Рекомендована д.ф.н., професором В.І.Кабачним

УДК 615.07:543.42.062

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ТА ЕКСТРАКЦІЙНО-ФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ МАПРОТИЛІНУ

П.М.Суханов, В.В.Болотов

Національний фармацевтичний університет

Розроблена методика екстракційно-фотометричного визначення мапротиліну через утворення іонного асоціату з кислотним барвником метиловим оранжевим. Методика дозволяє визначити препарат при його вмісті у пробі від 10 мкг до 135 мкг. Відносна похибка методу — 2,67%. Запропонований метод спектрофотометричного визначення мапротиліну, який дає можливість його визначення в діапазоні концентрацій від 20 мкг/мл до 200 мкг/мл. Відносна похибка методу — 1,16%.

Мапротилін (людіоміл, ладисан) — 3-(9,10-дигідро-9,10-етанантрацен-9-іл)-N-метилпропіламіну гідрохлорид.

Мапротилін відноситься до групи тетрациклічних антидепресантів і застосовується для лікування різних видів депресій [4]. Використання подібних препаратів потребує строгого виконання режиму дозування та нагляду лікаря. Мапротилін зареєстрований в Україні як лікарський засіб під торговою назвою Людіоміл (фірми "Novartis Farmaceutica S.A.", Іспанія) і доступний для використання в психіатричній практиці у вигляді таблеток і розчину для ін'єкцій. Саме по причині передозування відомі численні випадки отруєнь мапротиліном [6, 14]. Тому цей препарат представляє інтерес в хіміко-токсикологічному відношенні [4, 6, 8, 14]. У зарубіжній літературі описано багато методик аналізу мапротиліну з використанням хроматографічних методів [7, 10-13, 15, 16]. Але ж для хіміко-токсикологічного аналізу представляють інтерес і більш прості методи — спектрофотометрія та екстракційна фотометрія.

Одним з методів кількісного визначення, який знайшов широке використання у хіміко-токсикологічному аналізі, є метод екстракційної фотометрії [1, 2]. Також широко застосовується метод спектрофотометричного визначення кількості препарату в різних об'єктах.

Метою нашого дослідження була розробка методики спектрофотометричного та екстракційно-фотометричного визначення мапротиліну з використанням кислотно- основного індикатора метилового оранжевого.

Визначення мапротиліну методом спектрофотометрії проводили у середовищі 0,1 М розчину кислоти хлористоводневої. УФ-спектр розчину мапротиліну гідрохлориду показав наявність двох максимумів (265 нм та 272 нм) та одного мінімуму поглинання (268 нм) (рис. 1), що співпадає з літературними даними [8, 9]. Нами було встановлено, що для кількісного визначення препарату можна використовувати будь-який з максимумів.

Вміст мапротиліну в розчинах визначали методом градуювального графіка. Цей графік (рис. 2) показує, що лінійна залежність між концентрацією та оптичною густиною зберігається в інтервалі концентрацій від 20 мкг/мл до 200 мкг/мл. Рівняння лінійної залежності оптичної густини від концентрації розчину мапротиліну гідрохлори-

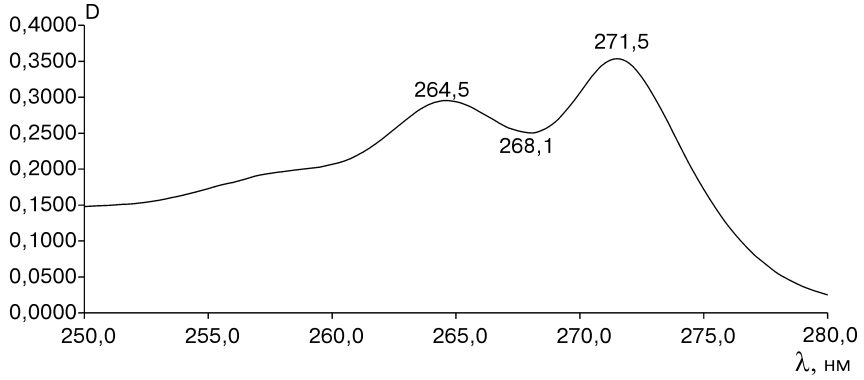

Рис. 1. УФ-спектр розчину 80 мкг/мл мапротиліну гідрохлориду в 0,1 М розчині кислоти хлористоводневої.

