

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

УДК 615.065:54.061/.062:547.712.22:001.8

РОЗРОБКА МЕТОДІВ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ФЛУВОКСАМІНУ

С.В.Баюрка

Національний фармацевтичний університет

Розроблено методики УФ-спектрофотометричного та екстракційно-фотоколориметричного визначення флувоксаміну за реакцією з кислотним азобарвником метиловим оранжевим.

Флувоксамін ((*E*)-5-метокси-1-[4-(трифторметил)феніл]-1-пентанон-О-(2-аміноетил)оксиму малеат) — антидепресант, який знайшов широке застосування в сучасній медичній практиці [3, 4]. Згідно з літературними даними [6, 9, 10, 11, 12, 14] вказаний антидепресант неодноразово був причиною гострих та смертельних отруєнь.

Для кількісного аналізу флувоксаміну в біологічних об'єктах запропоновані методи газорідної та вискоефективної рідинної хроматографії [9]. Опрацьовано також високочутливі методики визначення зазначеного антидепресанта за допомогою поєднання рідинної хроматографії з мас-спектрометрією (РХ-МС) [13], рідинної хроматографії з тандемною мас-спектрометрією (РХ-МС/МС) [8], при цьому нижні межі визначення становили, відповідно, 0,1 мкг/мл та 10 мкг/мл. Метод капілярного електрофорезу застосовано для кількісного аналізу флувоксаміну в грудному молоці; градувальний графік був лінійним у межах концентрацій від 50 до 500 нг/мл [7]. Перелічені вище методи потребують спеціального дорогого обладнання, що робить їх малодоступними.

Метою нашого дослідження була розробка методик кількісного визначення флувоксаміну за допомогою простих, доступних та загальновізних методик хіміко-токсикологічного аналізу [2, 9]: УФ-спектрофотометрії та екстракційної фотоколориметрії.

Матеріали та методи

УФ-спектри абсорбції флувоксаміну малеату в 0,1 М розчині кислоти хлоридної знімали на спектрофотометрі СФ-46 у діапазоні довжин хвиль 200-350 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм; як розчин порівняння використовували 0,1 М розчин кислоти хлоридної. Максимум абсорбції флувоксаміну спостерігали при довжині хвилі 248 нм (рис.). У подальшому абсорбцію при вказаній довжині хвилі використовували для УФ-спектрофотометричного визначення флувоксаміну.

Методика побудови градувального графіка для УФ-спектрофотометричного визначення флувоксаміну малеату

Розчини 1-9 флувоксаміну малеату готували наступним чином: 0,0050 г досліджуваної речовини вносили в мірну колбу місткістю 100 мл, розчиняли у 0,1 М розчині кислоти хлоридної та доводили об'єм розчину до мітки вказаним розчином кислоти (стандартний розчин з концентрацією 50 мкг/мл). У мірні колби місткістю 10 мл вносили 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0 та 9,0 мл стандартного розчину флувоксаміну і доводили об'єми розчинів до мітки 0,1 М розчином кислоти хлоридної (розчини 1-9 відповідно, концентрація — 5,0; 10,0; 15,0; 20,0; 25,0; 30,0; 35,0; 40,0 та 45,0 мкг/мл). Вимірювали оптичну густину і будували графік залежності оптичної густини від концентрації.

Методика побудови градувального графіка для екстракційно-фотоколориметричного визначення флувоксаміну малеату

Флувоксаміну малеат (0,0250 г) вносили в мірну колбу місткістю 100 мл, розчиняли у хлороформі та доводили об'єм розчину до мітки вказаним розчинником (стандартний розчин з концентрацією 250 мкг/мл). У мірні колби місткістю 10 мл вносили по 0,6; 1,2; 1,8; 2,4; 3,6; 4,8; 6,0; 7,2; 8,4 та 9,6 мл стандартного розчину флувоксаміну малеату відповідно (розчини 1-10).

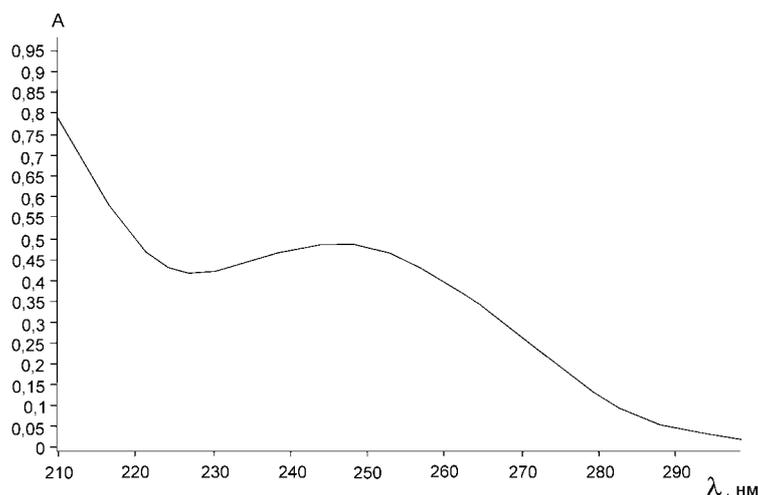
У ділильну лійку вносили 5,0 мл ацетатного буферного розчину з рН 4,6, 5,0 мл 0,05% розчину метилового оранжевого та по 1 мл розчинів 1-10 відповідно. До отриманої суміші додавали 15 мл хлороформу. Далі чинили так, як описано для екстракційно-фотоколориметричного визначення амітриптиліну [1].

