

# ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

А.И. Жебентяев, В.М. Ёршик

## ОКСИКСАНТЕНОВЫЕ КРАСИТЕЛИ КАК РЕАГЕНТЫ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИАРИТМИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Витебский государственный  
медицинский университет

*Исследованы фотометрические и флуоресцентные реакции оксиксантеновых красителей с лекарственными веществами, обладающими антиаритмической активностью. Определены оптимальные условия образования ионных пар в водной и хлороформной фазах, основные химико-аналитические характеристики образующихся ионных ассоциатов. Разработаны методики количественного определения лекарственных веществ, обладающих антиаритмической активностью.*

Фотометрические реакции с оксиксантеновыми красителями применяются в трёх вариантах: экстракционная фотометрия, экстракционная флуориметрия и безэкстракционная фотометрия.

Безэкстракционные фотометрические методики количественного определения основаны на образовании ассоциатов органических оснований с оксиксантеновыми красителями в водной фазе, что сопровождается батохромным смещением спектра поглощения раствора. Так как спектры поглощения красителя и ионного ассоциата перекрываются, для практических целей используют длину волны, при которой разность оптических плотностей комплекса и красителя максимальна. Поскольку с течением времени возможно выпадение ассоциатов в осадок, что неблагоприятно сказывается на результатах количественного определения, для повышения устойчивости в раствор вводят поливиниловый спирт [1, 2, 3]. В работе [4] разработана методика количественного определе-

ния бензилдиметилгексадециламмония с этиловым эфиром 2,4,5,7-тетрабромфлуоресцеина, для стабилизации растворов прибавляли этанол.

При проведении количественного определения органических оснований безэкстракционным методом в качестве фотометрического реагента чаще всего используют эозин. Так, например, сравнительное исследование взаимодействия оксазила [1], аминазина [2], этония [5], циклобутония [3] с эозином, эритрозином, флоксином, бенгальским розовым А и бенгальским розовым Б показало, что наибольшей чувствительностью обладают фотометрические реакции с эозином и флоксином А [5].

В работе [6] проведено сравнительное исследование трифенилметановых красителей пирокатехинового фиолетового, бромфенолового синего, бромкрезолового зелёного, бромтимолового синего, фенолового красного, тимолового синего, алюминона, ксиленолового оранжевого, флуоресцеина, флуорексона, эритрозина, бенгальского красного, эозина для безэкстракционного определения хлорида полидиаллилдиметиламмония. Только для ксантеновых красителей эозина, флуоресцеина, флуорексона, эритрозина и бенгальского красного наблюдался батохромный сдвиг (5-30 нм) в присутствии органического основания. Несмотря на то, что максимальной чувствительностью обладает фотометрическая реакция с эозином, в качестве оптимального реагента авторы выбрали эритрозин, поскольку пределы обнаружения фотометрической реакции ниже.

Разработаны так же безэкстракционные методики количественного определения кватерона [7] с эозином; декаметоксина [8, 9], папаверина [10] с флоксином.

Образование флуоресцирующих ассоциатов, экстрагирующихся неполярными растворителями, используется для количественного определения декамина с флоксином [11], хлорохина, амодиахина, примаксина [12], прохлорперазина малеата, тиоэтилперазина г/х и трифлуоперазина

[13] с эозином, имипрамина [14] с эритрозином В.

Разработаны экстракционно-фотометрические методики количественного определения кодеина, физостигмина, папаверина, хинидина, димедрола, этилморфина, хинина, атропина, платифилина и сальсолина по реакции с эозином [15], N-цетилпиридиния, триметилбензиламмония, триэтилбензиламмония, N,N-диметилморфолиния, тетраметиламмония, тетрабутиламмония, бутироилхолина с эритрозином [16]; оксипрокаина с бенгальским розовым, эритрозином В и эозином [17; 18].

Добавки полярных органических растворителей улучшают воспроизводимость и чувствительность экстракционно-фотометрических и экстракционно-флуориметрических методик определения веществ основного характера с ксантеновыми красителями. В работе [19] исследовано влияние добавок метанола, пропанола-1, ацетона, ацетонитрила, диметилформамида и этанола на экстрагируемость ионных ассоциатов декмина, декаметоксина, этония, квалидила, берберина бисульфата с эозином и флоксина А. Для практических целей выбран наиболее доступный этанол.

В работе [20] разработана экстракционно-фотометрическая методика количественного определения малых количеств

ЧАС (цетилпиридиния, берберина, бензэтония) в лекарственных средствах, основанная на образовании тройных ассоциатов с ксантеновыми красителями (эозин, тетраодфлуоресцеин) и цинхоновыми алкалоидами (хинин, хинидин).

Целью настоящей работы является проведение сравнительного исследования различных вариантов применения оксиксантеновых красителей (ОКК) эозина (ЭО) и флоксина (ФЛА) для количественного определения лекарственных веществ, обладающих антиаритмической активностью: этацизина (ЭТА), верапамила (ВП), амиодарона (АМ).

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реагенты. Использовали лекарственные вещества и красители, формулы которых представлены на рис. 1. Исследуемые растворы готовили растворением лекарственных веществ (этацизина, верапамила, амиодарона) фармакопейной чистоты и натриевых солей красителей (эозина, флоксина-А) в дистиллированной воде. Нужное значение pH создавали путём введения необходимого количества хлороводородной кислоты, цитратных, фосфатных буферных растворов [21]. Применяли хлороформ фармакопейной чистоты.

