

А. А. Чапленко, О. В. Моногарова, К. В. Оскопок, С. А. Чапленко

ЦВЕТОМЕТРИЧЕСКОЕ И КОСВЕННОЕ РЕНТГЕНОФЛУОРЕСЦЕНТНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ХИМИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ПЕНОПОЛИУРЕТАНОВЫХ СОРБЕНТОВ

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, химический факультет, Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 3; e-mail: a.a.chaplenko@yandex.ru

Предложен комбинированный химико-инструментальный подход, направленный на улучшение метрологических характеристик определения лекарственных веществ в фармацевтических препаратах, относящихся к классам антибиотиков, антиоксидантов, антисептиков и анестетиков. На основе предложенного подхода разработаны простые и доступные способы цветометрического и косвенного рентгенофлуоресцентного определения 8-гидроксихинолина, новокаина, кверцетина и тетрациклина в лекарственных препаратах с использованием химически модифицированных пенополиуретановых сорбентов. Разработанный подход может быть использован для определения действующих веществ в целях предварительного контроля качества лекарственных препаратов.

Ключевые слова: 8-гидроксихинолин; новокаин; кверцетин; тетрациклин; пенополиуретановый сорбент; рентгенофлуоресцентный анализ; цветометрия.

Одной из приоритетных задач современной фармацевтической химии является разработка новых эффективных способов определения действующих веществ в составе лекарственных препаратов. При этом следует обращать внимание на следующие аспекты.

Многие химические и доступные по стоимости инструментальные методы характеризуются низкой селективностью. В результате возникает необходимость в предварительном отделении мешающих компонентов, присутствующих в лекарственном препарате, например, сорбцией аналита на твердом сорбенте.

При формировании аналитического сигнала предпочтение следует отдавать методам, основанным на проведении селективных химических реакций с участием определяемого вещества. Целесообразно использовать наиболее дешёвые инструментальные средства анализа. Уменьшение числа стадий методики, например, за счет измерения аналитического сигнала в фазе сорбента способствует снижению погрешности определения, продолжительности и стоимости анализа.

Функцию сорбента не следует ограничивать исключительно стадией разделения и концентрирования. Сорбент может играть роль универсальной среды с постоянными свойствами, принимающей участие в формировании аналитического сигнала и обеспечивающей единство условий его измерения.

И, наконец, должен существовать независимый метод проверки адекватности полученных аналитических результатов, основанный на ином химическом, физико-химическом или физическом принципе формирования аналитического сигнала.

В соответствии с изложенными выше аспектами необходимо выбрать сорбент и химические реакции, удобные для концентрирования определяемых веществ и формирования аналитического сигнала, а также инструментальные средства его измерения непо-

средственно в фазе сорбента. По совокупности эксплуатационных характеристик предпочтение было отдано пенополиуретановым (ППУ) сорбентам. Они дешёвы и доступны, обладают высокой химической и механической устойчивостью [1]. Для многих классов органических и неорганических соединений обеспечивают высокие коэффициенты распределения в системе “водный раствор — сорбент”. Разделение и концентрирование можно проводить не только на исходных, но и на химически модифицированных ППУ сорбентах, что позволяет влиять на селективность определения. Отдельно следует упомянуть о возможности использования ППУ в качестве химического реагента для формирования аналитического сигнала.

Определение действующих компонентов лекарственных препаратов, а также их производных, в молекулах которых присутствуют одно или несколько бензольных колец со свободными *орто*- или *пара*-положениями по отношению к электронодонорным

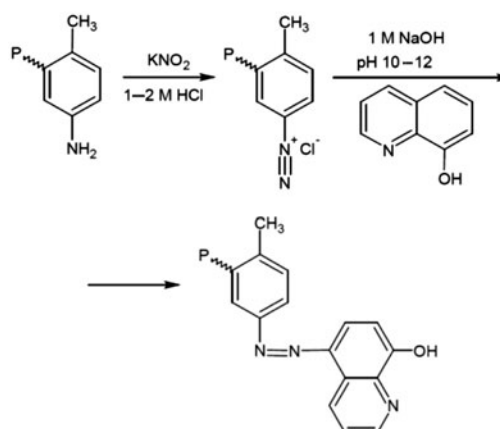


Рис. 1. Схема процесса химического модифицирования ППУ сорбента 8-гидроксихинолином.

