

УДК 547.857:543.544.943.3.0668.7:543.421/.424

РОЗРОБКА МЕТОДІВ ІДЕНТИФІКАЦІЇ ПЕНТОКСИФІЛІНУ, ПРИДАТНИХ ДЛЯ ЦЛЕЙ ХІМІКО-ТОКСИКОЛОГІЧНОГО АНАЛІЗУ

Полуян С.М., Бур'ян К.О.

Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна

Вступ. У сучасній медицині широко використовуються препарати, похідні групи пурину (теофілін, теобромін, пентоксифілін, тенісал, нігексін та ін.), які надають стимулюючу дію на центральну нервову систему та серце, розширяють судини, які є діуретиками. Основні препарати групи пурину (кофеїн, теобромін, теофелін) відомі давно, але з кожним роком кількість нових препаратів цієї групи збільшується. Препарати групи пурину мають цінні фармакологічні властивості, але в певних умовах можуть виявитися токсичними, тому що теобромін, теофілін, пентоксифілін - це сильнодіючі лікарські засоби. Відомі випадки отруєння цими препаратами, тому вони становлять інтерес в хіміко-токсикологічному аналізі. Об'єктом нашого дослідження є пентоксифілін, який відноситься до фармакологічної групи периферичних вазодилататорів. Показання до використання препарату: атеросклеротична енцефалопатія; ішемічний церебральний інсульт; дисциркуляторна енцефалопатія; порушення периферичного кровообігу, трофічні розлади у тканинах, пов'язані з ураженням вен або порушенням мікроциркуляції; облітеруючий ендартеріїт; ангіонейропатії (хвороба Рейно).[1] Побочні ефекти, неправильне зберігання, передозування внаслідок самолікування, вживання препарату з алкоголем – всі ці наслідки можуть привести до інтоксикації. Тому розробка методів ідентифікації пентоксифіліну у хіміко-токсикологічному відношенні є актуальною задачею.

Мета дослідження. Наведені в літературі дані про хіміко-токсикологічний аналіз пентоксифіліну неповні, що свідчить про необхідність більш систематичного і повного підходу до вивчення цього питання. Зокрема метою нашого дослідження було розробити найбільш оптимальні умови ідентифікації пентоксифіліну за допомогою методу хроматографії в тонких шарах сорбенту та УФ-спектроскопії.

Методи дослідження. Для ідентифікації пентоксифіліну у фармацевтичному та хіміко-токсикологічному аналізі широко використовують хімічні, спектральні (УФ-, ІЧ, масс-спектрометрія), хроматографічні (ГРХ, ВЕРХ, ТШХ) та інші методи.[3] Як правило, при ідентифікації нативної речовини, а також метаболітів препаратів використовується сполучення різних методів аналізу, так як на практиці використовування одного методу недостатньо. Так хімічні методи (кольорові реакції, мікрокристалоскопічні) належать широке використання у сполученні з спектральними або хроматографічними методами при хіміко-токсикологічному аналізі. За останній час найбільш пильну увагу приділяють хроматографічним методам дослідження, так як ці методи відрізняються високою чутливістю та можуть використовуватися як у фармацевтичному аналізі так і хіміко-токсикологічному аналізі. Згідно даним літератури одним з поширених хроматографічних методів

виявлення речовин в хіміко-токсикологічному аналізі є хроматографія в тонкому шарі сорбенту (ТШХ).[2,3] Метод ТШХ доступний, простий у виконанні, має значну розподільну спроможність і швидкість виконання аналізу. Для досліджування лікарських речовин запропоновано ряд систем розчинників, які добре відтворюють значення величини R_f [3] і володіють високою розподільною здатністю. Наше дослідження проводились з водно-спиртовим розчином пентоксифіліну. Досліджуваний розчин отримували з таблеток. Для цього 10 таблеток препарату подрібнювали у ступці, розчиняли в 100 мл води, підкислювали кристалічною кислотою оксалатною до pH 2-3, після чого перемішували 60 хвилин фільтрували, далі проводили екстракцію хлороформом 3 рази по 15 хвилин. Підлужували водну фазу 25% розчином амоніаку до pH 8-9 та проводили екстракцію хлороформом 3 рази по 15 хвилин. Всі хлороформні витяжки об'єднували, розчинник випарювали при кімнатній температурі. Сухий залишок розчиняли у спирті. Для проведення хроматографічних досліджень ми використовували скляні пластинки для високоефективної тонкошарової хроматографії (ВЕТШХ, виробництво Естонія, силікагель КСКГ, фракція 5:20 мкм, товщина шару 130 ± 25 мкм, розмір пластинки 20x20 см), пластинки Сорбфіл (силікагель СТХ-ІА, фракція 5:17 мкм, тип підложки ПЕТФ-Є). Хроматографували в камері об'ємом 2000 см³, в яку вносили по 100 мл розчинників. Камеру насичували протягом 30 хвилин. На лінію старту на відстані 2 см від краю наносили зразки 0,1% водно-спиртового розчину пентоксифіліну, які вмішували від 1 до 20 мкг препарату. Шлях пробігу розчинників складав 10 см. Для хроматографування пентоксифіліну використовували системи розчинників кислого, нейтрального та лужного характеру, склад яких приведено нижче. Після досягнення розчинниками лінії фронту, пластинки виймали з камери, висушували при кімнатній температурі та проявляли плями досліджуваної речовини. Вибір оптимальних систем розчинників різної полярності проводили з врахуванням їх здатності давати значення величин R_f , які за даними літератури [3] в оптимальному випадку повинні бути близькими до 0,5. Перш ніж проводити дослідження на хроматографічних пластинках з різними системами розчинників, нами були відібрані проявники з урахуванням їх чутливості. З цією метою на хроматографічні пластинки послідовно наносили в різні крапки проби пентоксифіліну з вмістом від 1 до 20 мкг та обробляли різними проявниками. Як проявники ми використовували бромфеноловий синій, пари йоду, 5% розчин натрію нітропруссиду. Метод УФ-спектроскопії досить простий у використанні, характеризується експресністю, високою чутливістю та дає надійні результати в дослідженні. УФ-спектроскопія відрізняється вибором довжини хвилі, вибором розчинника для досліджуваної речовини та ін. Метод дозволяє точно виміряти світлопоглинання досліджуваних речовин при визначеній довжині хвилі. Багато органічних речовин здатні до поглинання монохроматичного випромінювання у видимій, УФ-, ІЧ-областях спектру. Крива залежності світлопоглинання від довжини хвилі носить назустріч спектра поглинання речовини і є її специфічною характеристикою. Якісний аналіз речовин проводиться за їх спектрами поглинання. Для виявлення

