

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

УДК 546.56:615.235

## КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ДОМІШОК КУПРУМУ У СУБСТАНЦІЇ N-АЦЕТИЛЦИСТЕЇНУ

І.М.Боровська, М.Є.Блажеєвський

Луганський державний медичний університет  
Національний фармацевтичний університет

**Запропонований новий кінетико-спектрофотометричний метод кількісного визначення домішок купруму у субстанції лікарської речовини N-ацетилцистеїну (АЦЦ) без попередньої мінералізації, заснований на вимірюванні світлопоглинання утвореного комплексу  $[\text{Fe}(o\text{-phen})_3]^{2+}$  у ході каталізованої іонами міді індикаторної реакції окиснення АЦЦ іонами феруму (III) у присутності 1,10-фенантроліну (*o*-phen) у середовищі ацетатного буферного розчину. Показано, що присутні домішки іонів феруму (II) та N-ацетилцистеїну у субстанції АЦЦ не заважають аналізу субстанції розробленим методом на граничний вміст домішок купруму.**

N-ацетил-L-цистеїн (АЦЦ) – відомий муколітичний засіб, котрий широко використовують у сучасній терапії та педіатрії. Також препарат знаходить застосування як антидот [3].

Наявність домішок важких металів, у тому числі солей купруму у препараті негативно впливає на його стійкість (призводить до утворення специфічної домішки N-ацетилцистеїну в результаті каталітичної реакції автоокиснення), а тому їх вміст у вигляді суми важких металів регламентується у нормативній документації. Відповідні фармакопейні тести передбачають здійснення, як правило, напівкількісних випробувань, заснованих на реакціях утворення осадів сульфідів важких металів. Останнім часом такі тести піддаються критичному перегляду у зв'язку з можливим застосуванням в аналітичній практиці більш чутливих, селективних, об'єктивних та точних методів.

Так, у ДФУ вміст важких металів в АЦЦ рекомендують оцінювати візуально шляхом порівняння забарвлення сульфиду, утвореного у реакції залишку проби випробуваного препарату після його мінералізації (спалювання у муфельній печі) з тіоацетамідом, із забарвленням осаду, отриманого за реакцією залишку після мінералізації еталонного розчину плумбу (II) [2].

Аналіз літературних джерел дозволяє зробити висновок про значимість кінетичних методів аналізу для визначення малих кількостей неорганічних домішок, які можна розглядати як альтернативний спосіб здійснення контролю лікарських препаратів на вміст важких металів. Крім того, кожна нова ін-

дикаторна реакція представляє інтерес як для підвищення чутливості, селективності, так і доступності реагентів та експресності [4-8, 10].

Метою даного дослідження було з'ясування можливості застосування доступного інструментального кінетико-спектрофотометричного методу аналізу для кількісного визначення вмісту домішок купруму у субстанції АЦЦ без попереднього здійснення мінералізації зразків проби.

Як індикаторна на купрум нами запропонована нова реакція каталітичного окиснення АЦЦ іонами феруму (III) у кислому середовищі в присутності 1,10-фенантроліну (*o*-phen), яка каталітично прискорюється іонами купруму(II). Швидкість перебігу індикаторної реакції реєстрували за збільшенням світлопоглинання забарвленого у червоний колір фероїну – комплексу, утвореного в результаті реакції Fe(II) з *o*-phen при 510 нм.

Каталітичне окиснення АЦЦ іонами феруму (III) в присутності іонів купруму (II), а відтак взаємодія утвореного в результаті реакції феруму (II) з *o*-phen відбувається за схемою (дивію схему).

### Матеріали та методи

N-ацетилцистеїн – субстанція, серія 091108, виробник «Moehs Catalana S. L.», Іспанія.