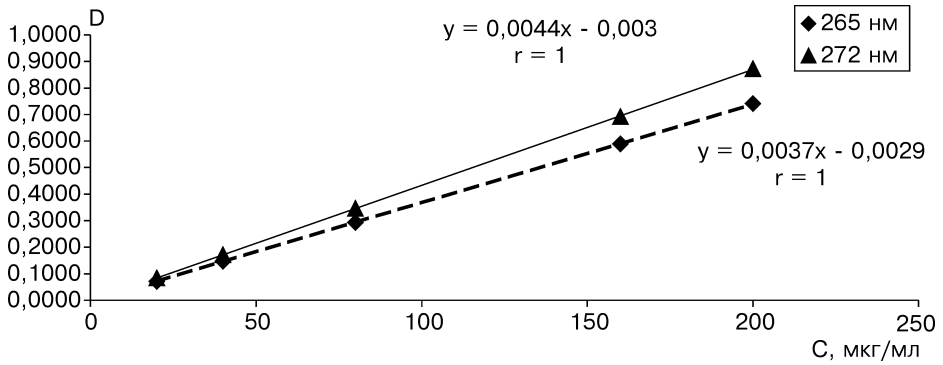

Рис. 2. Прямі залежності оптичної густини (D) від вмісту мапротиліну гідрохлориду в 0,1 М розчині кислоти хлористоводневої (C), отримані методом спектрофотометрії при вимірюванні в обох максимумах.

ду y=bx+a при вимірюванні при довжині хвилі 265 нм має вигляд:

$$D=0{,}0037C-0{,}0029,$$

де: D — оптична густина, а C — концентрація в мкг/мл.

Після перевірки значимості коефіцієнта a= =-0,0029 [3] був зроблений висновок про можливість переходу до рівняння виду y=b'x, де b'= =0,00369. При вимірюванні з довжиною хвилі 272 нм рівняння має вигляд:

$$D = 0{,}0044C-0{,}003.$$

Після перевірки значимості коефіцієнта a= =-0,003 [3] був зроблений висновок про можливість переходу до рівняння виду y=b'x, де b'= =0,0043 (табл. 1).

Для апробації методики готували модельний розчин з найменшою концентрацією відповідно до градуювального графіка (20 мкг/мл), вимірювали його оптичну густину і розраховували його концентрацію за попередньо отриманими рівняннями. Метрологічні характеристики методики представлені в табл. 2.

Попередніми дослідженнями було встановлено, що азотовмісні сполуки утворюють з розчином метилового оранжевого у середовищі ацетатного буферного розчину іонні асоціати, які екстрагуються хлороформом [1, 2]. Мапротиліну гідрохлорид також дає такий асоціат. Нами були встановлені оптимальні умови утворення та екстракції такого асоціату.

Встановлено, що оптимальним є використання насиченого водного розчину метилового оранжевого (0,1%) у кількості 5 мл. Іонний асоціат мапротиліну і метилового оранжевого практично повністю екстрагується однією порцією хлороформу (10 мл). Також при використанні ряду ацетатних буферних розчинів з pH від 3,5 до 6,0 [5] було встановлено, що при використанні ацетатного буферного розчину з pH 4,6 кінцеві розчини мали найбільшу оптичну густину, що говорить про найсприятливіші умови екстрагування асоціатів саме при цьому значенні pH буферного розчину. Оптична густина розчинів іонних асоціатів метилового оранжевого та мапротиліну виявилася недостатньо високою. У зв'язку з цим для підвищення