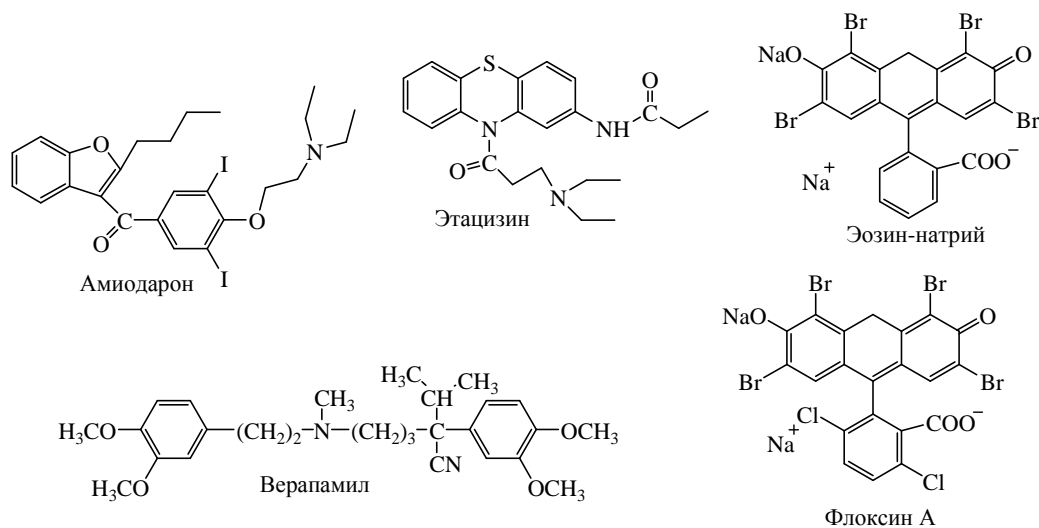


Рис. 1. Исследуемые лекарственные вещества и красители

Аппаратура. Светопоглощение исследуемых растворов ассоциатов измеряли с помощью спектрофотометра СФ-46 и фотометра фотоэлектрического КФК-3 в кюветах с толщиной слоя 1 см. Значения рН водной фазы контролировали универсальным иономером И-160, используя в качестве индикаторного стеклянный электрод. Интенсивность флуоресценции измеряли с помощью флуориметра БИАН. Спектры флуоресценции измеряли с помощью спектрофлуориметра Solar СФЛ 1211А.

*ИССЛЕДОВАНИЕ ХЛОРОФОРМНЫХ  
ЭКСТРАКТОВ АССОЦИАТОВ  
АНТИАРИТМИЧЕСКИХ  
ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ С ОКК*

Оптимальные значения рН водной фазы. Оптимальные значения рН экстракции ионных ассоциатов с эозином и флоксином А практически совпадают, что объясняется близостью констант кислотности указанных красителей. Для эозина значения  $pK_{a1}$  и  $pK_{a2}$  составляют 2,81 и 3,75 [22], для флоксина А – 2,41 и 3,13 соответственно [23]. Зависимость интенсивности флуоресценции экстрактов ионных ассоциатов от значения рН представлена на рис. 2. Равновесие экстракции устанавливается через 3 минуты.

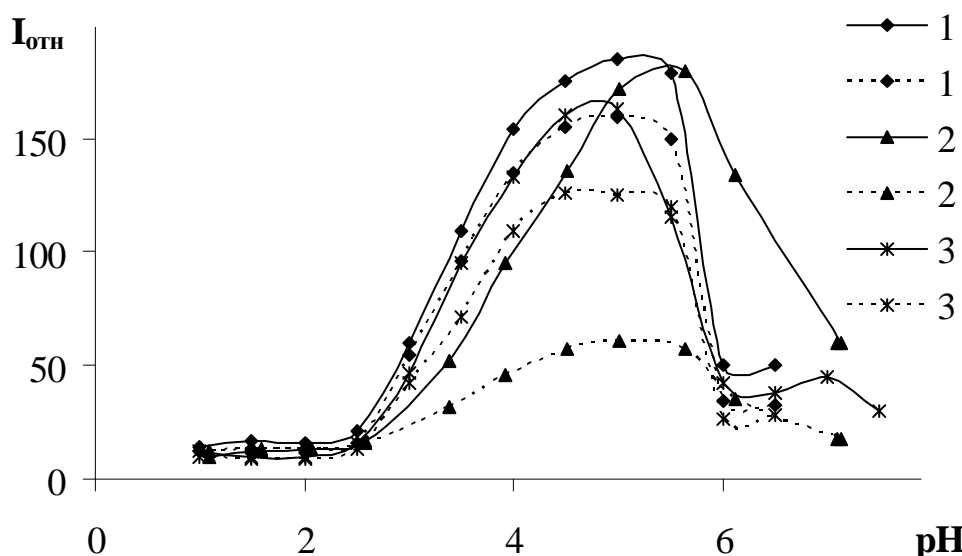


Рис. 2. Влияние значения рН водной фазы на интенсивность флуоресценции экстрактов ассоциатов

$$C_{\text{красителя}} = C_{\text{основания}} = 8,0 \cdot 10^{-5} \text{ М}$$

1. Этацизин; 2. Верапамил; 3. Амиодарон

сплошной линией обозначен эозин, пунктирной – флоксин А

График зависимости оптической плотности экстрактов ассоциатов от значения рН водной фазы аналогичен.

Исследуемые ионные ассоциаты не экстрагируются углеводородами (гексан, толуол) и тетрахлорметаном, экстрагируются хлороформом, 1,2-дихлорэтаном, дихлорметаном. Это объясняется слабыми кислотными свойствами полностью замещённых галогенпроизводных углеводо-

родов [5], что обеспечивает эффективную сольватацию полярных группировок ионных ассоциатов и стабилизацию их в органической фазе. В качестве оптимального экстрагента выбран доступный хлороформ. Сами ОКК так же экстрагируются хлороформом в виде бесцветных лактонных форм [24].

Спектральные характеристики.

Максимумы спектров поглощения ( $\lambda_{\text{погл}}$ ) и испускания флуоресценции ( $\lambda_{\text{исп}}$ )

хлороформных экстрактов исследуемых ассоциатов представлены в таблице 1.