Таблица 1
Метрологические характеристики сорбционно-цветометрического определения лекарственных веществ ($n = 3$; $P = 0,95$)

Параметры уравнения вида $L_R = ac + b$		R^2	Диапазон определяемых содержаний, мг/мл	C_{\min}^* , мг/мл	s_r
a	b				
8-Гидроксихинолин					
-360	260	0,9924	0,02 – 0,34	0,006	0,03
Кверцетин					
-115	250	0,9914	0,03 – 0,30	0,01	0,05
Новокаин					
-350	260	0,9885	0,05 – 0,26	0,017	0,06
Тетрациклин					
-540	220	0,9901	0,02 – 0,20	0,007	0,05

заместителям (например, гидроксид- или аминогруппам), может быть основано на взаимодействии этих веществ с ППУ [1].

Лекарственные вещества, в структуре которых присутствуют вышеуказанные группы, содержатся в фармацевтических препаратах, относящихся к классам антибиотиков, антиоксидантов, антисептиков, анестетиков, диуретиков, спазмолитиков и многих других.

Поэтому цель настоящего исследования — разработка комбинированного химико-инструментального способа определения ряда действующих веществ в лекарственных препаратах указанных групп. В настоящей работе предложено использовать описанную процедуру для цветометрического определения таких действующих веществ как 8-гидроксихинолин, новокаин, тетрациклин и кверцетин с применением ППУ сорбентов. Проведение сорбционно-цветометрического анализа, не требующего сложного оборудования, обеспечивает достаточную селективность определения, что может быть использовано в скрининговом анализе на производстве и в рамках лабораторного контроля качества лекарственных препаратов.

Для проверки адекватности этого подхода на этапе создания методики целесообразно использование подхода, предлагаемого в настоящей работе, основанного на образовании комплексов металлов Co(II), Ni(II), Fe(III), Zn(II) с N,O- и N,N-группами, образующимися

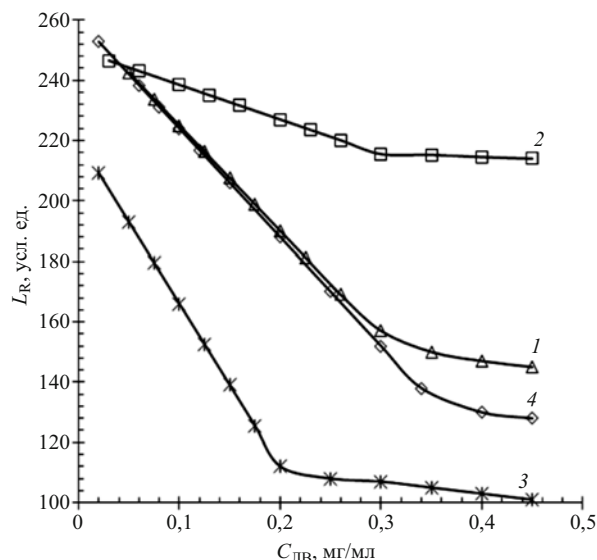


Рис. 2. Зависимость светлоты цветочного R-канала изображения (L_R) таблетки ППУ от концентрации лекарственного вещества в растворе для: 1 — новокаина, 2 — кверцетина, 3 — тетрациклина, 4 — 8-гидроксихинолина.

в структуре ППУ сорбента в результате химического модифицирования молекулами лекарственных веществ. Схема модифицирования приведена в экспериментальной части. Последующее косвенное определение аналитов по “тяжёлым меткам” предложено выполнить рентгенофлуоресцентным (РФ) методом.

Для химического модифицирования ППУ проводили реакцию диазотирования концевых толуидиновых групп и дальнейшего азосочетания с аналитом (рис. 1). Полимерный катион диазония устойчив при комнатной температуре, гетерогенные химические реакции с участием ППУ протекают в относительно мягких условиях (водные растворы, комнатная температура, атмосферное давление), окрашенные продукты образуются быстро и при достаточно низких концентрациях соединений, что и позволило рекомендовать ППУ в качестве полимерных реагентов для определения лекарственных препаратов, которые могут вступать в реакцию азосочетания. Эти процессы обуславливают окрашивание ППУ в различные оттенки

Таблица 2
Метрологические характеристики косвенного сорбционно-РФ определения лекарственных веществ ($n = 3$; $P = 0,95$)