Таблиця 1

Метрологічні характеристики градуювальної залежності оптичної густини від вмісту мапротиліну гідрохлориду в 0,1 М розчині кислоти хлористоводневої при вимірюванні з довжиною хвиль 265 нм та 272 нм

Концентрація мапротиліну в розчині, мкг/мл	Оптична густина при довжині хвилі 265 нм/272 нм	Параметри градуювальної прямої виду y=bx+a при довжині хвилі 265 нм/272 нм	Параметри градуювальної прямої виду y=b'x при довжині хвилі 265 нм/272 нм
20	0,07129/0,08423	r=0,99999/0,99998 b=0,003714/0,004364 a=-0,0029/-0,003 Δb=0,00003495/0,00005279 Δa=0,0042514/0,0064228 S^2=0,00000290/0,00000662	r=0,99999/0,99998 b'=0,00369/0,00434 Δb=0,000028/0,000034 $S^2=5{,}65\cdot10^{-6}/8{,}58\cdot10^{-6}$
40	0,14666/0,17192		
80	0,29357/0,34689		
160	0,58919/0,69159		
200	0,74153/0,87221		

Таблиця 2

Метрологічні характеристики кількісного методу аналізу мапротиліну гідрохлориду методом спектрофотометрії

μ	f	$\bar{x}$	s^2	$s_{\bar{x}}$	P	t (P, f)	$\Delta\bar{x}$	$\varepsilon_{\bar{x}}$	δ
20	4	20,02	0,007	0,083666	95%	2,78	0,232591	1,16%	немає

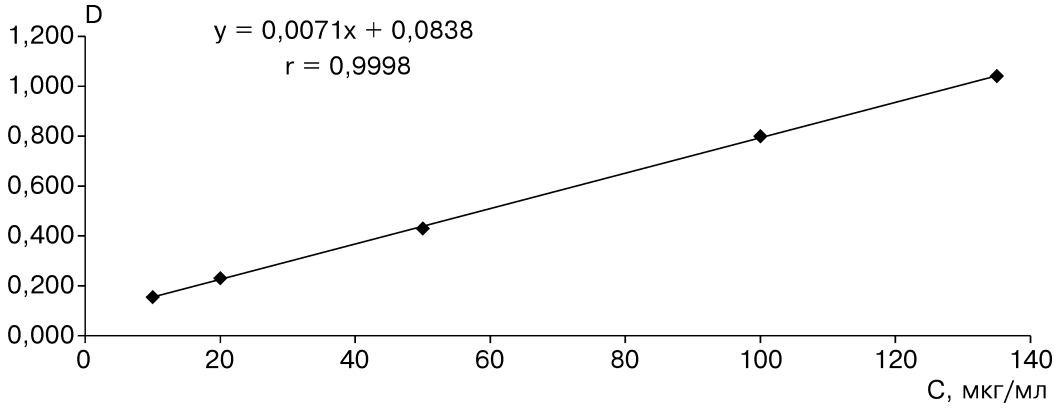

Рис. 3. Пряма залежності оптичної густини (D) від вмісту мапротиліну в пробі (C), отримана методом екстракційної фотометрії.

Таблиця 3

Метрологічні характеристики градуювальної залежності оптичної густини від вмісту мапротиліну в пробі, отриманої методом екстракційної фотометрії

Вміст мапротиліну в пробі, мкг	Оптична густина	Параметри градуювальної прямої
10,0	0,155	r=0,999879 b=0,00709886 a=0,083772 Δb=0,000202753 Δa=0,0160226 S^2=0,00004626
20,0	0,230	
50,0	0,430	
100,0	0,800	
135,0	1,040	

оптичної густини розчинів до хлороформних витяжок додавали 1% розчин кислоти сірчаної в абсолютному етанолі.