Таблица 1

Спектральные характеристики экстрактов ионных ассоциатов

Основание	Эозин		Флоксин А	
	$\lambda_{\text{погл}}$	$\lambda_{\text{исп}}$	$\lambda_{\text{погл}}$	$\lambda_{\text{исп}}$
Амиодарон	530-535	554-558	533-537	555-559
Верапамил	530-535	554-558	533-537	555-559
Этацитин	530-535	554-558	533-537	555-559

Влияние добавок полярных органических растворителей на экстрагируемость ионных ассоциатов с ОКК

При смешивании оксиксантоновых красителей с лекарственными веществами, обладающими антиаритмической активностью, происходит образование полимерных форм ассоциатов в водной фазе, выпадающих в осадок. Это приводит к ухудшению перехода ассоциатов в органическую фазу и как следствие снижению воспроизводимости результатов анализа. После разделения фаз оптическая плотность экстрактов ассоциатов падает вследствие их разрушения и сорбции на стенках кювет. Согласно литературным данным [5] введение

добавок полярных органических растворителей приводит к улучшению экстрагируемости ионных ассоциатов. Таким образом, необходимы добавки таких полярных органических растворителей, которые способны препятствовать образованию осадка в водной фазе и стабилизируют ассоциаты в органической. Среди доступных растворителей этим требованиям удовлетворяют растворители, способные к распределению между водной и хлороформной фазой: этанол, изопропанол, ацетон.

На рис. 3. представлено влияние добавок полярных органических растворителей (ПОР) на оптическую плотность экстрактов ассоциатов верапамила с эозином.

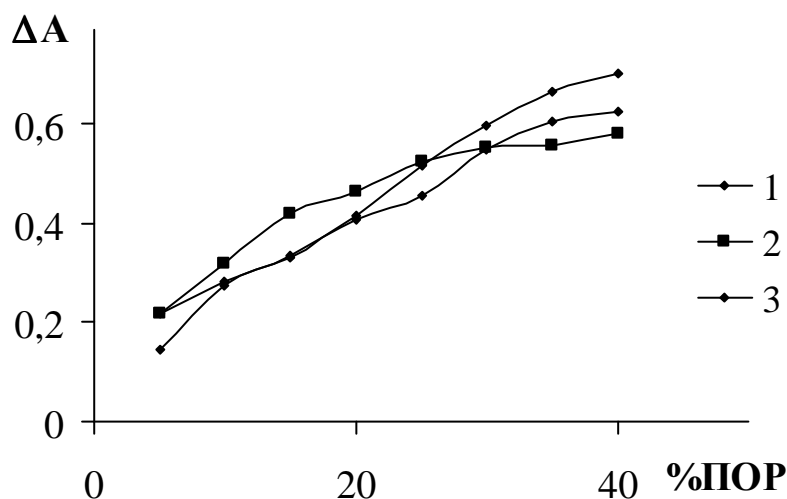


Рис. 3. Влияние объемной доли этанола (%) на разность ( $\Delta A$ ) оптической плотности экстрактов ассоциатов верапамила с эозином и холостого опыта

1. Этанол; 2. Изопропанол; 3. Ацетон

$C_{\text{ЭО}} = 2 \cdot 10^{-4}$  М;  $C_{\text{ВП}} = 1 \cdot 10^{-4}$  М; рН = 4,5;  $\lambda = 535$  нм

При дальнейшем увеличении содержания полярных органических растворителей не удаётся достичь плато полезного аналитического сигнала. При введении

в водную фазу спиртов и ацетона происходит значительное изменение соотношения объемов полярной и неполярной фаз, вследствие распределения полярного орга-

нического растворителя между фазами. Время, требующееся для разделения фаз после перемешивания, также увеличивается. Поэтому в качестве оптимального содержания добавки выбирали такое содержание полярного органического растворителя, при котором не происходит образования осадка в водной фазе в течение 20 минут. Этого времени достаточно для проведения анализа методом экстракционной фотометрии и флуориметрии. В случае ионных ассоциатов верапамила с ОКК преимуществ в использовании в качестве добавки ацетона, этанола или изопропанола нет. Нами выбран наиболее доступный и малотоксичный этанол. Оптимальное содержание этанола составляет 30 % (об). В случае образования ионных ассоциатов этацизина в присутствии этанола или ацетона наблюдается низкая воспроизводимость значений оптической плотности и интенсивности флуоресценции. Поэтому оптимальным является использование добавки 20% (об) изопропанола в водную фазу. В случае экстракционной фотометрии ионных ассоциатов амиодарона с ОКК оптимальным является прибавление 35% (об.) этанола в водную фазу.

После отделения органической фазы, содержащей проэкстрагированные ассоциаты, и переноса органической фазы в кювету происходит некоторое изменение оптической плотности вследствие разрушения ассоциатов и сорбции их на стенках кювет. Для примера на рис. 4 представлена зависимость интенсивности флуоресценции ионных ассоциатов верапамила с ОКК. Вначале происходит резкое уменьшение интенсивности флуоресценции, затем интенсивность флуоресценции остаётся практически постоянной в течение часа. Поэтому интенсивность флуоресценции и оптическую плотность ионных ассоциатов верапамила с ОКК следует измерять через 5 минут после разделения фаз, этацизина — через 3 минуты. В случае ионных ассоциатов ОКК с амиодароном вначале происходит резкое уменьшение интенсивности флуоресценции ассоциатов вследствие адсорбции последних на стенках кювет. Затем уменьшение интенсивности флуоресценции происходит незначительно. Поэтому измерять флуоресценцию ионных ассоциатов ОКК с амиодароном целесообразно в промежутке времени 5-10 минут после разделения фаз.