Ион металла	Параметры уравнения вида $I = ac + b$		R^2	Диапазон определяемых содержаний, мг/мл	C_{\min}^* , мг/мл	s_r
	a	b				
8-Гидроксихинолин						
Ni ²⁺	2661	25	0,9956	0,01 – 0,25	0,003	0,03
Zn ²⁺	8243	147	0,9893	0,02 – 0,30	0,006	0,04
Кверцетин						
Fe ³⁺	5452	221	0,9913	0,025 – 0,25	0,008	0,06
Новокаин						
Co ²⁺	2148	56	0,9884	0,01 – 0,20	0,003	0,05
Тетрациклин						
Fe ³⁺	4124	181	0,9870	0,01 – 0,16	0,003	0,06

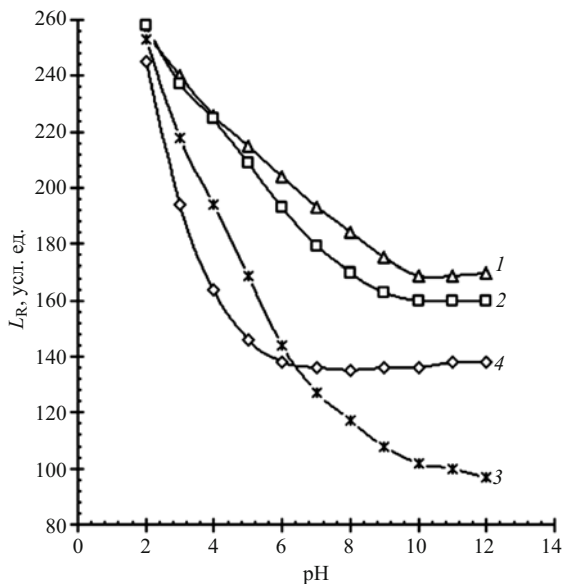


Рис. 3. Зависимость светлоты цветового R-канала изображения (L_R) таблетки ППУ от pH раствора для: 1 — новокаина, 2 — кверцетина, 3 — тетрациклина, 4 — 8-гидроксицинолина.

ки красного и желтого цветов, интенсивность которых зависит от содержания аналита в объекте [1].

Экспериментальная часть

В работе использовали ППУ на основе простых эфиров марки 5-30 (ГПО “Радикал”, Киев, Украина).

В работе использовали государственные стандартные образцы (ГСО), содержащие 1 мг/мл ионов железа(III), никеля(II), цинка(II) и кобальта(II) (ЭАА “Эко-аналитика”, Москва) в виде нитратов, 8-гидроксицинолин (ч. д. а.), нитрит калия (х. ч.), гидроксид калия, соляную кислоту (о. с. ч.) (“Sigma-Aldrich”, США). Для использования 1 мл растворов ГСО ионов металлов разбавляли водой очищенной, подкисленной соляной кислотой до pH 3, в мерной колбе объемом 25 мл.

Исследовали следующие фармацевтические субстанции и лекарственные препараты: фармацевтическая субстанция тетрациклина (ОАО “Татхимфарм-препараты”, Казань), фармацевтическая субстанция кверцетина (ООО “Прокси Фарма”, Тюмень), фармацевтическая субстанция новокаина (ОАО “Органика”, Новокузнецк), присыпка хинозола (2 %) (“Dermapharm AG”, Германия), кверцетин в капсулах (500 мг) (ООО “Инат-Фарма”, Москва), таблетки тетрациклина (100 мг) (ОАО “Биосинтез”, Пенза), раствор новокаина для инъекций (2 %) (ОАО “Верофарм”, Москва).

Подготовка ППУ сорбента. Для очистки от технологических примесей лист ППУ толщиной 1 мм промывали сначала в 1 М растворе HCl в течение 1 ч, затем дистиллированной водой до pH 5–6, далее — ацетоном, высушивали до воздушно-сухого состояния и из очищенного ППУ вырезали таблетки размером 10 × 10 × 1 мм массой 25 мг и хранили их в защищен-

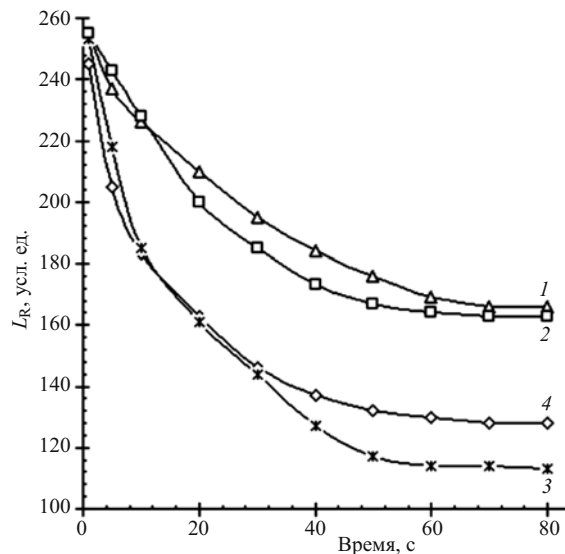


Рис. 4. Зависимость светлоты цветового R-канала изображения (L_R) таблетки ППУ от времени протекания реакции азосочетания для: 1 — новокаина, 2 — кверцетина, 3 — тетрациклина, 4 — 8-гидроксицинолина.