пентоксифіліну було вивчено УФ-спектри 0,002% розчину пентоксифіліну в 1М, 0,1М, 0,01М розчинах кислоти хлористоводневої, хлороформі, етанолі, 0,1М розчині натрію гідроксиду, диметилформаміді. Вимірювання проводили на спектрофотометрі «Specord M 40» (товщина шару 1 см). Було встановлено, що в усіх досліджуваних розчинах пентоксифіліну в області довжини хвиль 210-310 нм має чіткий максимум світлопоглинання.

Основні результати. В результаті проведених досліджень ми виявили, що пентоксифіллін з бромфеноловим синім дає блакитне забарвлення, чутливість реакції складає 5 мкг в досліджуваній пробі. При взаємодії препарату з парами йоду та 5% розчином натрію нітропруссиду спостерігається жовте та червоне забарвлення відповідно. Чутливість приведених реакцій складає 10 мкг в пробі.

При проведенні хроматографічних досліджень з використанням системи розчинників бензол–етанол–кислота ацетатна (75:24:1) Rf пентоксифілліну складала 0,61 (для пластинок ВЕТШХ) та 0,33 (для пластинок Сорбфіл), у системі толуол–ацетон–етанол–амоніак (45:35:10:7) Rf складала 0,73 (для пластинок ВЕТШХ) та 0,57 (для пластинок Сорбфіл), у системі бензол–етанол Rf складала 0,48 (для пластинок Сорбфіл), на пластинках ВЕТШХ препарат залишився на лінії старту, у системі толуол–ацетон–етанол–амоніак (45:45:7:3) Rf складала 0,53 (для пластинок ВЕТШХ) та 0,48 (для пластинок Сорбфіл). При вивченні УФ-спектрів пентоксифіліну в різних розчинниках, було встановлено, що максимум світлопоглинання досліджуваної речовини спостерігається в хлороформі при $\lambda_{\max} = 275 \pm 1$ нм; в 1М розчині кислоти хлористоводневої при $\lambda_{\max} = 268 \pm 1$ нм; в 0,1М, розчині кислоти хлористоводневої при $\lambda_{\max} = 269 \pm 1$ нм; в 0,01М розчині кислоти хлористоводневої при $\lambda_{\max} = 272 \pm 1$ нм, в етанолі при $\lambda_{\max} = 273 \pm 1$ нм, в 0,1 М розчині натрію гідроксиду при $\lambda_{\max} = 273 \pm 1$ нм; в диметилформаміді при $\lambda_{\max} = 275 \pm 1$ нм.

Висновки. Вивчено умови виявлення пентоксифіліну за допомогою методу хроматографії в тонких шарах сорбенту (пластинки Сорбфіл та скляні пластинки ВЕТШХ). Межа виявлення пентоксифіліну вказаним методом складає 5 мкг в пробі (проявник 1% розчин бромфенолового синього). Оптимальною системою розчинників для виявлення препарату є система толуол–ацетон–етанол–амоніак (45:45:7:3). Отримані УФ-спектри пентоксифіліну у хлороформі, кислоті хлористоводневої, етанолі, натрію гідроксилі та диметилформаміді можуть бути використано для ідентифікації речовини. Результати проведених досліджень можливо використовувати у ході хіміко-токсикологічного дослідження.

Список літератури

1. Машковский, М. Д. Лекарственные средства / М. Д. Машковский – 15-е изд., перераб., испр. и доп. - М. : Новая Волна, 2006. – 1206 с.
2. Полуян, С. М. Ідентифікація бромгексину за допомогою тонкошарової хроматографії, кольорових реакцій / С. М. Полуян, В. В. Болотов, В. С. Бондар та ін. // Вісник фармації. – 2000. - №2 (22). – С.11-13.
3. Clarke's analysis of drugs and poisons in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material: 4-th edition / A. C. Moffat; M. D. Osselton; B. Widdop [et al.].