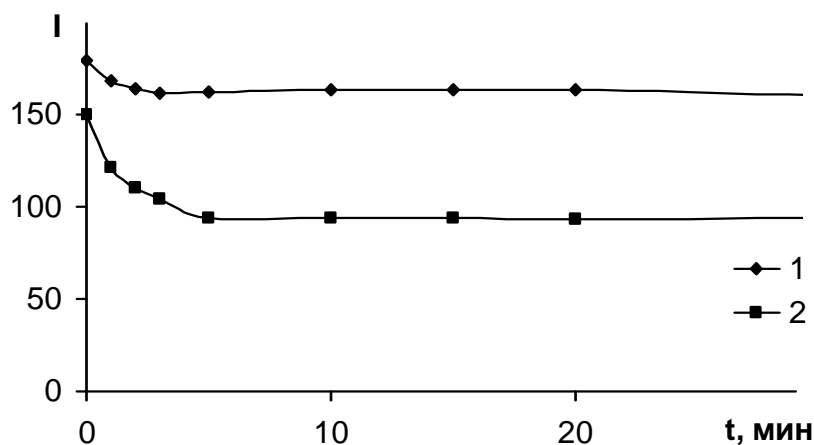


Рис. 4. Изменение интенсивности флуоресценции хлороформных экстрактов верапамила с ОКК во времени  
 1.  $C_{ЭО} = C_{ВП} = 4 \cdot 10^{-5} \text{ М}$ ; pH = 4,5  
 2.  $C_{ФЛА} = C_{ВП} = 4 \cdot 10^{-5} \text{ М}$ ; pH = 4,5

Соотношение компонентов в ионных ассоциатах определяли по методу изомолярных серий, насыщения, Асмуса. Во всех случаях оно составляет 1:1.

Исследованы основные химико-аналитические характеристики ионных ассоциатов. Рассчитаны условные молярные коэффициенты поглощения ( $\epsilon$ ). Методом

повторных экстракций определены степень однократной экстракции (R, %) и коэффициенты распределения (D) образующихся ионных ассоциатов, а так же коэффициенты Сендела ( $m_s$ ), Коха и Кох-Дедица ( $C_k$ ) (таблица 2). При проведении экстракционно-флуориметрического определения лекарственных веществ чувствительность флуориметра регулирует сам оператор. Поэтому интенсивность флуоресценции экстрактов ассоциатов является величиной относительной и непригодной для характеристики чувствительности флуориметрических реакций. Для сравнения чувствительности флуориметрических реакций используют значения квантового выхода флуоресценции (Q, %) и объективного критерия чувствительности ( $\varepsilon \cdot Q$ ) [26].

Согласно [25] квантовый выход флуоресценции рассчитывают по формуле 1

$$Q^x = Q^{cm} \cdot \frac{S^x \cdot A_\lambda^{cm}}{S^{cm} \cdot A_\lambda^x} \quad (1)$$

где  $Q^x$  и  $Q^{ct}$  – квантовые выходы флуоресценции растворов исследуемого вещества и стандартного вещества соответственно;

$S^x$  и  $S^{ct}$  – площади, ограниченные кривыми спектров флуоресценции растворов исследуемого и стандартного веществ

соответственно, измеренные в одинаковых условиях;

$A_\lambda^x$  и  $A_\lambda^{ct}$  – оптические плотности растворов исследуемого и стандартного веществ, измеренные при длине волны возбуждающего света  $\lambda$ .

Так как хлороформом наряду с ионными ассоциатами могут экстрагироваться флуоресцирующие формы красителей, расчет проводили по формуле 2.

$$Q^x = Q^{\bar{n}0} \cdot \frac{(S^x - S^{\bar{o}i\bar{e}}) \cdot A_\lambda^{\bar{n}0}}{S^{\bar{n}0} \cdot (A_\lambda^x - A_\lambda^{\bar{o}i\bar{e}})} \quad (2)$$

где  $S^{xол}$  – площадь под кривой спектра флуоресценции контрольного опыта (экстракта, не содержащего органическое основание);

$A_\lambda^{xол}$  – оптическая плотность контрольного опыта при длине волны возбуждающего света  $\lambda$ .

В качестве стандартного вещества использовали этанольный раствор родамина С, квантовый выход флуоресценции которого равен 97% [25]. Родамин С обладает спектральными характеристиками близкими к спектральным характеристикам ионных ассоциатов, образованных оксиксантоновыми красителями. В таблице 2 представлены полученные значения квантового выхода флуоресценции и объективного критерия чувствительности.

Таблица 2

Химико-аналитические характеристики экстрагирующихся ионных ассоциатов

Ассоциат	$\varepsilon_{max} \cdot 10^{-3}$	Q, %	$\varepsilon \cdot Q$	R, %	D	$m_s \cdot 10^2$ , МКГ/СМ <sup>2</sup>	$C_k$ , МКГ/МЛ
ЭТА-ФЛА	13,8±0,4	60	828000	86,2±2,0	6,2	3,26	0,163
ЭТА-ЭО	15,6±0,8	61	951600	87,4±2,8	6,9	2,88	0,144
ВП-ФЛА	4,9±0,2	59	289100	67,1±3,3	2,0	10,00	0,500
ВП-ЭО	5,5±0,5	63	346500	81,9±4,0	4,5	8,93	0,446
АМ-ФЛА	5,7±0,3	41	233700	91,2±6,2	10,4	11,90	0,595
АМ-ЭО	6,0±0,3	39	234000	89,9±3,1	8,9	11,36	0,568

Исследована зависимость оптической плотности экстрактов ассоциатов от количества органического основания при различных концентрациях ОКК. В качестве оптимальной ( $C_{опт}$ ) принимали такую концентрацию реагента, при которой зависимость поглощения экстрактов от кон-

центрации антиаритмического лекарственного вещества остаётся прямолинейной до величины А, равной не менее 0,8. В случае экстракционно-флуориметрического определения создавали такую концентрацию красителя, при которой получают воспроизводимые значения интенсивности

флуоресценции, незначительная окраска раствора (при этом отклонения интенсивности флуоресценции от истинного значения вследствие эффекта внутреннего фильтра минимальны), не требуется значительное разбавление аналита (при этом по-

грешности, связанные с разбавлением минимальны).