ном от света месте. Степень очистки контролировали цветометрическим и РФ методом.

Пробоподготовка препаратов. Пробоподготовку препаратов тетрациклина, хинозола и кверцетина осуществляли измельчением точной навески таблеток, присыпки и содержимого капсул соответственно с последующим растворением в воде очищенной. Полученный раствор встряхивали на механическом вибростателе в течение 60 мин, после чего осадок отфильтровывали через бумажный фильтр “красная лента”, фильтр многократно промывали водой очищенной (с добавлением 0,1 М HCl или 0,1 М NaOH, варьируя pH раствора для промывки от 2 до 12). Фильтрат использовали для анализа. Потери вещества при данном способе пробоподготовки оценены способом добавок и составили в среднем 2,2 % (что учитывалось далее при обработке результатов анализа).

Раствор новокаина для инъекций использовали без дополнительной пробоподготовки.

Химическое модифицирование ППУ. В стеклянный сосуд для экстракции с притёртой крышкой поме-

Таблица 3
Результаты сорбционно-цветометрического и косвенного РФ-определения лекарственных веществ в фармацевтических препаратах ($n = 3$; $P = 0,95$)

Лекарственный препарат	m (лекарственного вещества), мг		
	заявлено производителем	цветометрия	РФА*
Таблетки тетрациклина, 100 мг	100	98 ± 16	99 ± 5
Капсулы кверцетина, 500 мг	500	493 ± 38	494 ± 17
Раствор новокаина для инъекций 2 %, 30 мл	600	599 ± 21	604 ± 18
Присыпка хинозола 2 %, 10 г	200	196 ± 27	199 ± 14

* Рентгенофлуоресцентный анализ

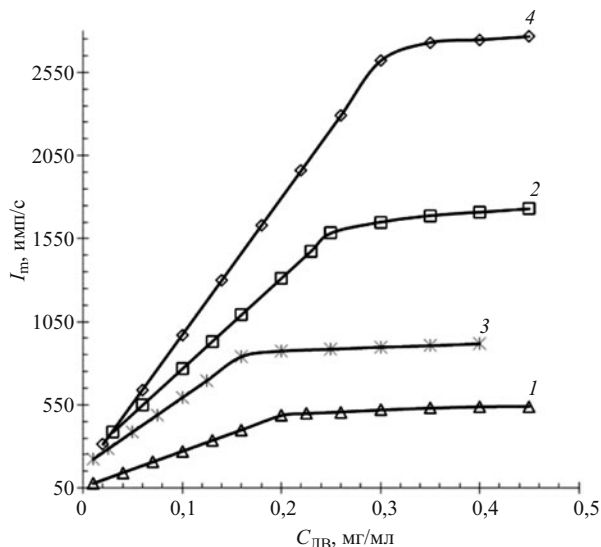


Рис. 5. Зависимость интенсивности линии спектра металла (I_m , имп/с), входящего в комплекс с ППУ — лекарственное вещество от концентрации определяемого вещества для: 1 — комплекса новокаина с Co^{2+} , 2 — кверцетина с Fe^{3+} , 3 — тетрациклина с Fe^{3+} , 4 — 8-гидроксихинолина с Zn^{2+} .

щали 30 мл 1 М раствора HCl и 8 таблеток ППУ сорбента, из которых затем удаляли воздух с помощью стеклянной палочки. После добавления 15 мг нитрита калия содержимое сосуда для экстракции встряхивали на механическом вибросмесителе в течение 30 мин. Массу нитрита калия брали с избытком, исходя из содержания концевых толуидиновых групп в ППУ на уровне 10^{-5} моль/г [1]. После этого таблетку диазотированного ППУ сорбента вынимали из раствора, высушивали между листами фильтровальной бумаги и использовали в реакции азосочетания.

