

УДК 615.225.2:543.42.062

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ КАПТОПРИЛУ ЗА ДОПОМОГОЮ ФОТОМЕТРИЧНОЇ РЕАКЦІЇ З РЕАКТИВОМ ЕЛМАНА

В.В.Болотов, З.В.Шовкова, С.І.Мерзлікін, Л.Ю.Клименко

Національний фармацевтичний університет,
61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53. E-mail: toxchem@ukrfa.kharkov.ua

Ключові слова: каптоприл; реактив Елмана; спектрофотометрія

Розроблено спектрофотометричну методику кількісного визначення каптоприлу на основі фотометричної реакції з реактивом Елмана, що забезпечує аналіз препарату в діапазоні концентрацій від 2,5 до 20 мкг/мл з середньою невизначеністю результату $\pm 1,95\%$.

THE SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF CAPTOPRILE WITH THE HELP OF THE PHOTOMETRIC REACTION WITH THE ELLMANN'S REAGENT

V.V.Bolotov, Z.V.Shovkovaya, S.I.Merzlikin, L.Yu.Klimenko

The spectrophotometric method of the captoprile quantitative determination on the basis of the photometric reaction with the Ellmann's reagent, which provides the drug analysis in the range of concentrations from 2.5 mkg to 20 mkg in 1 ml of the solution with a relative error of the method being $\pm 1.95\%$, have been developed.

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАПТОПРИЛА С ПОМОЩЬЮ ФОТОМЕТРИЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ С РЕАКТИВОМ ЭЛЛМАНА

В.В.Болотов, З.В.Шовковая, С.И.Мерзликин, Л.Ю.Клименко

Разработана спектрофотометрическая методика количественного определения каптоприла на основе фотометрической реакции с реактивом Эллмана, которая обеспечивает анализ препарата в диапазоне концентраций от 2,5 до 20 мкг/мл со средней неопределенностью результата $\pm 1,95\%$.

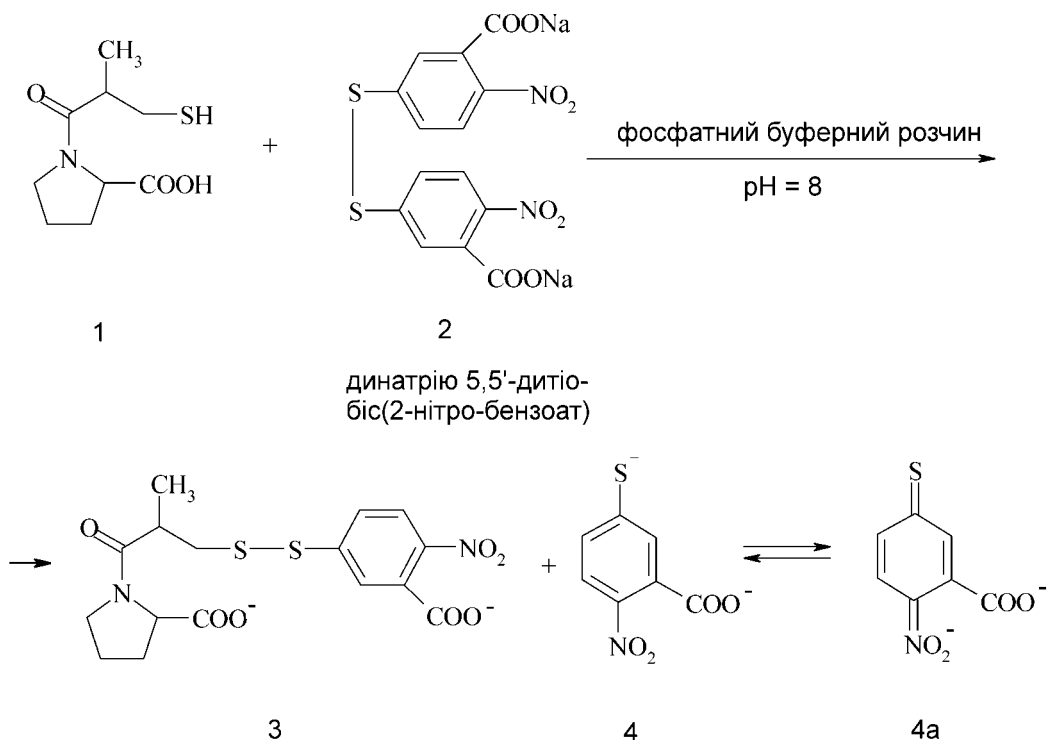
На сьогодні лікарські засоби для лікування захворювань серцево-судинної системи посідають одне із головних місць на фармацевтичному ринку. І, як наслідок, летальних випадків при застоюванні зазначених препаратів доволі багато. Трапляється це, в першу чергу, через загострення основного захворювання у пацієнтів при невдалому виборі лікарського препарату або внаслідок резистентності до нього організму. Але також нерідкісні й випадки суїцидів серцево-судинними лікарськими засобами. При цьому зустрічаються як моно-, так і полівалентні отруєння. Серед загалу зазначених препаратів інгібітори ангіотензинконвертуючого ферменту посідають третє місце за кількістю летальних випадків, передозувань та самогубств [1-4]. Таким чином, проблема діагностування отруєнь лікарськими препаратами для лікування серцево-судинних захворювань є вельми актуальною, проте методики кількісного визначення препаратів зазначеної групи, придатні для хіміко-токсикологічного аналізу, наявні в обмежених кількостях [5, 6]. Наша робота присвячена розробці методики кількісного визначення найбільш відомого препарату з групи інгібіторів ангіотензинконвертуючого ферменту — каптоприлу, що дозволить визначати каптоприл у витяжках із об'єктів біологічного походження.