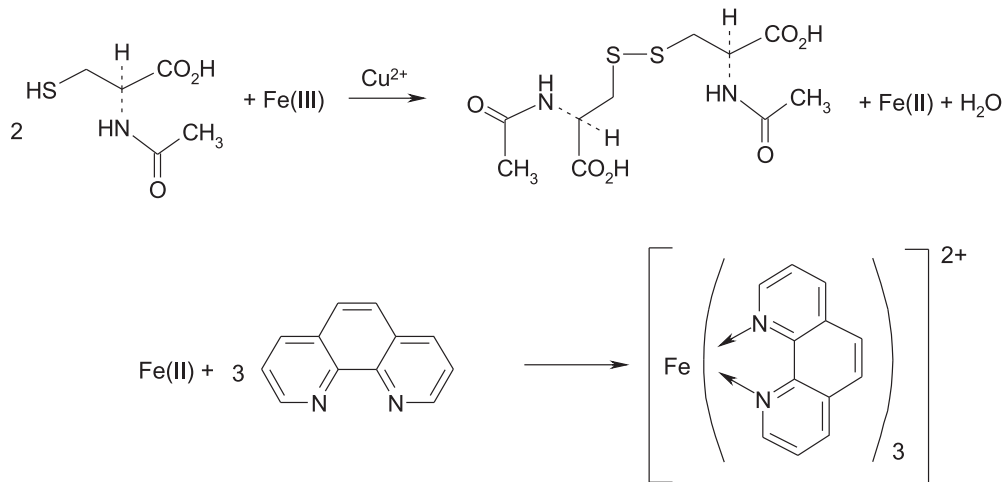
1,10-Фенантролін безводний 99,0%, «V&V Pharma Industries», Індія. Усі інші реактиви були кваліфікації ч.д.а. або х.ч.; розчини виготовляли на двічі дистильованій воді, яку одержували у кварцовому дистильаторі і зберігали у поліетиленовому посуді.

Розчини N-ацетилцистеїну  $5 \cdot 10^{-2}$  моль/л та 1,10-фенантроліну  $1,8 \cdot 10^{-3}$  моль/л виготовляли об'ємно-ваговим методом за точною наважкою у двічі дистильованій воді.

Вихідний розчин феруму (III)  $1 \cdot 10^{-2}$  моль/л виготовляли із залізо-амоніакових галунів об'ємно-ваговим методом за точною наважкою у воді з додаванням кислоти сульфатної [2]. Робочі розчини з вмістом феруму (III)  $1 \cdot 10^{-4}$  моль/л готували щоденно шляхом точного розбавлення вихідного розчину водою.

Ацетатний буферний розчин з рН=4,0 виготовляли шляхом змішування 90 мл 0,2 Моль/л розчину натрію ацетату з 410 мл 1,1 моль/л розчину ацетатної кислоти [4].

Вихідний розчин  $1 \cdot 10^{-3}$  моль/л купруму (II) був виготовлений об'ємно-ваговим методом шляхом розчинення 0,2497 г купруму сульфату п'ятиводного ч.д.а.



Схема

у воді у мірній колбі об'ємом 1 л. Одержаний розчин стандартизували методом йодометричного титрування [2]. Робочий розчин  $10^{-5}$  моль/л купруму (II) готували розбавленням вихідного розчину двічі дистильованою водою безпосередньо перед випробуваннями. Катіонообмінник КУ-2-8 переводили у  $H^+$ -форму згідно з методикою [9].

Для вимірювання світлопоглинання використовували спектрофотометр UNICO SPECTRO QUEST 2800 (Китай) і кварцову кювету на 1 см.

Використовували диференціальний варіант кінетичного методу. Тангенс кута нахилу лінійних ділянок кінетичних кривих у координатах оптична густина – час характеризував швидкість реакції ( $t_{\alpha}$ , хв<sup>-1</sup>).

### Результати та їх обговорення

Оптимальні концентрації АЦЦ, *o*-phen та феруму(II) були визначені експериментально.

На рис. 1 наведені кінетичні криві нагромадження фероїну в досліджуваній індикаторній реакції залежно від концентрації АЦЦ.

За оптимальну було обрану концентрацію АЦЦ  $5 \cdot 10^{-3}$  моль/л, яка дозволяла здійснювати достатню кількість вимірювань оптичної густини в часі на лінійній ділянці кінетичної кривої.

На рис. 2 наведені результати вивчення впливу концентрацій *o*-phen та Fe(III) на швидкість утворення фероїну у системі Fe(III) – АЦЦ – *o*-phen.

Як видно, при концентраціях реагентів  $1,8 \cdot 10^{-4}$  моль/л *o*-phen та  $10^{-5}$  моль/л Fe(III) кінетична крива

набуває лінійної форми впродовж 3,5 хв, що дозволяє точно знаходити умовну швидкість реакції ( $t_{\alpha}$ ).

Встановлено, що умовна швидкість реакції за оптимальних умов кислотності середовища лінійно залежить від концентрації доданого купруму (II). Це дозволило нам здійснювати оцінку вмісту домішок купруму у субстанції АЦЦ кінетичним методом у диференціальному варіанті.