Во втором сосуде для экстракции растворяли точную навеску модифицирующего органического реагента — лекарственной субстанции (8-гидроксихинолина, новокаина, тетрациклина, кверцетина) в 30 мл раствора КОН (рН 10), добавляли таблетку диазотированного ППУ, удаляли пузырьки воздуха и встряхивали в течение 60 мин. Затем таблетки ППУ вынимали из раствора, тщательно промывали дистиллированной водой, высушивали между листами фильтровальной бумаги, после чего проводили сканирование и определение светлоты R-канала полученных изображений.

Измерение аналитического сигнала. Цветометрический анализ выполнен с помощью офисного сканера LaserJet M1120 MFP (Hewlett-Packard, США). Обработку изображений таблеток ППУ и определение светлоты R-канала проводили в графическом редакторе Gimp 2. Аналитический сигнал (светлоту R-канала в цветовом пространстве RGB-модели) измеряли по шкале от 0 до 255 в условных единицах.

Для проверки результатов цветометрического определения проводили комплексообразование ионов металлов с модифицированным сорбентом. Для приготовления серии образцов в сосуды для экстракции к 25 мл водного раствора ГСО ионов металла (полученного по вышеописанной методике) добавляли по 1

таблетке ППУ сорбента, химически модифицированного соответствующим реагентом, в оптимальных условиях. Из таблеток ППУ удаляли воздух, содержимое сосудов для экстракции встряхивали 60 мин [2]. После этого таблетки ППУ с сорбатом вынимали из раствора, тщательно промывали дистиллированной водой и высушивали между листами фильтровальной бумаги до воздушно-сухого состояния. Условия сорбции указанных ионов металлов на ППУ сорбенте, химически модифицированном различными органическими веществами, детально изучены в работах [1–3].

Косвенное РФ определение лекарственных веществ на химически модифицированных ППУ сорбентах проводили с использованием светосильного бесколлиматорного последовательного РФ спектрометра “Спектроскан Макс-G” (НПО “Спектрон”, Россия). Прибор укомплектован маломощной (4 Вт) острофокусной (3 мм) рентгеновской трубкой трансмиссионного типа с тонкоплёночным (2 мкм) Мо-анодом. Рабочее напряжение 40 кВ. Сила тока 100 мкА. Разложение вторичного рентгеновского излучения в спектр реализовано по схеме Йоганссона с помощью кристалла-анализатора LiF(200) ($2d = 402,8$ пм). Спектрометр укомплектован отпаянным газоразрядным пропорциональным счётчиком.

Для измерения РФ-спектров ППУ таблетки помещали в специально изготовленные кюветы, характеризующиеся низким уровнем рассеянного первичного излучения [4]. Для каждого образца измеряли амплитудное распределение интенсивности линий NiK_{α} , ZnK_{α} , CoK_{α} , FeK_{α} в интервалах длин волн ($165,9 \pm 5,0$), ($143,5 \pm 5,0$), ($179,0 \pm 5,0$), ($193,7 \pm 5,0$) пм соответственно. Время экспозиции 60 с. В качестве аналитического сигнала использовали интегральные интенсивности (I) соответствующей линии за вычетом фонового сигнала. Для учета влияния положения образца под зондом на неопределённость результатов измерения аналитический сигнал измеряли 4 раза при повороте на 90° .

Результаты и их обсуждение

Процессы диазотирования концевых толуидиновых групп макромолекул ППУ и последующая реакция азосочетания с определяемыми лекарственными веществами обуславливают интенсивное окрашивание сорбента. Ранее показано [5], что наибольший выход продукта реакции диазотирования достигается через 30 мин в среде 1–2 М HCl при комнатной температуре. Полимерные соли диазония так же как и мономерные, характеризуются высокой химической активностью и способностью вступать в реакцию азосочетания, но, в отличие от последних, более устойчивы [6]. Особенность реакции азосочетания, протекающей с участием диазотированного ППУ, заключается в том, что один из компонентов реакции и продукт реакции находятся в реакционной смеси в твердом виде. О выходе полимерных азосоединений судили об изменении окраски ППУ со светло-желтой на желто-оранжевую

(в присутствии кверцетина), оранжевую (в присутствии тетрациклина и новокаина), оранжево-красную (в присутствии 8-гидроксихинолина) [1].

Изучено влияние концентрации азосоставляющих, времени контакта фаз и pH на выход полимерных азосоединений. Показано, что увеличение концентрации азокомпонента, участвующего в реакции азосочетания, сопровождается ростом интенсивности окраски полимерных соединений и, как следствие, снижением доли белого цвета и уменьшением светлоты R-канала (рис. 2). Установлены оптимальные интервалы pH реакции азосочетания для определяемых лекарственных веществ (рис. 3). Доказано, что время контакта фаз, необходимое для наиболее полного протекания реакции азосочетания, практически не зависит от природы азосоставляющей, а наибольший аналитический сигнал для изученных соединений наблюдается через 60 – 70 мин (рис. 4).