За своєю хімічною структурою каптоприл — це 1-[(2S)-3-меркапто-2-метилпропіоніл]-L-пролін. Для кількісного визначення речовин, що містять в своїй структурі тільки групу, відомий спосіб, який ґрунтується на фотометричній реакції з реактивом Елмана [7]. Нами розроблено методику спектрофотометричного визначення каптоприлу з використанням зазначеної фотометричної реакції. Виходячи з даних літератури [8, 9], реакція між каптоприлом (1) та реактивом Елмана (2) повинна відбуватися за схемою (див. схему).

У результаті реакції утворюється діаніон 2-нітро-5-меркаптобензойної кислоти (4), хіноїдна форма якого (4a) має інтенсивне жовте забарвлення та відповідно смугу поглинання з λ_{\max} при 410 нм.

Для того щоб виключити вплив на результати кількісного визначення надлишку реактиву Елмана, який також поглинає світло при $\lambda = 410$ нм (рис.), при розробці методики ми користувалися методом диференційної спектрофотометрії ($\Delta\epsilon$ -методом) [10], тобто використовували як розчин порівняння розчин реактиву Елмана у відповідній концентрації (див. експерим. частину).

Як встановлено раніше [11, 12], фотометрична реакція, що досліджується, максимально повно перебігає у слабо лужному середовищі — оптимальне значення рН середовища дорівнює 8. У



Схема

той же час значення рН розчину реактиву Елмана не повинно перевищувати 7, оскільки це забезпечує його стабільність [11, 12].

Нами встановлено, що оптична густина розчину набуває максимального значення протягом 30 с

та залишається стабільною протягом не менше 6 годин.

Нами виконані зазначені дослідження для серії розчинів каптоприлу різних концентрацій та за отриманими даними побудовано градувальний