Оптимальные концентрации реагентов, область прямолинейной зависимости и пределы обнаружения представлены в таблице 3.

Таблица 3

Оптимальная концентрация красителя ( $C_{\text{опт}}$ ), область прямолинейной зависимости ( $C_{\text{л.с.}}$ ) и пределы обнаружения ( $C_{\text{мин}}$ ) экстракционно-фотометрического и экстракционно-флуориметрического определения антиаритмических лекарственных веществ

Ассоциат	Экстракционная фотометрия			Экстракционная флуориметрия		
	$C_{\text{опт}}$ , моль/л	$C_{\text{л.с.}} \cdot 10^5$ , моль/л	$C_{\text{мин}} \cdot 10^6$ , моль/л	$C_{\text{опт}}$ , моль/л	$C_{\text{л.с.}} \cdot 10^6$ , моль/л	$C_{\text{мин}} \cdot 10^6$ , моль/л
ЭТА-ФЛА	$7,0 \cdot 10^{-5}$	0,4 – 6,5	2,5	$4 \cdot 10^{-5}$	4,0 – 40,0	2,2
ЭТА-ЭО	$6,0 \cdot 10^{-5}$	0,4 – 6,0	3,5	$4 \cdot 10^{-5}$	4,0 – 40,0	1,5
ВП-ФЛА	$1,7 \cdot 10^{-4}$	10 – 150	6,1	$4 \cdot 10^{-5}$	4,0 – 40,0	3,2
ВП-ЭО	$1,5 \cdot 10^{-4}$	20 – 140	15,3	$4 \cdot 10^{-5}$	4,0 – 40,0	2,6
АМ-ФЛА	$1,4 \cdot 10^{-4}$	16 – 140	7,8	$4 \cdot 10^{-5}$	4,0 – 40,0	2,9
АМ-ЭО	$1,2 \cdot 10^{-4}$	18 – 120	9,0	$4 \cdot 10^{-5}$	4,0 – 40,0	2,8

### ИССЛЕДОВАНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ ИОННЫХ АССОЦИАТОВ В ВОДНОЙ ФАЗЕ

Ионные ассоциаты с ОКК могут так же образовываться в водной фазе. При прибавлении к растворам ОКК веществ

основного характера происходит изменение окраски исследуемых растворов. Для примера на рис. 5 представлены спектры поглощения растворов ионного ассоциата амиодарона с эозином, эозина и разностный спектр.

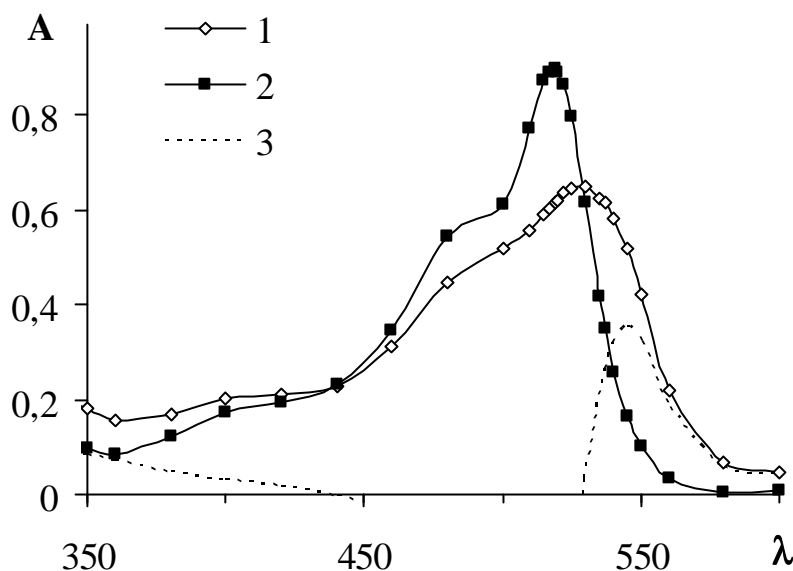


Рис. 5. Спектры поглощения растворов ионного ассоциата амиодарона с эозином (1), эозина (2), разностный спектр (3)  $\text{pH} = 3,0$ ;  $C_{\text{ЭО}} = C_{\text{АМ}} = 2 \cdot 10^{-5}$  М

Для аналитических целей выбирали такую длину волны, при которой разность

между поглощением ионных ассоциатов и холостого опыта максимальна. Для ионных

ассоциатов с эозином она составляет 545 нм, с флоксином А – 550 нм.

Влияние значения рН на образование ионных ассоциатов в водной фазе представлено на рис. 6.

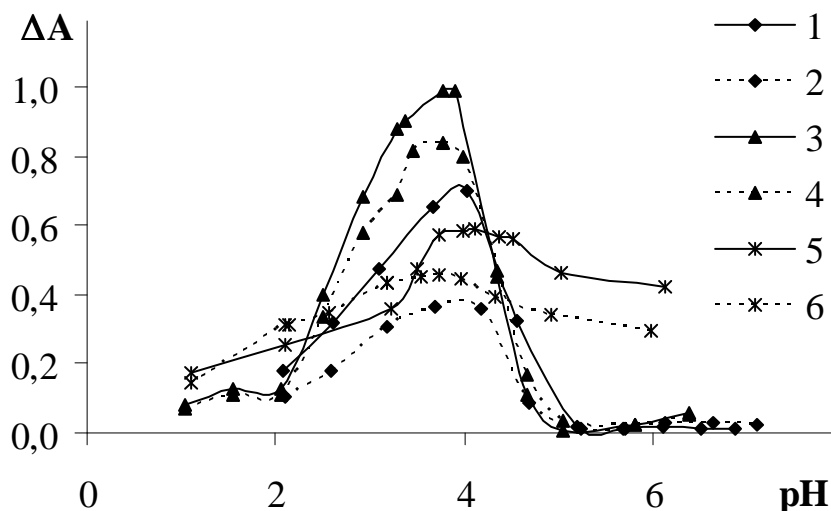


Рис. 6. Влияние значения рН водной фазы на разность ( $\Delta A$ ) оптической плотности ионных ассоциатов и холостого опыта  
 1.  $C_{ЭО} = C_{ЭТА} = 6 \cdot 10^{-5}$  М; 2.  $C_{ФЛА} = C_{ЭТА} = 6 \cdot 10^{-5}$  М;  
 3.  $C_{ЭО} = C_{ВП} = 6 \cdot 10^{-5}$  М; 4.  $C_{ФЛА} = C_{ВП} = 6 \cdot 10^{-5}$  М;  
 5.  $C_{ЭО} = C_{АМ} = 2 \cdot 10^{-5}$  М; 6.  $C_{ФЛА} = C_{АМ} = 2 \cdot 10^{-5}$  М

