнюють  $1,1 \times 10^{-5}$  та  $3,6 \times 10^{-5}$  моль/л відповідно. При визначенні  $d,l$ -метіоніну у таблетках по 0,25 г середнє 98,8 %,  $\text{RSD} < 2\%$  ( $n=7$ ,  $P=0,95\%$ ). Межа виявлення (LOD) і межа кількісного визначення (LOQ) дорівнюють  $5,48 \cdot 10^{-6}$  і  $1,83 \cdot 10^{-5}$  моль/л відповідно. Результати кількісного визначення вмісту  $d,l$ -метіоніну та  $d(+)$ -біотину у таблетках методом непрямої полярографії представлені у табл. 5, 6.

Таблиця 5

#### Результати кількісного визначення $d(+)$ -біотину

Вміст біотину (мг/ табл.)	Знайдено ( $\bar{x} \pm \bar{x}$ )	% $\pm$ RSD	$\delta$ (%)
5,01 (100,29% <sup>+10%</sup> <sub>-10%</sub> )*	5,08 $\pm$ 0,18	101,6 $\pm$ 2,7	1,3

Примітка. \*Задекларований вміст у сертифікаті, знайдений за стандартною фармакопейною методикою

Таблиця 6

#### Результати кількісного визначення $d,l$ -метіоніну

Уведено Met, моль/л	Знайдено Met, моль/л	Метрологічні характеристики ( $n=5$ , $P=0,95$ )
$1,00 \cdot 10^{-4}$	$1,00 \cdot 10^{-4}$ ; $0,985 \cdot 10^{-4}$ $1,00 \cdot 10^{-4}$ ; $1,01 \cdot 10^{-4}$ $1,04 \cdot 10^{-4}$	$\bar{x} = 1,01 \cdot 10^{-4}$ ; $S = 2,11 \cdot 10^{-6}$ ; $S_{\bar{x}} = 7,97 \cdot 10^{-7}$ ; $\Delta \bar{x} = 1,95 \cdot 10^{-6}$ ; $\text{RSD} = 2,09\%$ ; $\varepsilon = 1,93\%$ ( $\delta = 0,94\%$ )
$8,00 \cdot 10^{-5}$	$8,0 \cdot 10^{-5}$ ; $7,8 \cdot 10^{-5}$ $7,95 \cdot 10^{-5}$ ; $8,0 \cdot 10^{-5}$ $8,3 \cdot 10^{-5}$	$\bar{x} = 8,0 \cdot 10^{-5}$ ; $S = 1,79 \cdot 10^{-6}$ ; $S_{\bar{x}} = 6,77 \cdot 10^{-7}$ ; $\Delta \bar{x} = 1,66 \cdot 10^{-6}$ ; $\text{RSD} = 2,24\%$ ; $\varepsilon = 2,07\%$ ( $\delta = 0,15\%$ )
$5,00 \cdot 10^{-5}$	$4,9 \cdot 10^{-5}$ ; $4,7 \cdot 10^{-5}$ $4,9 \cdot 10^{-5}$ ; $4,9 \cdot 10^{-5}$ $5,0 \cdot 10^{-5}$	$\bar{x} = 4,9 \cdot 10^{-5}$ ; $S = 1,29 \cdot 10^{-6}$ ; $S_{\bar{x}} = 4,86 \cdot 10^{-7}$ ; $\Delta \bar{x} = 1,19 \cdot 10^{-6}$ ; $\text{RSD} = 2,63\%$ ; $\varepsilon = 2,43\%$ ( $\delta = -2,07\%$ )

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі розв'язана задача фармацевтичного аналізу – науково обґрунтована та експериментально доведена доцільність застосування калій гідрогенпероксомоносульфату як аналітичного реагента у кількісному фармацевтичному аналізі сульфуровмісних сполук аліфатичного ряду.

1. Здійснений порівняльний аналіз методик, рекомендованих вітчизняною та зарубіжною нормативною документацією для кількісного визначення *N*-ацетилцистеїну, *d,l*-метіоніну, *d*(+)-біотину, натрій метамізолу та диметилсульфоксиду, а також сульфіту (метабісульфіту) та аскорбінової кислоти, які використовуються як допоміжні речовини у досліджуваних ЛЗ.