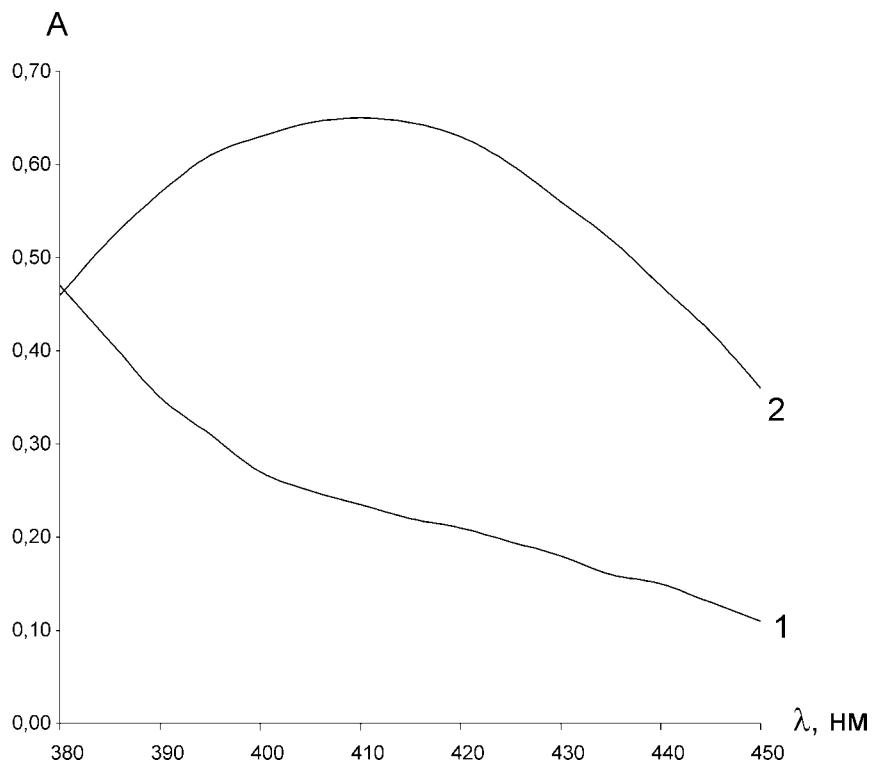


Рис. Електронні спектри:

1 - розчину реактиву Елмана у фосфатному буферному розчині з рН = 8 (концентрація $1,33 \cdot 10^{-4}$ моль/л, розчин порівняння - фосфатний буферний розчин з рН = 8); 2 - хіноїдної форми діаніону 2-нітро-5-меркаптобензойної кислоти (4а) в концентрації, що відповідає вмісту каптоприлу $4,60 \cdot 10^{-5}$ моль/л (розчин порівняння - розчин реактиву Елмана в фосфатному буферному розчині з рН = 8 (див. експерим. частину)).

Таблиця 1

Метрологічна характеристика градувальної залежності оптичної густини від концентрації каптоприлу в кінцевому розчині виду $y = bx + a$ ($\lambda = 410$ нм; $l = 10$ мм; $n = 18$, $P = 0,95$)

r	b	a	S ²	Δb	Δa
0,9993	0,06177	- 0,02602	0,0002344	0,0005638	0,007503

Таблиця 2

Результати кількісного визначення каптоприлу у модельних розчинах ($\lambda = 410$ нм; $l = 10$ мм)

Введено каптоприлу в пробу, мкг	Оптична густина	Знайдено каптоприлу		Метрологічні характеристики (n = 6; P = 0,95)
		мкг	%	
125	0,132	126	100,8	$\bar{X} = 98,14$ $S = 1,92$ $S_{\bar{X}} = 0,78$ $\Delta\bar{X} = 1,92$ $\varepsilon = \pm 1,95\%$ $\bar{X} \pm \Delta\bar{X} = 98,14 \pm 1,92$
250	0,289	247	98,8	
500	0,597	484	96,8	
750	0,909	723	96,4	
825	1,038	823	99,8	
1000	1,220	963	96,3	

графік з використанням як робочої довжини хвилі 410 нм. Даному графіку відповідає рівняння прямої виду $y = bx + a$, що має вигляд [13]:

$$A = 0,06177 \cdot C + 0,02602,$$

де: A — оптична густина розчину;

C — концентрація каптоприлу в кінцевому розчині, мкг/мл.

Метрологічну характеристику отриманої градувальної залежності [13] наведено в табл. 1.

Після перевірки значущості коефіцієнта a в рівнянні було зроблено висновок про неможливість переходу до рівняння виду $y = b'x$ [13].

Отримана залежність лінійна в діапазоні концентрацій від 2,5 мкг/мл до 20 мкг/мл в кінцевому розчині з коефіцієнтом кореляції 0,9993.

Градувальний графік та рівняння прямої було використано для розрахунку концентрації каптоприлу в модельних розчинах.

Отримані дані наведені в табл. 2.

Дані табл. 2 свідчать, що відносна невизначеність середнього результату при кількісному визначенні каптоприлу за наведеною методикою не перевищує $\pm 1,95\%$.

Експериментальна частина

У роботі нами були використані такі реактиви: каптоприл фармакопейної чистоти (ДФУ) та 5,5'-дитіо-біс(2-нітробензойна кислота) кваліфікації "х. ч."