Для стабилизации окраски ассоциатов в систему вводили 0,1% поливинилового спирта. Окраска развивается через 3 минуты в случае ионных ассоциатов с этацизином, через 5 минут с верапамилом и амиодароном и остаётся устойчивой не менее одного часа. Порядок смешивания компонентов раствора оказывает влияние на величину оптической плотности: для

достижения максимального значения оптической плотности между стадиями введения органического основания и красителя должна присутствовать стадия введения буферного раствора и поливинилового спирта.

Основные химико-аналитические характеристики образующихся ионных ассоциатов представлены в таблице 4.

Таблица 4

Основные характеристики чувствительности фотометрических реакций исследуемых лекарственных средств с оксиксантоновыми красителями (безэкстракционная фотометрия)

Лекарственное средство	Краситель	$\epsilon_{\max} \cdot 10^{-3}$	$A_{1\text{см}}^{1\%}$	$m_s \cdot 10^2$ , МКГ/СМ <sup>2</sup>	$C_k$ , МКГ/МЛ
Этацизин	ФЛА	8,6±0,4	206	4,85	0,243
	ЭО	17,3±2,5	414	2,42	0,121
Верапамил	ФЛА	15,1±5,4	361	2,77	0,139
	ЭО	20,2±3,1	483	2,07	0,104
Амиодарон	ФЛА	21,8±1,1	522	1,91	0,096
	ЭО	29,6±2,5	708	1,41	0,071

Методами изомолярной серии, насыщения, Асмуса установлено, что соотношение компонентов в ионных ассоциатах,

образующихся в водном растворе, составляет 1:1.



Оптимальные концентрации красителей подбирали таким образом, чтобы градуировочный график был линейен вплоть до значений оптической плотности экстрактов ассоциатов 0,8-1,0.

Оптимальные концентрации красителей, область прямолинейной зависимости, пределы обнаружения представлены в таблице 5.

Таблица 5

Оптимальная концентрация красителя ( $C_{\text{опт}}$ ), область прямолинейной зависимости ( $C_{\text{л.с.}}$ ) и пределы обнаружения ( $C_{\text{мин}}$ ) безэкстракционного фотометрического определения антиаритмических лекарственных средств с ОКК

Лекарственное средство	Краситель	$C_{\text{опт}}$ , моль/л	$C_{\text{л.с.}} \cdot 10^5$ моль/л	$C_{\text{мин}} \cdot 10^6$ моль/л
Верапамил	Эозин	$6 \cdot 10^{-5}$	1,1 – 3,6	9,2
	Флоксин А	$6 \cdot 10^{-5}$	1,5 – 3,6	10,2
Этацизин	Эозин	$4 \cdot 10^{-5}$	1,2 – 4,8	7,5
	Флоксин А	$4 \cdot 10^{-5}$	1,3 – 8,0	5,2
Амиодарон	Эозин	$4 \cdot 10^{-5}$	0,5 – 2,4	2,3
	Флоксин А	$4 \cdot 10^{-5}$	0,5 – 3,2	2,1

На основании полученных данных разработаны безэкстракционные и экстракционно-фотометрические и экстракционно-флуориметрические методики количественного определения верапамила, этацизина, амиодарона ОКК. Правильность определения лекарственных веществ контролировалась методом добавок. Ниже в качестве примера приведены методики определения амиодарона в таблетках безэкстракционным фотометрическим методом с эозином, этацизина в таблетках методом экстракционной фотометрии с эозином, верапамила методом экстракционной флуориметрии с эозином.

Определение амиодарона в таблетках безэкстракционным фотометрическим методом

0,2 г таблеточной массы помещают в мерную колбу на 100 мл, прибавляют 20 мл этанола и встряхивают 20 мин. Прибавляют 15 мл 0,1 М НСl, и доводят водой до метки. Фильтруют через бумажный фильтр, отбрасывая первые порции фильтрата (раствор А). 5 мл раствора А вносят в мерные колбы на 100 мл, прибавляют 1 мл 0,1 М НСl, и доводят водой до метки (раствор Б). В пенициллиновые флаконы вносят 1 мл раствора Б, 1 мл воды, 1 мл 1% ПВС, 1 мл ацетатного буферного раствора (рН = 4,0), 1мл  $2 \cdot 10^{-4}$  М эозина. Выдерживают 5 минут и измеряют оптическую плотность полученного раствора при

545 нм. Концентрацию амиодарона рассчитывают по градуировочному графику.

При анализе таблеток амиодарона 0,2 г (серия 611) найдено ( $n = 7$ ,  $P = 0,95$ ):  $0,198 \pm 0,001$  г,  $S_r = 0,011$ . Воспроизводимость и среднее значение результата анализа статистически не отличается от полученных фармакопейным методом (УФ-спектрофотометрия):  $0,200 \pm 0,002$  г,  $S_r = 0,013$ .

