

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

УДК 615.218.2:547.821:543.544.42.062:535.24

ФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ КЕТОТИФЕНУ

В.В.Болотов, Ю.О.Мирошниченко, Е.Ю.Ахмедов, Л.Ю.Клименко

Національний фармацевтичний університет
Донецький національний медичний університет ім. М.Горького

Запропоновано методику УФ-спектрофотометричного визначення кетотифену фумарату, що дає можливість визначити кетотифену фумарат у межах концентрацій від 2 мкг до 32 мкг у 1 мл розчину. Розроблено методику екстракційно-фотометричного визначення кетотифену фумарату з використанням кислотно-основного індикатора метилового оранжевого. Методика дозволяє визначити препарат при його вмісті у пробі від 10 мкг до 100 мкг. Відносна невизначеність методик не перевищує $\pm 2\%$.

Кетотифен — 4,9-дигідро-4-(1-метил-4-пірериділен-10Н)-бензо[4,5]-циклогепта[1,2-*b*]тіофен-10-ону гідрофумарат — препарат антигістамінної дії, що застосовується для лікування бронхіальної астми, алергійних бронхітів, сінної лихоманки, алергійних ринітів, алергійних шкірних реакцій. Проте потрібно зазначити, що препарат може чинити виражену седативну дію, посилювати дію снодійних та антипсихотичних препаратів, алкоголь [12-15]. Відомі випадки отруєнь цим препаратом, проте методи його хіміко-токсикологічного аналізу розроблені недостатньо [9, 11, 16].

Для кількісного визначення кетотифену в біологічних рідинах та витяжках з біологічного матеріалу здебільшого застосовуються методи газорідинної та високоефективної рідинної хроматографії [11, 16]. Проте в хіміко-токсикологічному аналізі дуже добре себе зарекомендували прості та експресні методики кількісного визначення з використанням оптичних методів аналізу, таких як спектрофотометрія та екстракційна фотометрія [1-3].

Для кількісного визначення кетотифену фумарату описані різноманітні спектрофотометричні та екстракційно-фотометричні методики (з використанням таких реагентів як аміон [6], 2-нітрозо-нафтол-4-сульфонова кислота [19], родизонова кислота [19]), проте їх застосування обмежується лише аналізом лікарських форм [6, 8, 10, 17-22]. Мінімальна концентрація препарату, що може бути визначена за зазначеними методиками, не перевищує 20 мкг/мл [6, 10, 19].

У зв'язку з цим нами розроблено методики УФ-спектрофотометричного та екстракційно-фо-

тометричного визначення кетотифену фумарату (з використанням кислотно-основного індикатора метилового оранжевого), що можуть бути застосовані для цілей хіміко-токсикологічного аналізу.

Експериментальна частина

Для розробки методики спектрофотометричного визначення кетотифену фумарату нами були зняті УФ-спектри абсорбції кетотифену фумарату (I) та кетотифену (II) у 0,1 М розчині кислоти хлористоводневої (рис.).

Паралельно було отримано УФ-спектр розчину фумарової кислоти (III) у 0,1 М розчині кислоти хлористоводневої, молярна концентрація якого дорівнювала молярній концентрації досліджуваного розчину кетотифену фумарату. Визначення проводили на спектрофотометрі СФ-46 у діапазоні довжин хвиль 220-350 нм в кюветі з товщиною шару 10 мм; як розчин порівняння використовували 0,1 М розчин кислоти хлористоводневої. Максимум абсорбції для кетотифену та кетотифену фумарату спостерігали за однакової довжини хвилі 301 нм; для розчину фумарової кислоти поглинання за цієї довжини хвилі практично відсутнє (не перевищує фонових показників), тому зазначену довжину хвилі використовували для спектрофотометричного визначення кетотифену.