2. Виведене узагальнене електрохімічне рівняння взаємодії протонуваних частинок окисненої та відновленої форм системи пероксомоносульфат/сульфат та здійснена теоретична інтерпретація залежності окисно-відновного потенціалу системи від рН середовища.

3. З'ясовані кінетичні особливості та стехіометрія процесу S-окиснення *N*-ацетилцистеїну, а також сульфіту (метабісульфіту) та аскорбінової кислоти калій гідрогенпероксомоносульфатом в присутності та за відсутності калій йодиду залежно від рН середовища.

Розроблена методика кількісного визначення *N*-ацетил-*L*-цистеїну і аскорбінової кислоти при їх сумісній присутності в грануляті АЦЦ 100 за однією наважкою методом окисно-відновного потенціометричного титрування безпосередньо генерованим в аналізованому розчині йодом. Межа виявлення (LOD) і нижня межа кількісного визначення (LOQ) АЦЦ і аскорбінової кислоти складають 0,02 мг і 0,06 мг, а також 0,03 мг і 0,1 мг до 20 мл кінцевого об'єму відповідно. Для АЦЦ:  $RSD \leq 0,6\%$ ,  $\delta \leq 0,3\%$ , для аскорбінової кислоти:  $RSD \leq 3,2\%$ .

Здійснена валідаційна оцінка запропонованої методики кількісного визначення вмісту *N*-ацетил-*L*-цистеїну.

Опрацьована методика кількісного визначення аскорбінової кислоти у розчині для ін'єкцій методом окисно-відновного потенціометричного титрування з використанням калій гідрогенпероксомоносульфату як титранта.  $RSD = 0,57\%$  ( $\delta = 0,15\%$ ). Межа виявлення (LOD) та межа кількісного визначення (LOQ) становить 0,01 та 0,1 мг відповідно. Показана можливість одночасного визначення двох сильних відновників при їх сумісній присутності у лікарській формі: аскорбінової кислоти та натрій метабісульфіту. Вміст натрій метабісульфіту становив 0,96 мг/мл.

4. З'ясований механізм S-окиснення *d,l*-метіоніну та диметилсульфоксиду надлишком калій гідрогенпероксомоносульфату: при окисненні *d,l*-метіоніну  $\beta$ -Оксиген пероксогрупи електрофільно приєднується до атома Сульфуру субстрата; в обох випадках процес підпорядковуються кінетичному рівнянню другого порядку; в лужних розчинах окиснення диметилсульфоксиду відбувається за механізмом нуклеофільної атаки SO-групи спряженими основами пероксополуки (головним чином  $SO_5^{2-}$ -йонами).

Встановлено, що *d*(+)-біотин, *d,l*-метіонін, метамізол-натрій та диметилсульфоксид реагують з калій гідрогенпероксомоносульфатом у співвідношенні 1:1; час кількісної взаємодії : 1хв (*d,l*-метіонін, *d*(+)-біотин), 10 хв

(метамізол-натрій) та 15хв (диметилсульфоксид); опрацьовані уніфіковані методики та показана можливість їх кількісного визначення у субстанціях та лікарських формах методом йодометричного титрування ( $RSD = 2,13$ ;  $\delta = 0,41\%$  ( $d(+)$ -біотин);  $RSD \leq 1,68$ ;  $\delta = +0,3..0,4\%$  ( $d,l$ -метіонін);  $RSD \leq 1,23$ ;  $\delta = +0,29..-0,97\%$  (метамізол-натрій);  $RSD \leq 0,90$ ;  $\delta = - 0,25..0,4\%$  ( диметилсульфоксид). МКВ=0,01 мг. Здійснена валідаційна оцінка запропонованих методик кількісного визначення вмісту  $d,l$ -метіоніну та  $d(+)$ -біотину. Отримані метрологічні характеристики методики не перевищують критерії прийнятності за ДФУ.

5. Опрацьовані методики та показана можливість кількісного визначення  $d(+)$ -біотину та  $d,l$ -метіоніну у таблетках методом полярографії у вигляді відповідних сульфоксидів, добутих за допомогою калій гідрогенпероксомоносульфату, з МКВ (LOQ)  $1,83 \cdot 10^{-5}$  та  $3,6 \times 10^{-5}$  та моль/л відповідно ( $RSD \leq 3\%$  ( $n=5-7$ ,  $P=0,95\%$ )).