На рис. 3 наведені кінетичні криві нагромадження фероїну в реакції АЦЦ з Fe(III) в присутності *o*-phen за різних умов: з наперед очищеним від домішок купруму АЦЦ, з добавкою солей купруму та з випробуваною субстанцією препарату АЦЦ. Добавка солей купруму 63,5 нг/мл призводить до підвищення швидкості реакції у 2 рази.

У спеціально здійснених досліджах з розчином субстанції АЦЦ, котрий попередньо був очищений за допомогою катіонообмінника КУ-2-8 у  $H^+$ -формі від домішок купруму, була доведена практична відсутність впливу зміни концентрації АЦЦ в інтервалі  $(1,3-5,0) \cdot 10^{-3}$  моль/л на умовну швидкість реакції.

На рис. 4 наведена залежність  $t_{\alpha}$  кінетичних кривих в реакції АЦЦ з Fe(III) в присутності *o*-phen від маси наважки АЦЦ. Як видно, умовна швидкість некаталітичної реакції становить  $0,02$  хв<sup>-1</sup>.

За оптимальних умов перебігу індикаторної реакції нами опрацьована нова кінетична методика кількісного визначення домішок купруму у субстанції лікарської речовини АЦЦ методом добавок.

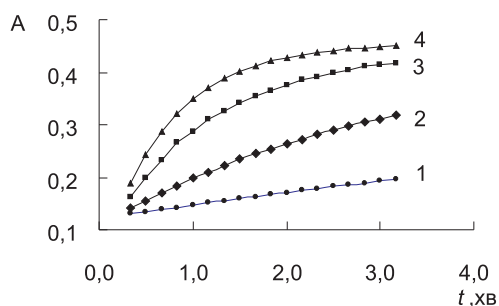


Рис. 1. Вплив концентрації АЦЦ на швидкість утворення фероїну у системі Fe(III) – АЦЦ – *o*-phen.  $c(\text{АЦЦ})$ , моль/л: 1 –  $2,5 \cdot 10^{-3}$ , 2 –  $5 \cdot 10^{-3}$ , 3 –  $7,5 \cdot 10^{-3}$ , 4 –  $10^{-2}$ ; pH=4,0.

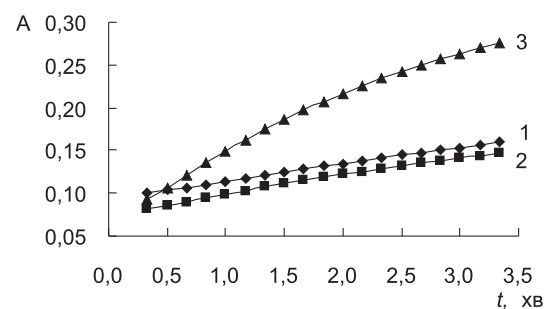


Рис. 2. Вплив концентрацій *o*-phen та Fe(III) на швидкість утворення фероїну у системі Fe(III) – АЦЦ – *o*-phen:  $c$  (моль/л): 1 –  $1,8 \cdot 10^{-4}$  *o*-phen та  $10^{-5}$  Fe(III), 2 –  $3,6 \cdot 10^{-4}$  *o*-phen та  $10^{-5}$  Fe(III), 3 –  $3,6 \cdot 10^{-4}$  *o*-phen та  $2 \cdot 10^{-5}$  Fe(III); pH=4,0,  $c(\text{АЦЦ}) = 5 \cdot 10^{-3}$  моль/л.

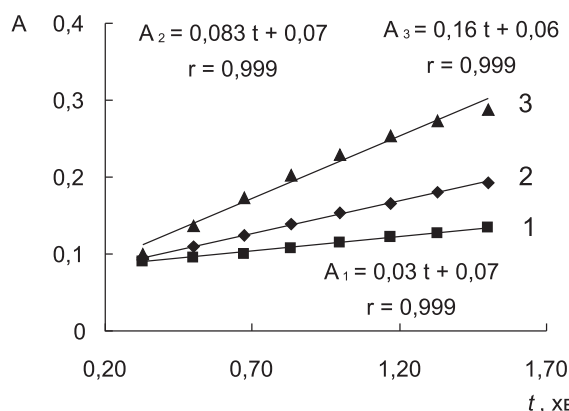


Рис. 3. Кінетичні криві нагромадження фероїну в реакції АЦЦ з Fe(III) в присутності *o*-phen: 1 –  $5 \cdot 10^{-3}$  моль/л очищений АЦЦ (MERC); 2 –  $5 \cdot 10^{-3}$  моль/л АЦЦ; 3 –  $5 \cdot 10^{-3}$  моль/л АЦЦ з добавкою Cu(II) = 63,5 нг/мл; рН 4,0;  $c(\text{Fe(III)}) = 1,1$  мкг/мл;  $c(\text{o-phen}) = 3,6 \cdot 10^{-4}$  моль/л.