Для побудови градуувального графіка для УФ-спектрофотометричного визначення 50,0 мг кетотифену фумарату вносять у мірну колбу місткістю 250,0 мл, розчиняють у 0,1 М розчині кислоти хлористоводневої і доводять об'єм розчину до позначки тим же розчинником (стандартний розчин кетотифену фумарату 1, концентрація — 200 мкг/мл). Шляхом розведення 0,1 М розчином кислоти хлористоводневої готували розчини кетотифену фумарату 2, 3, 4, 5, 6, 7 та 8 з концентрацією 2, 4, 8, 12, 20, 28 та 32 мкг/мл відповідно. Після ретельного перемішування визначають оптичну густину розчинів кетотифену фумарату 2-8.

Для розробки методики екстракційно-фотометричного визначення кетотифену використовували водні розчини кетотифену фумарату. Визначення проводили на фотоелектроколориметрі КФК-2 (світлофільтр з $\lambda_{\text{ef}} = 540 \pm 10$ нм). Як розчин порівняння використовували хлороформ. На-

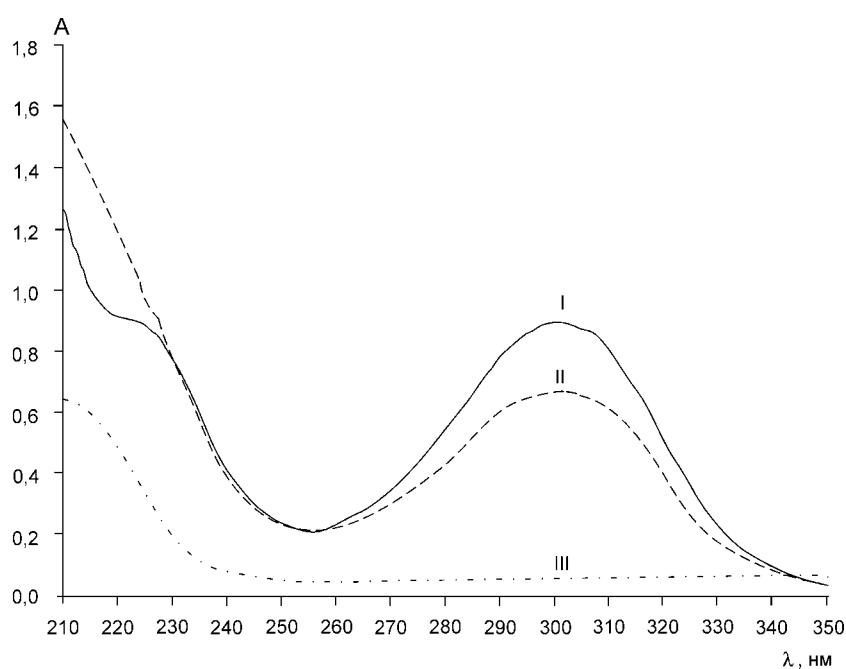


Рис. УФ-спектри кетотифену фумарату (II), кетотифену (III) та фумарової кислоти (I) в 0,1 М розчині кислоти хлористоводневої ($l = 10$ мм).

ми встановлено, що 0,02% розчин метилового оранжевого утворює з кетотифеном у середовищі ацетатного буферного розчину з pH 4,6 іонні асоціати, що екстрагуються хлороформом. Забарвлення розчинів іонних асоціатів виявилося мало інтенсивним, тому для підсилення чутливості методу утворені іонні асоціати руйнували додаванням до їх хлороформних розчинів 1% розчину кислоти сірчаної в абсолютному етанолі. При цьому одержували розчини, що мали значно вищу оптичну густину.

У процесі розробки найефективніших умов визначення було підібрано оптимальні об'єми розчину метилового оранжевого та хлороформу. Встановлено, що оптимальне значення кількості 0,02% розчину метилового оранжевого становить 2 мл, а іонні асоціати практично повністю екстрагуються в процесі одноразової екстракції 15 мл хлороформу. Також було підібрано оптимальне значення pH буферного розчину та довжина кювети — 20 мм. Для підбору оптимального значення pH буферно-

го розчину нами було виготовлено ряд ацетатних буферних розчинів з pH від 3,0 до 6,0 [7]. Величини pH буферних розчинів контролювали потенціометрично. Найбільш придатне значення pH становить 4,6.