Процессы диазотирования концевых толуидиновых групп макромолекул ППУ и азосочетания полученного продукта с определяемыми веществами обуславливают интенсивное окрашивание сорбента, глубина которого зависит от содержания аналита в объекте. Описанная процедура использована для разработки способа цветометрического определения 8-гидроксихинолина, новокаина, кверцетина и тетрациклина в лекарственных препаратах. Метрологические характеристики сорбционно-цветометрического определения указанных веществ представлены в табл. 1.

Продукты азосочетания диазотированного ППУ с вышеописанными лекарственными веществами содержат функционально-аналитические группы, способные связывать ионы переходных металлов в устойчивые комплексные соединения [7]. Данное обстоятельство использовано для проверки адекватности цветометрических методик с помощью косвенного РФ определения указанных выше органических веществ по тяжёлым металлам — ионам Fe(III), Co(II) и Ni(II), Zn(II), извлечённым из водных растворов. Показано,

что увеличение концентрации исследуемого лекарственного вещества сопровождается ростом интенсивности спектральной линии металла, входящего в комплекс (рис. 5). Метрологические характеристики косвенного сорбционно-РФ определения лекарственных веществ представлены в табл. 2.

Результаты сорбционно-цветометрического и косвенного РФ-определения действующих веществ в составе лекарственных препаратов приведены в табл. 3. Из таблицы видно, что результаты, полученные разными методами, хорошо согласуются между собой, а содержание действующих веществ соответствует значениям, заявленным производителем.

Таким образом, развитый в работе комбинированный сорбционно-цветометрический подход позволяет с высокой точностью осуществлять определение действующих веществ в составе лекарственных препаратов. Правильность подхода подтверждена проверкой косвенным инструментальным методом. Реакции и принципы, лежащие в основе сорбционно-цветометрического определения, могут быть в дальнейшем использованы для создания систем экспресс-анализа лекарственных препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. С. Г. Дмитриенко, В. В. Апяри, *Пенополиуретаны: сорбционные свойства и применение в химическом анализе*, КРАСАНД, Москва (2010), сс. 10 – 22.
2. С. Г. Дмитриенко, *Дис. докт. хим. наук*, Москва (2001).
3. А. А. Чапленко, О. В. Моногарова, К. В. Осолок, С. А. Чапленко, *Микроэлементы в медицине*, **17**(1), 30 – 37 (2016).
4. К. В. Осолок, О. В. Моногарова, Н. В. Алов, *Вестн. моск. ун-та. Сер. 2. Химия*, **56**(2), 65 – 69 (2015).
5. A. Lemos, L. Novaes Santos, A. P. Oliveira Alves and G. T. David, *J. Sep. Sci.*, **29**(9), 1197 – 1204 (2006).
6. D. Braun, H. Cherdron, M. Rehahn, et al., *Polymer Synthesis: Theory and Practice*, Springer, Heidelberg (2013), pp. 323 – 373.
7. N. Burham, S. M. Abdel-Azeem, M. F. El-Shahat, *Anal. Chim. Acta*, **579**(2), 193 – 201 (2006).

Поступила 21.12.15

COLORIMETRIC AND INDIRECT X-RAY FLUORESCENCE DETERMINATION OF DRUG SUBSTANCES USING CHEMICALLY MODIFIED POLYURETHANE FOAM SORBENTS

A. A. Chaplenko*, O. V. Monogarova, K. V. Oskolok, and S. A. Chaplenko

Department of Chemistry, Moscow State University, Moscow, 119991 Russia

* e-mail: a.a.chaplenko@yandex.ru

A combined chemical-instrumental approach is proposed that improves the metrological characteristics of parent substance determination in pharmaceutical preparations of various classes including antibiotics, antioxidants, antiseptics, and anesthetics. Based on this approach, a simple and accessible method employing colorimetric and indirect x-ray fluorescence measurements has been developed for the determination of 8-hydroxyquinoline, novocaine, quercetin, and tetracycline in pharmaceuticals with the aid of a chemically modified polyurethane foam. The proposed approach can be used for determining parent substances in drugs at the stage a preliminary quality control.

Keywords: 8-hydroxyquinoline; novocaine; quercetin; tetracycline; polyurethane foam sorbent; x-ray fluorescence analysis; colorimetric analysis.