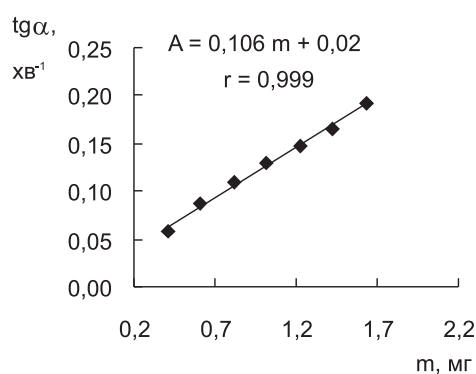


Рис. 4. Залежність умовної швидкості нагромадження фероїну у системі Fe(III) – АЦЦ – *o*-phen від величини маси субстанції АЦЦ.

Таблиця

Результати кінетико-спектрофотометричного визначення вмісту домішок купруму у субстанції лікарської речовини АЦЦ

| Назва субстанції лікарської речовини | Вміст купруму, мкг/г | Метрологічні характеристики ( $P=0,95$ ) |
|--------------------------------------|----------------------|--|
| N-ацетилцистеїн                      | 6,65                 | $\bar{x} = 6,54$ мкг/г                   |
|                                      | 6,87                 | $S = 0,03$                               |
|                                      | 6,42                 | $S_{\bar{x}} = 0,012$                    |
|                                      | 6,15                 | $\Delta\bar{x} = 0,35$                   |
|                                      | 6,37                 | $RSD = 4,3\%$                            |
|                                      |                      | $\varepsilon = 5,34\%$                   |
|                                      |                      | $\delta^* = -0,64\%$                     |

\*  $\delta$  – вміст домішки купруму в АЦЦ, визначений за референтною методикою [1].

Вміст домішок купруму у субстанції АЦЦ,  $X$ , у мкг/г, розраховували за формулою:

$$X = \left[ \frac{C_1}{(tg\alpha_2 - tg\alpha_1)} (tg\alpha_1 - tg\alpha_3) \right] / m,$$

де:  $X$  – вміст купруму у субстанції АЦЦ, мкг/г;  
 $C_1$  – кінцева концентрація добавки купруму (II), мкг/л;  
 $tg\alpha_1$  – тангенс кута нахилу кінетичної кривої окиснення субстанції АЦЦ у робочому досліді,  $xv^{-1}$ ;  
 $tg\alpha_2$  – тангенс кута нахилу кінетичної кривої окиснення субстанції АЦЦ з добавкою купруму(II),  $xv^{-1}$ ;  
 $tg\alpha_3$  – тангенс кута нахилу кінетичної кривої некаталітичної реакції (у «сліпому» досліді),  $xv^{-1}$ ;  
 $m$  – маса наважки випробуваної субстанції лікарської речовини АЦЦ, г.

Результати кінетико-спектрофотометричного визначення вмісту домішок купруму у субстанції лікарської речовини АЦЦ наведені у таблиці. Вміст купруму у субстанції не перевищує допустимого значення ( $\leq 10$  ppm) – 6,54 мкг/г,  $RSD \leq 4,3\%$  ( $\delta = -0,64\%$ ). Правильність отриманих результатів ( $\delta$ ) перевіряли за даними референтного кінетико-спектрофотометричного методу кількісного визначення купруму за індикаторною реакцією окиснення АЦЦ калію гексаціанофератом (III) у кислому середовищі [1]. До переваг запропонованого методу варто віднести відсутність довготривалої мінералізації зразка та використання токсичних реактивів, а також достатньо високу чутливість, вибірковість та доступність використовуваної апаратури.

#### ВИСНОВКИ

Опрацьований новий кінетико-спектрофотометричний метод кількісного визначення домішок купруму у субстанції лікарської речовини N-ацетилцистеїн. Вміст купруму у субстанції не перевищує допустимого значення ( $\leq 10$  ppm) – 6,54 мкг/г,  $RSD \leq 4,3\%$  ( $\delta = -0,64\%$ ).