Для побудови градуovalного графіка для екстракційно-фотометричного визначення 50,0 мг кетотифену фумарату вносять у мірну колбу місткістю 250,0 мл, розчиняють у воді очищеної і доводять об'єм розчину до позначки водою очищеною (стандартний розчин кетотифену фумарату 1, концентрація — 200 мкг/мл). Шляхом роздавлення готували розчини кетотифену фумарату 2, 3, 4, 5, 6 та 7 з концентрацією — 2, 4, 8, 12, 16 та 20 мкг/мл відповідно.

У ділильні лійки вносять по 5,00 мл ацетатного буферного розчину (pH 4,6), по 2,00 мл 0,02% розчину метилового оранжевого та по 5,00 мл розчинів кетотифену 2-8 відповідно. До отриманих сумішей додають по 15,00 мл хлороформу. Суміші у ділильних лійках струшують протягом

Таблиця 1

Результати визначення питомого і молярного коефіцієнтів світлопоглинання кетотифену фумарату в 0,1 М розчині кислоти хлористоводневої ($\lambda = 301$ нм; $l = 10$ мм)

Концентрація розчину кетотифену фумарату, мкг/мл	Оптична густина, A	$A^{1\%}_{1cm}$	Метрологічна характеристика для $A^{1\%}_{1cm}$ ($n = 5$; $P = 0,95$)	ϵ	Метрологічна характеристика для ϵ ($n = 5$; $P = 0,95$)
4,0	0,123	307,5	$\bar{X} = 316,8$ $S = 7,8$ $S_{\bar{X}} = 3,5$ $\Delta X = 9,6$ $\epsilon = \pm 3,04\%$ $\bar{X} \pm \Delta X = 316,8 \pm 9,6$	13084,1	$\bar{X} = 13478,6$ $S = 329,3$ $S_{\bar{X}} = 147,3$ $\Delta X = 409,4$ $\epsilon = \pm 3,04\%$ $\bar{X} \pm \Delta X = 13478,6 \pm 409,4$
8,0	0,248	310		13190,5	
12,0	0,390	325		13828,8	
20,0	0,637	318,5		13552,2	
28,0	0,904	322,9		13737,6	

Таблиця 2

Метрологічна характеристика градуувальної залежності оптичної густини від вмісту кетотифену фумарату ($y = bx + a$), отриманої методом УФ-спектрофотометрії

r	b	a	S^2	Δb	Δa
0,99982	0,0328	-0,010	0,0000293	0,0003	0,005

Таблиця 3

Результати УФ-спектрофотометричного визначення кетотифену

Концентрація розчину кетотифену фумарату, мкг/мл	Оптична густина, A	Знайдено кетотифену фумарату		Метрологічна характеристика ($n = 5; P = 0,95$)
		мкг/мл	%	
4,0	0,123	4,05	101,25	
8,0	0,248	7,87	98,38	
12,0	0,390	12,20	101,67	
20,0	0,637	19,73	98,65	
28,0	0,904	27,87	99,54	$\bar{X} = 99,90$ $S = 1,50$ $S_x = 0,67$ $\Delta X = 1,86$ $\varepsilon = \pm 1,86\%$ $\bar{X} \pm \Delta X = 99,90 \pm 1,86$

5 хв за допомогою механічного струшувача і залишають на 10 хв для розділення шарів. Збирають по 10,00 мл хлороформного шару, відкидаючи його перші та останні порції (блізько 1,00 мл), і додають до них по 1,00 мл 1% розчину кислоти сірчаної в абсолютному етанолі. Одержані суміші ретельно перемішують та визначають їх оптичну густину.

Результати та їх обговорення

З метою подальшого використання для ідентифікації кетотифену фумарату методом УФ-спектрофотометрії було розраховано питомий ($A^{1\%}_{1cm}$) та молярний (ε) коефіцієнти світлопоглинання в широкому діапазоні концентрацій.

Отримані дані наведені в табл. 1.

Значення $A^{1\%}_{1cm}$, отримане експериментально, знаходиться в межах наведених літературних джерел [9].