Вміст мапротиліну в розчинах визначали методом градуювального графіка. Графік (рис. 3) свідчить, що лінійна залежність між концентрацією та оптичною густиною зберігається в інтервалі концентрацій від 10 мкг/мл до 130 мкг/мл. Рівняння лінійної залежності оптичної густини від концентрації розчину мапротиліну y=bx+a, розраховане за методом найменших квадратів, має вигляд:

$$D=0,0071C+0,0837,$$

де: D — оптична густина, а C — концентрація в мкг/мл.

Після перевірки значимості коефіцієнта a= =0,0837 за методом [3] був зроблений висновок про неможливість переходу до рівняння виду y=b'x (табл. 3).

Для апробації методики готували модельний розчин, який містив найменшу концентрацію препарату відповідно до градуювального графіка (10,3 мкг), вимірювали оптичну густину кінцевого розчину і розраховували вміст мапротиліну в пробі за попередньо отриманим рівнянням. Метрологічні характеристики методики представлені в табл. 4.

Експериментальна частина

Для розробки методики спектрофотометричного визначення мапротиліну використовували розчини субстанції у 0,1 М розчині кислоти хлористоводневої. Визначення проводили на спектрофотометрі Lambda 12 виробництва фірми "Perkin Elmer". Кювета з товщиною шару 10 мм, розчин порівняння — 0,1 М розчин кислоти хлористоводневої.

Побудова градуювального графіка для визначення мапротиліну методом спектрофотометрії

Близько 0,05 г (точну наважку) мапротиліну гідрохлориду поміщають у мірну колбу місткістю 250 мл, розчиняють у 150 мл 0,1 М розчину кислоти хлористоводневої, доводять об'єм розчину до позначки тим самим розчинником і перемішують (стандартний розчин мапротиліну 1).

У мірну колбу місткістю 25 мл вносять 20 мл стандартного розчину мапротиліну 1, в іншу колбу такої ж місткості— 10 мл, в третю — 5 мл, в четверту — 2,5 мл. Доводять об'єм розчинів у колбах до позначки тим же самим розчинником і перемішують, отримуючи серію стандартних розчинів, концентрації яких наведені в табл. 1.

Для розробки методики екстракційно-фотометричного визначення мапротиліну використовували водний розчин субстанції (100 мкг/мл). Визначення проводили на фотоелектроколориметрі КФК-2 з використанням світлофільтра з λ=540±10 нм і кювети з товщиною шару 10 мм. Розчином порівняння був хлороформ.

Побудова градуювального графіка для визначення мапротиліну методом екстракційної фотометрії

Близько 0,05 г (точну наважку) мапротиліну гідрохлориду поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, розчиняють у 70 мл води, доводять об'єм розчину до позначки водою і перемішують.

Таблиця 4

Метрологічні характеристики визначення мапротиліну методом екстракційної фотометрії

μ	f	$\bar{x}$	s^2	$s_{\bar{x}}$	P	t (P, f)	Δx	$\varepsilon_{\bar{x}}$	δ
10,3	4	10,4	0,01	0,1	95%	2,78	0,278	2,67%	немає

Отриманий розчин (10 мл) поміщають у мірну колбу місткістю 50 мл, доводять об'єм розчину до позначки водою і перемішують (стандартний розчин мапротиліну).

У п'ять ділильних лійок місткістю 100 мл вносять по 5 мл ацетатного буферного розчину з pH 4,6 та по 5 мл 0,1% розчину метилового оранжевого. В кожну ділильну лійку вносять відповідну кількість стандартного розчину (0,1; 0,2; 0,5; 1,0; 1,35 мл), в 1 мл якого міститься 100 мкг препарату. До отриманої суміші у кожній ділильній лійці додають по 10,0 мл хлороформу і струшують ділильні лійки протягом 10 хв на механічному струшувачі, після чого залишають на 10 хв для розділення шарів. Збирають по 9 мл хлороформного шару з кожної ділильної лійки, відкидаючи перші 0,5 мл, додають 2 мл 1% розчину кислоти сірчаної в абсолютному етанолі. Одержаний таким чином розчин ретельно перемішують і вимірюють його оптичну густину.