**Методика визначення домішок купруму у субстанції АЦЦ.** До 1,00 мл  $5 \cdot 10^{-2}$  моль/л розчину АЦЦ додавали 2,00 мл  $1,8 \cdot 10^{-3}$  моль/л розчину *o*-phen, 2,00 мл  $1 \cdot 10^{-4}$  моль/л розчину феруму(III) і доводили 0,2 моль/л ацетатним буферним розчином з рН=4,0 до об'єму 10,00 мл. Температуру  $+30^\circ\text{C}$  підтримували за допомогою термостату ТС-80 та термостатованого пристрою. Аналогічні досліди виконували з добавкою 1,00 мл  $1 \cdot 10^{-5}$  моль/л розчину РСЗ купруму (II).

Швидкість некаталітичної реакції (за умов відсутності купруму у «сліпому» досліді) знаходили шляхом екстраполяції графічної залежності тангенсу кута нахилу кінетичних кривих від значення величини маси випробуваної субстанції лікарської речовини.

Експериментально встановлено, що визначення швидкості некаталітичної реакції (за відсутності домішок іонів купруму у «сліпому» досліді) може бути здійснене з розчином субстанції АЦЦ, котрий попередньо був спеціально очищений за допомогою катіонообмінника КУ-2-8.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Боровська І.М., Блажеєвський М.Є. / Тези доп. Річна сесія НАН України з проблеми «Аналітична хімія». 16-20 травня 2011 р., с. Гурзуф. – 2011. – С. 14.
2. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х.: РІПЕГ, 2001. – Доп. 1. – 2004. – 520 с.
3. Машиковский М.Д. Лекарственные средства: В 2 т. Т. 1. – 14-е изд., перераб., испр. и доп. – М.: ООО «Изд-во Новая волна»: Издатель С.Б.Дивов, 2002. – 540 с.
4. Chen Z., Zhang N., Zhuo L., Tang B. // *Microchimica Acta*. – 2009. – Vol. 164, №3-4. – P. 311-336.
5. Dubey S.S., Sunanadamma Y., Rao B.S. // *Intern. J. of Pharma World Res.* – 2011. – Vol. 2, issue 1. – P. 2-21.
6. Fornazari A.L., Suarez W.T., Vieira H.J., Fatibello-Filho O. // *Acta Chim. Slov.* – 2005. – Vol. 52. – P. 164-167.
7. Martinovic A., Cerjan-Stefenovic Št., Radic N. // *J. Chem. Metrl.* – 2008. – Vol. 2, №1. – P. 1-12.
8. Prasad S., Halafih T. // *Microchim. Acta.* – 2003. – Vol. 142, №4. – P. 237-244.
9. Standard 20298-74. Ion-exchange resins. Cation exchangers. Specifications. – Instead standard 13505-68 – 2005.07.01.
10. Ulusoy H.I., Urkan R.G., Akc J. M. // *Turk. J. Chem.* – 2011. – Vol. 35. – P. 599-612.

УДК 546.56:615.235

## КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРИМЕСИ МЕДИ В СУБСТАНЦИИ N-АЦЕТИЛЦИСТЕИН

И.Н.Боровская, Н.Е.Блажеевский

Предложен новый кинетико-спектрофотометрический метод количественного определения примеси меди в субстанции лекарственного вещества N-ацетилцистеин (АЦЦ) без предварительной минерализации, основанный на измерении светопоглощения образующегося комплекса  $[\text{Fe}(o\text{-phen})_3]^{2+}$  в ходе катализируемой ионами меди индикаторной реакции окисления АЦЦ ионами железа (III) в присутствии 1,10-фенантролина (*o*-phen) в среде ацетатного буферного раствора. Показано, что присутствующие примеси ионов железа (II) и N-ацетилцистеина в субстанции АЦЦ не мешают анализу субстанции разработанным методом на предельное содержание примесей меди.

UDC 546.56:615.235

## QUANTITATIVE DETERMINATION OF COPPER IMPURITY IN THE N-ACETYLCYSTEINE SUBSTANCE

I.M.Borovska, M.Ye.Blazheevskiy

A new kinetic-spectrophotometric method for quantitative determination of copper impurity in the substance of N-acetylcysteine (ACC) without preliminary mineralization has been suggested, it is based on the measurement of light absorption of the complex formed  $[\text{Fe}(o\text{-phen})_3]^{2+}$  ions in the copper-catalyzed indicator oxidation of ACC by iron (III) ions in the presence of 1,10-phenanthroline (*o*-phen) in the medium of acetate buffer solution. It has been shown that the impurities of iron (II) ions and N-acetylcysteine present in the substance of ACC do not interfere with the analysis of the substance by the method developed for the limit content of copper impurities.