Для розрахунку вмісту кетотифену фумарату в розчинах УФ-спектрофотометричним методом ко-

ристувались градуувальним графіком або рівнянням прямої (1) виду $y = bx + a$, що має вигляд [5]:

$$A = 0,0328 \cdot C - 0,010, \quad (1)$$

де: A — оптична густина розчину кетотифену фумарату; C — концентрація розчину кетотифену фумарату, мкг/мл.

Метрологічну характеристику отриманої градуувальної залежності наведено в табл. 2.

Після перевірки значущості коефіцієнта a в рівнянні (1) [5] було зроблено висновок про неможливість переходу до рівняння виду $y = b'x$.

Світлопоглинання розчинів підлягає закону Бугера-Ламберта-Бера в межах концентрацій від 2 мкг до 32 мкг в 1 мл розчину.

Результати кількісного визначення кетотифену в розчинах за допомогою розробленої методики наведені в табл. 3.

Таблиця 4

Метрологічна характеристика градуувальної залежності оптичної густини розчинів іонних асоціатів метилового оранжевого з кетотифеном від вмісту кетотифену фумарату ($y = bx + a$), отриманої методом екстракційної фотометрії

r	b	a	S^2	Δb	Δa
0,9998	0,01243	0,002	0,0000363	0,0000946	0,006

Таблиця 5

Результати екстракційно-фотометричного визначення кетотифену

Внесено кетотифену фумарату в пробу, мкг	Оптична густина	Знайдено кетотифену фумарату		Метрологічна характеристика ($n = 6; P = 0,95$)
		мкг	%	
10,00	0,13	10,30	103,00	
20,00	0,25	19,95	99,75	
40,00	0,49	39,26	98,15	
60,00	0,75	60,18	100,30	
80,00	0,99	79,49	99,36	
100,00	1,25	100,40	100,40	$\bar{X} = 100,16$ $S = 1,61$ $S_x = 0,67$ $\Delta X = 1,69$ $\varepsilon = \pm 1,69\%$ $\bar{X} \pm \Delta X = 100,16 \pm 1,69$

Відносна невизначеність середнього результату становить $\pm 1,71\%$.

Для розрахунку вмісту кетотифену фумарату в розчинах методом екстракційної фотометрії використовували градуювальний графік або рівняння прямої (2) виду $y = bx + a$, що має вигляд [4]:

$$A = 0,01243 \cdot C + 0,002, \quad (2)$$

де: A — оптична густина розчину іонних асоціатів метилового оранжевого з кетотифеном; C — вміст кетотифену фумарату в пробі, мкг.

Метрологічну характеристику отриманої градуювальної залежності наведено в табл. 4.

Після перевірки значущості коефіцієнта a в рівнянні (2) [5] було зроблено висновок про неможливість переходу до рівняння виду $y = b'x$.

Світлопоглинання розчинів підлягає закону Бугера-Ламберта-Бера в межах концентрацій від 2 мкг до 100 мкг кетотифену в пробі.

Результати кількісного визначення кетотифену в розчинах за допомогою розробленої методики наведено в табл. 5.

Відносна невизначеність середнього результату становить $\pm 1,69\%$.

ВИСНОВКИ

1. Розроблено методику УФ-спектрофотометричного визначення кетотифену, що дає можливість визначити препарат у межах концентрацій від 2 мкг до 32 мкг в 1 мл розчину. Відносна невизначеність середнього результату становить $\pm 1,71\%$.

2. Розроблено методику екстракційно-фотометричного визначення кетотифену фумарату з використанням як реагента кислотного барвника метилового оранжевого, що утворює з кетотифеном іонні асоціати. Запропонований метод дає можливість визначити від 10 мкг до 100 мкг кетотифену фумарату у пробі. Відносна невизначеність середнього результату становить $\pm 1,69\%$.