Определение этацизина в таблетках 0,05 г методом экстракционной фотометрии с ОКК

4 таблетки этацизина по 0,05 г растирают в ступке и количественно переносят в мерную колбу на 200 мл, прибавляют 5 мл 0,1М НСl, 50 мл воды и встряхивают 5 минут, затем доводят водой до метки и фильтруют через бумажный фильтр, отбрасывая первые порции фильтрата (раствор А). В мерную колбу на 100 мл вносят 4,5 мл раствора А, доводят водой до метки и перемешивают (раствор Б). В пенициллиновые флаконы вносят по 1 мл раствора Б, 1 мл изопропанола, 1 мл цитратного буферного раствора со значением рН = 4,5, 1,5 мл  $2 \cdot 10^{-4}$  М эозина, 0,5 мл воды, 5 мл хлороформа и экстрагируют 3 минуты. В кювету помещают хлороформный экстракт и через 3 минуты измеряют оптическую плотность при  $\lambda = 535$  нм относительно воды очищенной.

Концентрацию этацизина в исследуемом растворе определяют по градуировочному графику.

Содержание этацизина в таблетках рассчитывают по формуле:

$$m = \frac{C \cdot 5 \cdot 100 \cdot 200}{4,5 \cdot 4 \cdot 1000} \quad (5)$$

где  $m$  – масса этацизина в таблетке, мг;

$C$  – концентрация этацизина в исследуемом растворе, мкг/мл.

При анализе таблеток этацизина 0,05 г (серия 10105) найдено ( $n = 7$ ,  $P = 0,95$ ):  $0,0530 \pm 0,0007$  г,  $S_r = 0,014$ . Воспроизводимость и среднее значение результата анализа статистически не отличается от полученных фармакопейным мето-

дом (УФ-спектрофотометрия):  $0,0541 \pm 0,0005$  г,  $S_r = 0,010$ .

Определение верапамила методом экстракционной флуориметрии с флоксином А

В пенициллиновые флаконы помещают 1 мл исследуемого раствора, 1,75 мл 96% этанола, 1 мл цитратного буферного раствора со значением pH 4,5, 1 мл  $2 \cdot 10^{-4}$  М раствора флоксина А, воды до 5 мл. Экстрагируют 5 мл хлороформа и измеряют интенсивность флуоресценции полученного экстракта. Содержание верапамила в растворе рассчитывают по градуировочному графику. Результаты определения верапамила в растворах представлены в таблице 6.

Таблица 6

Результаты количественного определения верапамила в растворах по флуоресцентной реакции с флоксином А ( $n = 5$ ,  $P = 0,95$ )

Введено, моль/л · 10 <sup>5</sup>	Найдено моль/л · 10 <sup>5</sup>
1,20	1,15±0,13
2,00	1,95±0,08
2,80	2,91±0,07
3,60	3,65±0,07

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Определены основные химико-аналитические характеристики ионных ассоциатов лекарственных веществ, обладающих антиаритмической активностью с ОКК: молярные коэффициенты поглощения, квантовые выходы флуоресценции, значения объективного критерия чувствительности, коэффициенты Сендела, Коха и Кох-Дедица. Наибольшей чувствительностью обладают экстракционно-флуориметрические методики количественного определения антиаритмических лекарственных веществ с ОКК. Чувствительность безэкстракционных фотометрических методик анализа с ОКК выше, чем экстракционно-фотометрических.

2. При проведении экстракционной флуориметрии и фотометрии необходимы добавки спиртов для предотвращения выпадения осадка в водной фазе. Оптималь-

ным является прибавление 20-35% этанола или изопропанола.

3. Разработаны экстракционно-фотометрические, экстракционно-флуориметрические и безэкстракционные фотометрические методики количественного определения верапамила, этацизина, амиодарона. Воспроизводимость и среднее значение результатов анализа не отличается от воспроизводимости и среднего значения результатов анализа, полученных по методикам, описанным в нормативной документации.

### SUMMARY

A.I.Zhebentyaev, V.M.Yorshyk  
OXYXANTHENE DYES AS REAGENTS  
FOR QUANTITATIVE DETERMINATION  
OF ANTIARRHYTHMIC DRUGS

Photometric and fluorescent oxyxanthene dyes reactions with antiarrhythmic medicinal substances were examined. The optimal con-