6. Методами препаративної хімії з використанням сучасних фізико-хімічних методів аналізу здійснена ідентифікація продуктів окиснення  $d,l$ -метіоніну та диметилсульфоксиду пероксомоносульфатом. Доведено, що продуктами реакцій S-окиснення диметилсульфоксиду є відповідний диметилсульфон, а  $d,l$ -метіоніну – сульфоксид  $d,l$ -метіоніну ( $pH \leq 5,6$ ) або сульфон  $d,l$ -метіоніну ( $pH \geq 8,3$ , достатній надлишок окисника).

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Models and methods of solving formal and applied scientific issues in physico-mathematical, technical and chemical research: materials digest of the XXXII International Scientific and Practical Conference and the II stage of Research Analytics Championship in physico-mathematical and technical sciences, the III stage of Research Analytics Championship in chemical sciences (London, September 20–25, 2012) / International Academy of Sciences and Higher Education. – London: IASHE, 2012. – P. 122–125. (*Особистий внесок* – здійснення експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, оформлення статті).

2. Блажеєвський М.Є. Окисно-відновний потенціал системи пероксомоносульфат/сульфат та його залежність від pH середовища / М.Є. Блажеєвський, О.І. Коретнік // Праці наукового товариства ім. Шевченка. Хімія і біохімія. – Т. 33. – Львів, 2013. – С. 28–34. (*Особистий внесок* – здійснення експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, оформлення статті).

3. Блажеєвський М.Є. Йодометричне визначення метіоніну за реакцією з калій гідрогенпероксомоносульфату / М.Є. Блажеєвський, О.І. Коретнік // Український медичний альманах. – 2014. – Т. 17, № 3. – С. 3–6. (*Особистий внесок* – здійснення експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, оформлення статті).

4. Proceedings of the 1st International Academic Conference “Science and Education in Australia, America and Eurasia: Fundamental and Applied Science” (Australia, Melbourne, 25 June 2014). Volume I. “Melbourne IADCES Press”. Melbourne, 2014. – 692 p. (*Особистий внесок* – здійснення експериментальних

досліджень, аналіз та узагальнення результатів, оформлення статті).

5. Life and social programs of biological organisms' existence quality development. Peer-reviewed materials digest (collective monograph) published following the results of the LXXXV International Research and Practice Conference and II stage of the Championship in Medicine and Pharmaceutics, Biology, Veterinary Medicine and Agriculture. (London, July 24–29, 2014) / International Academy of Science and Higher Education. – London: IASHE, 2014. – P. 49–52. (*Особистий внесок – здійснення експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, оформлення статті*).

6. Блажеєвський Н. Е. Полумикроопределение N-ацетил-L-цистеина и аскорбиновой кислоты в препарате АЦЦ 100 методом потенциометрического титрования с помощью гидропероксомоносульфата калия / Н. Е. Блажеєвський, О. И. Коретник // Рецепт. – Минск, 2014. – № 4. – С. 49–57. (*Особистий внесок – здійснення експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, оформлення статті*).

7. Блажеєвський М.Є. Йодометричне визначення  $d(+)$ -біотину за реакцією з калій гідрогенпероксомоносульфатом / М.Є. Блажеєвський, О.І. Коретник // Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. – 2014. – Т. 38, № 6. – С. 29–35. (*Особистий внесок – здійснення експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, оформлення статті*).

8. Блажеєвський Н.Е. Йодометрическое определение диметилсульфоксида по реакции с гидропероксомоносульфатом калия / Н.Е. Блажеєвський, О.И. Коретник, Э.Ю. Ахмедов // Азербайджанский фармацевтический и фармакотерапевтический журнал. – 2014. – № 2. – С. 15–20. (*Особистий внесок – здійснення експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, оформлення статті*).

9. Блажеєвський Н.Е. Вольтамперометрическое определение  $d(+)$ -биотина в лекарственных средствах в виде соответствующего сульфоксида / Н.Е. Блажеєвський, О.И. Коретник // Вестник фармации. – 2015. – Т. 67, № 1. – С. 57–63. (*Особистий внесок – здійснення експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, оформлення статті*).