Результати та їх обговорення

Для розрахунку вмісту флувоксаміну в модельних розчинах УФ-спектрофотометричним методом використовували градувальний графік або рівняння (1), що відповідало лінійній регресії загального виду $y = b'x$ та мало наступний вигляд:

$$A = 0,0226 \cdot C, \quad (1)$$

де: А — оптична густина; С — концентрація розчину флувоксаміну малеату, мкг/мл.

Рис. УФ-спектр світлопоглинання флувоксаміну малеату в 0,1 М розчині кислоти хлоридної (концентрація $5 \cdot 10^{-5}$ моль/л).

Таблиця 1

Метрологічні характеристики градувальної залежності оптичної густини від вмісту флувоксаміну малеату ($y = b'x$), отриманої УФ-спектрофотометричним методом

r	b	S ²	Δb
0,99925	0,0226	$2 \cdot 10^{-4}$	0,0002

Попередньо за методом найменших квадратів [5] було розраховано значення параметрів a та b для лінійної регресії загального виду $y = bx + a$. Після перевірки значущості параметра a [5] було зроблено висновок про можливість переходу до рівняння виду $y = b'x$. Значення критерію Фішера розраховане ($F_{\text{розрах}}$) виявилось меншим, ніж табличне значення відповідної величини ($F_{\text{табл}}(P; f_1; f_2)$): $F = 1,996$; $F_{\text{табл}}(0,95; 20; 21) = 2,10$. Метрологічні характеристики отриманої градувальної залежності наведені в табл. 1.

Світлопоглинання розчинів флувоксаміну підлягало закону Бугера-Ламберта-Бера в межах концентрацій від 5 до 50 мкг препарату в 1 мл розчину. Результати кількісного визначення флувоксамі-

Таблиця 2

Результати УФ-спектрофотометричного визначення флувоксаміну в модельних розчинах

Взято флувоксаміну, мкг	Оптична густина	Знайдено флувоксаміну		Метрологічні характеристики
		мкг	%	
5	0,108	4,8	96,0	$\bar{X} = 99,0$ $S = 1,81$ $S_{\bar{X}} = 0,68$ $\Delta\bar{X} = 1,7$ $\varepsilon = 1,7$ $\bar{X} \pm \Delta\bar{X} = 99,0 \pm 1,7$
10	0,221	9,8	98,0	
15	0,337	14,9	99,3	
20	0,445	19,7	98,5	
30	0,687	30,2	100,6	
40	0,895	39,6	99,0	
50	1,148	50,8	101,6	

Таблиця 3

Метрологічні характеристики градувальної залежності оптичної густини від вмісту флувоксаміну малеату ($y = bx + a$), одержані екстракційно-фотоколориметричним методом

r	b	a	S ²	Δb	Δa
0,99985	0,00421	0,01	$3 \cdot 10^{-5}$	0,00003	0,005

ну малеату в модельних розчинах, отримані за допомогою розробленої методики, наведені в табл. 2. Відносна невизначеність середнього результату становила $\pm 1,7\%$.

Для розрахунку вмісту флувоксаміну в модельних розчинах екстракційно-фотоколориметричним методом використовували градувальний графік або рівняння (2), що відповідало лінійній регресії загального виду $y = bx + a$ та мало наступний вигляд:

$$A = 0,00421 \cdot C + 0,01, \quad (2)$$

де: A — оптична густина; C — концентрація розчину флувоксаміну малеату, мкг у пробі.