ЛІТЕРАТУРА

1. Болотов В.В., Ткаченко В.Г. // Вісник фармації. — 2002. — №4 (32). — С. 12-14.
2. Болотов В.В., Іванчук І.М. // Вісник фармації. — 2005. — №4 (44). — С. 16-19.
3. Болотов В.В., Клименко Л.Ю. // Вісник фармації. — 2004. — №4 (40). — С. 15-19.
4. Державна фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". — 1-е вид. — Х.: PIPEГ, 2001. — 556 с.
5. Доерфель К. Статистика в аналітическай химии / Пер. с нем. — М.: Мир, 1969. — 223 с.
6. Костарєва И.С., Власовских О.В. // Вестн. Перм. гос. фармац. акад. — 2006. — №1. — С. 65-66.
7. Лурье Ю.Ю. Справочник по аналітическай химии. — М.: Химия, 1989. — 448 с.
8. Chilukuri S.P., Petla Y.N. // Mikrochim. Acta. — 1997. — Vol. 127. — P. 219-223.
9. Clarke's isolation and identification of drugs in pharmaceuticals body fluids and postmortem material. — 2-nd ed. — London: The Pharm. Press, 1986. — 1200 p.
10. El-Kousy N.M., Bebawy L.I. // J. Pharm. Biomed. Anal. — 1999. — Vol. 20. — P. 671-679.
11. Gil-Agusti M., Monferrer-Pons L., Esteve-Romero J. // J. AOAC Int. — 2001, Nov.-Dec. — Vol. 84 (6). — P. 1687-1694.
12. Jonsson A., Holmgren P., Ahlner J. // Forensic Sci. Int. — 2004. — Vol. 143. — P. 53-59.
13. Koski A., Ojanpera I., Vuori E. // Hum. Exp. Toxicol. — 2003. — May. — Vol. 22 (5). — P. 281-288.
14. Lahti R.A., Vuori E. // Forensic Sci. Int. — 2002. — Vol. 126. — P. 203-209.
15. Lahti R.A., Vuori E. // Forensic Sci. Int. — 2003. — Vol. 136. — P. 35-46.
16. Martinez-Algabe C., Bermudez-Saldana J.M., Villanueva-Camanas R.M. // J. Pharm. Biomed. Anal. — 2006. — Feb. 13. — Vol. 40 (2). — P. 312-321.
17. Sane R.T., Chonkar N.L., Surve S.R. et al. // Ind. Drugs. — 1993. — Vol. 30. — P. 235-239.
18. Sastry C.S.P., Naidu P.Y., Murty S.S. // Easter Pharmacist. — 1997. — Vol. 40. — P. 133-135.
19. Sastry C.S.P., Naidu P.Y., Murty S.S. // Ind. J. of Pharmac. Sci. — 1997. — Vol. 59. — P. 93-95.
20. Singhvi I., Sachdeva D. // Ind. J. of Pharmac. Sci. — 2009. — Vol. 71. — P. 66-68.
21. Szczepaniak W., Cychowska T., Przadka T. // Acta Polon. Pharm. — 1992. — Vol. 49. — P. 3-5.
22. Vacheck J. // Cesk. Farm. — 1987. — Vol. 36. — P. 168-169.

УДК 543.42.062:535.24:615.214.24:547.821

ФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ КЕТОТИФЕНА
В.В.Болотов, Ю.А.Мирошниченко, Э.Ю.Ахмедов, Л.Ю.Клименко

Предложена методика УФ-спектрофотометрического определения кетотифена фумарата, которая дает возможность определять кетотифена фумарат в пределах концентраций от 2 мкг до 32 мкг в 1 мл раствора. Разработана методика экстракционно-фотометрического определения кетотифена фумарата с использованием кислотно-основного индикатора метилового оранжевого. Методика позволяет определить препарат при его содержании в пробе от 10 мкг до 100 мкг. Относительная неопределенность методик не превышает $\pm 2\%$.

UDC 543.42.062:535.24:615.214.24:547.821

PHOTOMETRIC DETERMINATION OF KETOTIFEN
V.V.Bolotov, Yu.O.Miroshnichenko, E.Yu.Akhmedov, L.Yu.Klimenko

The method for ketotifen fumarate UV-spectrophotometric determination, which allows to determine ketotifen fumarate in the range of 2 μg to 32 μg in 1 ml of the solution has been suggested. The method of extraction-photometric determination of ketotifen fumarate using methyl orange acid basic indicator has been developed. The method allows to determine the drug in a sample with its content from 10 μg to 100 μg . The relative error of the methods does not exceed $\pm 2\%$.