ВИСНОВКИ

1. Вивчені і розроблені умови для проведення якісного та кількісного визначення мапротиліну за допомогою спектрофотометрії та екстракційної фотометрії.

2. Доведено, що наведені умови визначення мапротиліну методом екстракційної фотометрії із застосуванням метилового оранжевого є найбільш оптимальними.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Болотов В.В., Ахмедов Е.Ю. // Вісник фармації. — 1998. — №2. — С. 116-117.*
2. *Болотов В.В., Баюрка С.В. // Вісник фармації. — 1996. — №3-4. — С. 35-36.*
3. *Доерфель К. Статистика в аналитической химии / Пер. с нем. под ред. В.В.Налимова — М.: Мир, 1969. — 223 с.*
4. *Клиническая токсикология детей и подростков: Учебное пособие / Под ред. И.В.Марковой, В.В.Афанасьева, Э.К.Цыбулькина, М.В.Неженцева. — С.-Пб: Интермедика, 1998. — 304 с.*
5. *Лурье Ю.Ю. Справочник по аналитической химии. — М.: Химия, 1989. — Кн.1. — 319 с.; Кн. 2. — 383 с.*
6. *Суханов П.М., Шкляев С.А., Болотов В.В. // Физиологически активные вещества. — 2002. — №2 (34). — С. 34-37.*
7. *Aymard G., Livi P., Pham Y.T., Diquet B. // J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl. — 1997. — №700 (1-2). — P. 183-189.*
8. *Clarke's isolation and identification of drugs in pharmaceuticals body fluids and postmortem material / Senior Consulting Editor A.C.Moffat. — London: The Pharm. Press, 1986. — 1223 p.*
9. *European Pharmacopoeia, 4th Ed. — 2002. — P. 2416.*
10. *Ishida J., Horike N., Yamaguchi M. // J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl. — 1995. — №669 (2). — P. 390-396.*
11. *Keller T., Zollinger U. // Forensic Sci. Int. — 1997. — №88 (2). — P. 117-123.*
12. *Mueller C., Vogt S., Goerke R. et al. // Forensic Sci. Int. — 2000. — №113 (1-3). — P. 415-421.*
13. *Namera A., Watanabe T., Yashiki M. // J. Anal. Toxicol. — 1998. — №22 (5). — P. 396-400.*
14. *Randall C. Baselt. / Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man. — Fifth Edit. — Foster City, California: Chemical Toxicology Institute, 2000. — 918 p.*
15. *Tanaka E., Terada M., Nakamura T. // J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl. — 1997. — №692 (2). — P. 405-412.*
16. *Ulrich S., Martens J. // J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl. — 1997. — №696 (2). — P. 217-234.*

УДК 615.07:543.42.062

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ И ЭКСТРАКЦИОННО-ФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАПРОТИЛИНА

П.М.Суханов, В.В.Болотов

Разработана методика экстракционно-фотометрического определения мапротилина путем образования ионного асоциата с кислотным красителем метиловым оранжевым. Методика позволяет определить препарат при его содержании в пробе от 10 мкг до 135 мкг. Относительная ошибка метода — 2,67%. Предложен метод спектрофотометрического определния мапротилина, дающий возможность его определения в диапазоне концентраций от 20 мкг/мл до 200 мкг/мл. Относительная ошибка метода — 1,16%.

UDC 615.07:543.42.062

SPECTROPHOTOMETRIC AND EXTRACTION-PHOTOMETRIC DETERMINATION OF MAPROTILINE

P.M.Sukhanov, V.V.Bolotov

The method of extraction-photometric determination of maprotiline via yielding ion associate with methyl orange acid stain has been developed. This method allows to determine from 10 mkg to 135 mkg of maprotiline in the sample. The relative error of the method is 2,67%. We have also elaborated the method of spectrophotometric determination of maprotiline which allows to find the preparation in a solution with its concentration from 20 mkg/ml to 200 mkg/ml. The relative error of this method is 1,16%.