Методика приготування розчину реактиву Елмана (концентрація $1,33 \cdot 10^{-3}$ моль/л). 53 мг 5,5'-дитіо-біс(2-нітробензойної кислоти) вносили в мірну колбу місткістю 100,0 мл, додавали невелику кількість фосфатного буферного розчину з рН = 6,8 [14] і потім додавали 2,66 мл 0,1 М розчину натрію гідроксиду — до повного розчинення 5,5'-дитіо-біс(2-нітробензойної кислоти), доводили об'єм колби до позначки фосфатним буферним розчином з рН = 6,8. Контролювали рН розчину реак-

тиву Елмана за допомогою іономіра рН-150 (значення рН розчину не повинно перевищувати 7,0).

Методика побудови градувального графіка: 50 мг (точну наважку) каптоприлу переносили в мірну колбу місткістю 100,0 мл, розчиняли у невеликій кількості води очищеної та доводили до позначки цим же розчинником (стандартний розчин; концентрація 500 мкг/мл). У ряд мірних колб місткістю 100,0 мл вносили із бюретки 5,00; 10,00; 15,00; 20,00 та 35,00 мл стандартного розчину каптоприлу і доводили до позначки водою очищеною (розчини 1, 2, 3, 4 та 5; концентрація 25, 50, 75, 100 та 175 мкг/мл відповідно). У дві мірні колби місткістю 100,0 мл вносили із бюретки по 50,00 мл розчинів 1 та 5 і доводили до позначки водою очищеною (розчини 6 та 7; концентрація 12,5 та 87,5 мкг/мл відповідно).

У ряд мірних колб місткістю 50,0 мл вносили по 10,00 мл розчинів 1, 2, 3, 4, 6, та 7, додавали по 5,00 мл реактиву Елмана та доводили до позначки фосфатним буферним розчином з рН = 8 [14]. Через 30-40 с вимірювали оптичну густина отриманих розчинів на спектрофотометрі СФ-46 при довжині хвилі 410 нм в кюветі з товщиною шару 10 мм.

Як розчин порівняння (компенсаційний розчин) використовували суміш, отриману в ході "холостого" дослідження.

Висновки

1. Досліджені умови виконання фотометричної реакції каптоприлу з реактивом Елмана.

2. Розроблено спектрофотометричну методику кількісного визначення каптоприлу на основі зазначеної фотометричної реакції з реактивом Елмана, яка забезпечує кількісне визначення препарату при його концентрації в розчині, що фотометрують, від 2,5 до 20 мкг/мл з середньою невизначеністю результату $\pm 1,95\%$.

Література

1. Chodorowski Z., Anand J.S., Waldman W. // *Przegl. Lek.* — 2003. — Vol. 60 (4). — P. 233-235.
2. Lechleitner P., Dzien A., Haring D. // *Toxicol.* — 1990. — Vol. 64. — P. 325-329.
3. Augenstein W.L., Kulig K.W., Rumack B.H. // *J. Am. Med. Asso.* — 1988. — Vol. 259. — P. 3302-3305.
4. Park H., Purnell G.V., Mirchandani H.G. // *Clin. Tox.* — 1990. — Vol. 28. — P. 379 — 382.
5. Hosseinimehr S.J., Ebrahimi P., Hassani N. // *Boll. Chim. Farm.* — 2004. — Jul.-Aug. — Vol. 143, №6. — P. 249-251.
6. Salem I.I., Saif W.A., Jmeian Y. // *J. Pharm. Biomed. Anal.* — 2005. — Apr. 29. — Vol. 37, №5. — P. 1073-1080.
7. Чакчир Б.О., Трохимчук В.В. // *Фармац. журн.* — 1985. — №3. — С. 42-45.
8. Ellmann G. L. // *Arch. Biochem. Biophys.* — 1959. — Vol. 82. — P. 70.
9. Ellmann G.L. // *Biochem. Pharmacol.* — 1961. — Vol. 7. — P. 88.
10. Булатов Л.И., Калинин И.П. *Практическое руководство по фотометрическим методам анализа.* — Л.: Химия, 1986. — 432 с.
11. Danehy J.P., Elia V.J., Lavelle C.J. // *J. Org. Chem.* — 1971. — Vol. 36, №7. — P. 1003-1005.
12. Whitesides G.M., Lilburn J.E., Szajewsky R.P. // *J. Org. Chem.* — 1977. — Vol. 42, №2. — P. 332-338.
13. Доерфель К. *Статистика в аналитической химии / Пер. с нем.* — М.: Мир, 1969. — 223 с.
14. Лурье Ю. Ю. *Справочник по аналитической химии.* — М.: Химия, 1989. — 448 с.

Надійшла до редакції 12.10.2007 р.