ditions of ion pair formation in water and chloroformic phase were established. The main chemico-analytical properties of received ion associates were studied. The procedures for the of quantitative determination of antiarrhythmic drugs were elaborated.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Жебентяев А.И. Исследование галогенпроизводных флуоресцеина для спектрофотометрического определения оксазила// Фармация. – 1984. – N. 5. – С. 47-49.
2. Жебентяев А.И., Мчедлов-Петросян Н.О. Исследование взаимодействия аминазина с оксиксантовыми красителями// Известия ВУЗов, химия и химическая технология. – 1987. – Т. 30, вып. 6. – С. 30-33.
3. Жебентяев А.И. Спектрофотометрические характеристики ассоциатов циклобутония с оксиксантовыми красителями// Весці АН БССР, сер. хім. навук – 1985. – N. 3. – С. 11-13.
4. Пинкас М.А., Тутунару М.Н., Ропот В.М. Взаимодействие хлорида бензилдиметилгексадециламмония с этиловым эфиром 2,4,5,7-тетрабромфлуоресцеина// Журнал аналитической химии. – 1977. – Т. XXXII, вып. 9. – С. 1807-1811.
5. Жебентяев А.И., Жерносек А.К. Химико-аналитические свойства флуоресцирующих ассоциатов этония с галогенпроизводными флуоресцеина// Весці АН Беларусі, сер. хім. навук. – 1996. – № 2. – С. 18-24.
6. Антонова Т.В., Вершинин В.И., Дедков Ю.М. Использование трифенилметановых красителей для спектрофотометрического определения полимерных флокулянтов в водных растворах// Журнал аналитической химии. – 2005. – Т. 60, № 3. – С. 278-283.
7. Жебентяев А.И. Спектрофотометрическое определение кватерона// Весці АН БССР, сер. хім. навук – 1985. – N. 5. – С. 115-117.
8. Жебентяев А.И. Спектрофотометрическое определение декаметоксина// Весці АН БССР, сер. хім. навук – 1982. – N. 4. – С. 25-27.
9. Жебентяев О.И., Сербя Р.М., Сокирко В.И. Фотометричне визначення декаметоксину в таблетках// Фармацевтичний журнал. – 1991. – N. 1. – С. 46-48.
10. Жебентяев А.И. Спектрофотометрическое определение папаверина гидрохлорида по реакции с флоксином// Химия природных соединений. – 1988. – № 6. – С. 836-838.
11. Жебентяев А.И., Жерносек А.К., Егорова С.И., Мчедлов-Петросян Н.О. Взаимодействие оксиксантоновых красителей с катионами в двухфазной системе. Экстракционно-флуориметрическое определение декамина с флоксином А// Журнал аналитической химии. – 1997. – Т. 52, N. 9. – С. 944-951.
12. Ibrahim F.A., Belal F., El-Brashy A. Fluorimetric determination of some aminoquinoline antimalarials using eosin// Microchem. J. – 1989. – Vol. 39, N. 1. – P. 65-70.
13. Zakhari N.A., Rizk M., Walash M.I., Ibrahim F. Fluorimetric determination of certain phenothiazine derivatives using eosin// Anal. Lett. – 1985. – Vol. 18, N. B11. – P. 1405-1417.
14. Perez-Ruiz T., Carmen Martinez-Lozano., Ciriaco Sidrach. Automatic extraction-spectrofluorimetric method for the determination of imipramine in pharmaceutical preparations// Analyst. – 1995. – Vol. 120, N. 4. – P. 1103-1106.
15. Бензар Т.П. Экстракційно-фотометричне визначення фармацевтичних препаратів у вигляді еозинатів// Фармацевтичний журнал. – 1971. – N. 2. – С. 42-45.
16. Черновьянц М.С., Гольева В.Е., Пыщев А.И. Спектрофотометрическое определение полиодгалогенидов органических азотсодержащих катионов// Журнал аналитической химии. – 2003. – Т. 58, N. 2. – С. 161-165.
17. Abdel-Gawad F.M. Spectrophotometric determination of oxybuprocaine hydrochloride with halofluorescein derivatives// Farmaco. – 1995. – Vol. 50, N. 3. – P. 197-200.

18. Abdel-Gawad F.M. Spectrophotometric determination of trace amounts of oxybutyrocaine hydrochloride with halofluorescein derivatives// Egypt. J. Anal. Chem. – 1994. – Vol. 3, N. 1. – P. 168-172.
19. Жерносек А.К., Жебентяев А.И. Влияние полярных органических растворителей на экстракцию ассоциатов четвертичных аммониевых соединений с галогенпроизводными флуоресцеина// Весці АН Беларусі. Сер. хім. навук. – 1997. – № 1. – С. 11-15.
20. Sakai T., Hirose A. Mixed ternary ion associate formation between xanthene dye, cinchona-alkaloid and quaternary ammonium ion and its application to the determination of trace amounts of quaternary ammonium salts in pharmaceuticals// Talanta. – 2003. – Vol. 59, Issue 1. – P. 167-175.
21. Лурье Ю.Ю. Справочник по аналитической химии. – М.: Химия, 1989. – С. 268-269.
22. Мчедлов-Петросян Н.О., Адамович Л.П., Никитина Л.Е. Константы ионизации и таутомерное равновесие эозина в водном растворе// Журнал аналитической химии. – 1980. – Т. 35, № 8. – С. 1495-1502.
23. Матвеев М.А., Щербов Д.П., Ахметова С.Д. Исследование спектрофотометрических и люминесцентных свойств оксиксантовых красителей в водных растворах// Журнал аналитической химии. – 1979. – Т. 34, № 6. – С. 1049-1054.
24. Мчедлов-Петросян Н.О. Дифференцирование силы органических кислот в истинных и организованных растворах – Харьков, 2004. – 326 с.
25. Паркер С. Фотолюминесценция растворов — М.: Мир, 1972. – 510 с.
26. Пилипенко А.Т., Жебентяев А.И., Волкова А.И. Флуоресцентная реакция вольфрама с морином// Журнал аналитической химии. – 1974. – Т. 29, № 9. – С. 1854-1856.

*Поступила 15.09.2006 г.*

\*\*\*\*\*

**А.А.Шеряков, Н.Н.Кенькова, Л.П.Рябкова**

## **ИЗГОТОВЛЕНИЕ, КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА И ИЗУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА 0,2 % РАСТВОРА ВОДОРОДА ПЕРОКСИНА В УСЛОВИЯХ АПТЕКИ**

Республиканская контрольно-аналитическая лаборатория УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»

### *ВВЕДЕНИЕ*

Лекарственные средства, изготовленные в аптеках, по-прежнему пользуются большим спросом у врачей, так как промышленность не может обеспечить всей необходимой номенклатуры лекарственных средств. Вместе с тем, в лечебной практике появляются новые методики лечения больных, требующие лекарственных средств в дозировках, не применяемых ранее. В связи с чем актуальным является совершенствование технологии изготовления лекарственных средств и их контроля качества в условиях аптеки.

Целью настоящей работы явилось изучение изготовления, контроля качества, стабильности и условий хранения лекарственного средства раствора водорода пероксида 0,2% для внутривенных инъекций. Указанный раствор применяется в учреждении «Гомельский областной клинический кардиологический диспансер» в качестве эхоконтрастного средства. В литературе [1] описана методика использования раствора водорода пероксида 0,1-0,2% для внутривенных инъекций. При контакте крови с этим раствором происходит интенсивное образование микропузырьков кислорода, что связано с активирующим действием пероксидазы лейкоцитов.

В аптечной технологии (Инструкция о порядке организации аптечного изготовления жидких лекарственных средств) описаны подходы к изготовлению растворов водорода пероксида 3%, 4% и 6%, их стабилизация, контроль качества,