10. Пат. на кор. мод. № 98814 Україна, МПК 2015 01 А 61 К 31 / 00 Спосіб кількісного визначення біотину / Блажеєвський М.Є., Коретник О.І. – № u 2014 12114; заявл. 10.11.2014; опубл. 12.05.2015, Бюл. № 9. (*Особистий внесок – здійснення патентного пошуку, експериментальна частина, статистична обробка результатів, обґрунтування формули корисної моделі*).

11. Єркович О.І. Калій кароат як аналітичний реагент на метіонін / О.І. Єркович, М.Є. Блажеєвський // Тези доповідей. Річна сесія НАН України з проблеми „Аналітична хімія”. 17-23 травня 2010 р. – Гурзуф: Видавець А.В. Лазаренко. – 2010. – С. 65.

12. Коретник О.І. Застосування калій кароату як реагента в аналізі очних крапель екстемпорального виготовлення / О.І. Коретник, М.Є. Блажеєвський // Актуальні питання створення нових лікарських засобів: матер. Всеукр. наук.-практ. конф. студ. та мол. вчених, присвяч. 140-річчю з дня народження д-ра фармац. та хім. наук., проф. М.О. Валяшка (21 квітня 2011 р.). – Харків: НФаУ, 2011. – С. 152.

13. Блажеєвський М.Є. Залежність окисно-відновного потенціалу від рН середовища системи пероксомоносульфат/сульфат / М.Є. Блажеєвський, О.І. Коретнік // Тези доповідей. Річна сесія наукової ради з проблеми „Аналітична хімія” НАН України. 3-10 червня 2012 р. Гурзуф. – 2012. – С. 14.

14. Блажеєвський М.Є. Залежність окисно-відновного потенціалу від рН середовища системи пероксомоносульфат/сульфат / М.Є. Блажеєвський, О.І. Коретнік // III науково-практич. семінар молодих учених „Прикладні аспекти електрохімічного аналізу”. 3-5 жовтня 2012р. – Львів. – 2012. – С. 27

15. Koretnik O.I. Determination of methionine by reaction with potassium hydrogenperoxomonosulphate / O.I. Koretnik, M.Ye. Blazhejevskiy // Actual questions of development of new drugs: Abstracts of XX international scientific and practical conference of young scientists and students (April 25-26, 2013). – Kh.: Publishing office, 2013. – P. 85.

16. Блажеєвський М.Є. Кількісне визначення метіоніну у таблетках по 0,25 г за реакцією з калій гідрогенпероксомоносульфатом / М.Є. Блажеєвський, О.І. Коретнік // Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2013. – 406 с.

17. Blazhejevskiy M.Y. Application of peroxomonosulfate as reagent for microdetermination of vitamin c. Potentiometric determination of vitamin c in the presence of sulphite / Blazhejevskiy M.Y., Koretnik O.I. // Actual questions of development of new drugs, conf. april 22–23, 2014. – Kh., NUPh, 2014. – P. 65.

18. Медичні науки: напрямки та тенденції розвитку в Україні та світі: Матеріали міжнародної науково-практичної конференції (м. Одеса, 23-24 травня 2014 року). – Одеса: ГО «Південна фундація медицини», 2014. – 104 с.

19. Нове у медицині сучасного світу: збірник тез наукових робіт учасників міжнародної науково-практичної конференції (м. Львів, 28-29 листопада 2014 року). – Львів: ГО «Львівська медична спільнота», 2014. – Ч. II. – 116 с.

## АНОТАЦІЯ

**Коретнік О.І. Застосування реакцій сульфуровмісних сполук з калій гідрогенпероксомоносульфатом у фармацевтичному аналізі. – На правах рукопису.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія. Національний фармацевтичний університет, Харків, 2015.

Робота присвячена опрацюванню нових методик кількісного визначення сульфуровмісних сполук, а також аскорбінової кислоти з використанням нового аналітичного реагента – калій гідрогенпероксомоносульфату ( $\text{KHSO}_5$ ) у вигляді  $2\text{KHSO}_5 \cdot \text{KHSO}_4 \cdot \text{K}_2\text{SO}_4$ .