Таблиця 4

Результати екстракційно-фотоколориметричного визначення флувоксаміну за реакцією утворення іонного асоціату з метиловим оранжевим у модельних розчинах

Взято флувоксаміну, мкг	Оптична густина	Знайдено флувоксаміну		Метрологічні характеристики
		мкг	%	
20	0,089	18,8	94,0	$\bar{X} = 98,4$ $S = 2,86$ $S_{\bar{X}} = 1,08$ $\Delta\bar{X} = 2,6$ $\varepsilon = 2,6$ $\bar{X} \pm \Delta\bar{X} = 98,4 \pm 2,6$
40	0,172	38,5	96,3	
60	0,268	61,3	102,2	
100	0,422	97,8	97,8	
140	0,593	138,5	98,9	
180	0,780	182,9	101,6	
220	0,920	216,1	98,2	

Після перевірки значущості параметра a у рівнянні (2) [5] було зроблено висновок про неможливість переходу до рівняння виду $y = b'x$. Метрологічні характеристики отриманої градуовальної залежності наведені в табл. 3.

Світлопоглинання розчинів підлягало закону Бугера-Ламберта-Бера в межах концентрацій від 15 до 240 мкг флувоксаміну в 15 мл кінцевого об'єму.

Результати кількісного визначення флувоксаміну малеату в модельних розчинах екстракційно-фотоколориметричним методом наведені в табл. 4. Відносна невизначеність середнього результату становила $\pm 2,6\%$.

ВИСНОВКИ

1. Розроблено методику УФ-спектрофотометричного визначення флувоксаміну, яка дає можливість визначати препарат у межах концентрацій від 5 до 50 мкг в 1 мл розчину. Відносна невизначеність середнього результату становила $\pm 1,7\%$.

2. Розроблено методику екстракційно-фотоколориметричного визначення флувоксаміну за реакцією з кислотним азобарвником метиловим оранжевим. Запропонована методика дає можливість визначати флувоксамін у межах концентрацій від 15 до 240 мкг препарату в пробі. Відносна невизначеність середнього результату становила $\pm 1,6\%$.

ЛІТЕРАТУРА

1. Баюрка С.В., Карпушина С.А., Бондар В.С. та ін. // *Клінічна фармація*. — 2009. — Т. 13, №2. — С. 30-33.
2. Крамаренко В.П. *Токсикологічна хімія*. — К.: Вища шк., 1995. — 423 с.
3. Крылов В.И. // *ФАРМиндекс-Практик*. — 2003. — Вып. 5 — С. 22-32.
4. Машковский М.Д. *Лекарственные средства: 15-е изд.* — М.: ООО "Изд-во Новая Волна", 2006. — С. 106.
5. *Физико-химические методы анализа. Практическое руководство: Учебн. пособие для вузов / В.Б.Алесковский, В.В.Браун, М.И.Булатов и др.; под ред. В.Б.Алесковского*. — Л.: Химия, 1988. — 376 с.
6. Bateman N.D. *Antidepressants: Poisonous substances*. — Amsterdam: Elsevier, 2007. — P. 587-589.
7. BJORHOVDE A., HALVORSEN G.T., RASMUSSEN K.E. et al. // *Anal. Chim. Acta*. — 2003. — Vol. 491, №2. — P. 155-161.
8. Castro A., Fernandez M.d.M.R., Laloup M. et al. // *J. Chromatogr. A*. — 2007. — Vol. 1160, №1. — P. 3-12.
9. *Clark's analysis of Drugs and Poisons: 3-rd ed. [Електронний ресурс] / Laurent Y. Galichet*. — 80 Min / 700 MB. — Pharmaceutical Press, 2005. — 1 електрон. опт. диск (CD-ROM); 12 см. — Систем. вимоги: Pentium; 128 Mb RAM; CD-ROM Windows XP / Vista. — Назва з титул. екрану.
10. Isbister G.K., Bowe S.J., Dawson A. et al. // *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* — 2004. — №42. — P. 277-285.
11. Reeves R.R., Mack J.E., Beddingfield J.J. // *Ann. Pharmacother.* — 2002. — Vol. 36. — P. 440-443.
12. Randall C.B. *Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man*. — California, Foster City: Chemical Toxicological Institute, 2000. — P. 488-489.
13. Shinozuka T., Terada M., Tanaka E. // *Forens. Sci. Int.* — 2006. — Vol. 162. — P. 108-112.
14. Sim F.H., Massabki R.A. // *Can. J. Psych.* — 2000. — Vol. 45. — P. 762-763.

УДК 615.065:54.061/.062:547.712.22:001.8

РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФЛУВОКСАМИНА

С.В.Баюрка

Разработаны методики УФ-спектрофотометрического и экстракционно-фотоколориметрического определения флувоксамина по реакции с кислотным азокрасителем метиловым оранжевым.

UDC 615.065:54.061/.062:547.712.22:001.8

DEVELOPMENT OF FLUVOXAMINE QUANTITATIVE DETERMINATION METHODS

S.V.Bayurka

The UV-spectrophotometry and extraction photocolorimetry methods of fluvoxamine determination by the reaction with methyl orange, the acidic azodye, have been developed.