Уперше здійснено виведення рівняння для окисно-відновного потенціалу системи пероксомоносульфат/сульфат, вода з використанням загальних констант утворення протонуваних частинок як функції рН середовища. Здійснений чисельний розрахунок та зроблена його теоретична інтерпретація.

Запропоновані нові уніфіковані титриметричні методики здійснення кількісного визначення *d,l*-метіоніну, *d*(+)-біотину, натрій метамізолу та ДМСО у субстанціях та ЛЗ за реакціями з  $\text{KHSO}_5$  методом оберненого йодометричного титрування, котрі характеризуються експресністю, простотою виконання та високою точністю. Здійснена валідаційна оцінка розроблених методик. Уперше на прикладі опрацьованих методик визначення аскорбінової кислоти та АЦЦ у грануляті, а також аскорбінової кислоти та натрій метабісульфіту у розчині для ін'єкцій з використанням ефекту маскування методом потенціометричного титрування за допомогою  $\text{KHSO}_5$  теоретично обґрунтована та експериментально доведена можливість здійснення напівмікровизначення двох сильних відновників при їх сумісній присутності в одній аліквоті розчину проби методом окисно-відновного титрування. Запропоновано спосіб здійснення кількісного визначення *d,l*-метіоніну та *d*(+)-біотину в пігулках методом постійнострумової полярографії на р.к.е. у вигляді відповідних сульфоксидів, добутих за допомогою  $\text{KHSO}_5$ .

*Ключові слова:* сульфуровмісні сполуки (*N*-ацетил-*L*-цистеїн, *d,l*-метіонін, натрій метамізол, *d*(+)-біотин, диметилсульфоксид та натрій метабісульфіт), калій гідрогенпероксомоносульфат (калій кароат) як окисник, *S*-окиснення, йодометрія, потенціометрія, вольтамперометрія.

## АННОТАЦІЯ

**Коретник О.И. Применение реакций серосодержащих соединений с гидропероксомоносульфатом калия в фармацевтическом анализе. – На правах рукописи.**

Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия. Национальный фармацевтический университет, Харьков, 2015.

Работа посвящена разработке новых методик количественного определения серосодержащих соединений, а также аскорбиновой кислоты и метабисульфита натрия с использованием нового аналитического реагента – гидропероксомоносульфата калия ( $\text{KHSO}_5$ ) в виде  $2\text{KHSO}_5 \cdot \text{KHSO}_4 \cdot \text{K}_2\text{SO}_4$ .

Выведено термодинамическое уравнение для окислительно-восстановительного потенциала системы пероксомоносульфат / сульфат, вода с использованием общих констант образования протонированных частиц как функции рН среды. Осуществлен численный расчет и сделана его теоретическая интерпретация.

Найдены и апробированы рабочие условия (рН среды, природа реагента (собственно  $\text{KHSO}_5$  или *in situ* генерированный йод для АЦЦ, аскорбиновой кислоты, метамизола натрия), его избыток, время взаимодействия) осуществления количественного и стехиометрического *S*-окисления лекарственных серосодержащих соединений – *N*-ацетилцистеина, *d,l*-метионина, метамизола натрия, *d*(+)-биотина и диметилсульфоксида, а также метабисульфита натрия и аскорбиновой кислоты, которые применяют как вспомогательные вещества в готовых ЛС, гидропероксомоносульфатом калия.

Результаты кинетических исследований показали, что реакции окисления серосодержащих соединений, а также аскорбиновой кислоты и метабисульфата гидропероксомоносульфата калия протекают количественно и стехеометрически.

Разработаны унифицированные методики количественного определения *N*-ацетил-*L*-цистеина (*in situ* генерированным йодом) и аскорбиновой кислоты при их совместном присутствии в грануляте АЦЦ 100, а также аскорбиновой кислоты в растворе для инъекций (в присутствии заранее добавленного калий йодида и маскирования сульфита формальдегидом в отдельном опыте). Предложенные методики характеризуются простотой и быстротой выполнения, высокой чувствительностью и избирательностью, удовлетворительными воспроизводимостью и правильностью результатов.  $RSD \leq 3,2\%$  ( $\delta \leq 0,3\%$ ) и  $RSD \leq 0,57\%$  ( $\delta \leq 0,15\%$ ) для гранулята и раствора для инъекций соответственно.

По реакции *S*-окисления с использованием как аналитического реагента гидропероксомоносульфата калия методом обратного йодометрического титрования с контрольным опытом предложены новые методики количественного определения содержания основного вещества в субстанциях и препаратах *d,l*-метионина ( $RSD \leq 1,68$ ,  $\delta = +0,3..0,4\%$ ); метамизола натрия ( $RSD \leq 1,23$ ,  $\delta = +0,29..-0,97\%$ ); диметилсульфоксида ( $RSD \leq 0,90$ ,  $\delta = -0,25..0,4\%$ ); *d*(+)-биотина ( $RSD = 2,13$ ,  $\delta = 0,41\%$ ).

Осуществлена валидация тетриметрических методик количественного определения *d,l*-метионина, *d*(+)-биотина и *N*-ацетил-*L*-цистеина с помощью гидропероксомоносульфата калия по таким валидационным показателям: правильность, сходимость, линейность и диапазон применения. Полученные данные соответствуют критериям приемлемости Государственной фармакопеи Украины.

Предложен новый способ осуществления количественного определения *d,l*-метионина, *d*(+)-биотина в таблетках методом постоянноточковой полярографии на р.к.э. в виде соответствующих сульфоксидов, полученных с помощью гидропероксомоносульфата калия. При определении *d*(+)-биотина:  $RSD < 3\%$ ,  $\delta = 1,3\%$  ( $n=5$ ,  $P=0,95\%$ ),  $LOD = 1,1 \times 10^{-5}$  моль/л,  $LOQ = 3,6 \times 10^{-5}$  моль/л; *d,l*-метионина  $RSD < 2\%$  ( $n=7$ ,  $P=0,95\%$ ),  $LOD = 5,48 \cdot 10^{-6}$  моль/л,  $LOQ = 1,83 \cdot 10^{-5}$  моль/л.

**Ключевые слова:** серосодержащие соединения (*N*-ацетил-*L*-цистеин, *d,l*-метионин, метамизол натрия, *d*(+)-биотин, диметилсульфоксид и метабисульфит натрия), гидропероксомоносульфат калия (кароат калия) как окислитель, *S*-окисление, йодометрия, потенциометрия, вольтамперометрия.

## SUMMARY

**Koretnik O.I. Application of reactions of sulfur-containing compounds with potassium hydrogenperoxosulphate in pharmaceutical analysis. - Manuscript.**

Thesis for a Candidate degree in Pharmaceutical sciences, speciality 15.00.02 – Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy. – National University of Pharmacy. – Kharkiv, 2015.

The work is dedicated to the developing of new methods of assay of sulfur-containing compounds and ascorbic acid using new analytical reagent – potassium

hydrogenperoxomosulphate ( $\text{KHSO}_5$ ) as  $2\text{KHSO}_5 \cdot \text{KHSO}_4 \cdot \text{K}_2\text{SO}_4$ .

Summary equation of formal redox potential of peroxomonosulphate/sulphate ox-red-system using general constants of formation of protonated particles as a function of pH was expressed and its theoretical interpretation was performed.

New unified titrimetric methods of quantitative determination of *d,l*-methionine, *d*(+)-biotin, sodium metamizol, DMSO in pure substance and preparation by reactions with  $\text{KHSO}_5$  using iodometric titration method were proposed. Iodometric methods for the determination of *d,l*-methionine, *d*(+)-biotin were validated. Methods sequential determination of ascorbic acid and ACC in granules and ascorbic acid and sodium metabisulfite in solution for injection using the masking effect by potentiometric titration with  $\text{KHSO}_5$  were proposed. The possibility of semimicrodetermination of two strong reducing agents at their joint presence in one aliquot sample solution by redox titration was theoretically proved and experimentally demonstrated. A way of quantitative determination of *d,l*-methionine and *d*(+)-biotin in tablets by indirect voltammetry in the corresponding sulfoxides extracted using  $\text{KHSO}_5$  was proposed.

*Key words:* sulfur-containing compounds (*N*-acetyl-*L*-cysteine, *d,l*-methionine, sodium metamizol, *d*(+)-biotin, sodium metabisulphite and dimethylsulfoxide) potassium hydrogenperoxomosulphate as oxidant, *S*-oxidation, iodometry, potentiometry, voltammetry.