

Х. А. Мирзаева¹, У. Г. Гамзаева²

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПАПАВЕРИНА В ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТАХ

¹ Дагестанский государственный университет, Россия, Дагестан, Махачкала, ул. М. Гаджиева, 43А.

² Дагестанский государственный медицинский университет, Россия, Дагестан, Махачкала, ул. Ленина, 1; e-mail: ulzana_g@mail.ru

Разработана методика количественного спектрофотометрического определения папаверина в лекарственных препаратах на основе реакции образования окрашенного ионного ассоциата папаверина с титаном (IV) и бромпирогаллоловым красным. Определены условия образования комплекса $\{[\text{TiO}(\text{H}_2\text{R})_2]^{2-} \cdot 2\text{ПП}^+\}$. Установлено, что введение папаверина в раствор анионного комплекса Ti-БПК приводит к батохромному смещению до 640 нм с одновременным гиперхромным смещением. Величина коэффициента молярного поглощения ($\epsilon = 8800$) свидетельствует о достаточной чувствительности реакции. Специфичность реакции по отношению к папаверину позволяет проводить определение без отделения сопутствующих компонентов. Методика отличается высокой чувствительностью, простотой техники выполнения эксперимента, доступностью для массовых исследований, не требует использования токсичных реагентов. Полученные результаты характеризуются хорошей сходимостью ($S_r = 0,007 - 0,02$) и правильностью.

Ключевые слова: ионный ассоциат; комплексообразование; титан (IV); бромпирогаллоловый красный; спектрофотометрия; разработка методики; определение папаверина.

В медицине в качестве спазмолитического вещества используется папаверин. Применение данного алкалоида способствует снижению тонуса гладких мышц внутренних органов мочевыделительной, дыхательной, половой системы и сосудов, расширению артерий и увеличению кровотока [1]. Для количественного определения папаверина ГФ предлагает титрование хлорной кислотой в среде безводной уксусной кислоты в присутствии ацетата ртути(II) по индикатору кристаллическому фиолетовому [2]. Несмотря на то, что в действующих фармакопеех титриметрические методы анализа по-прежнему являются доминирующими, следует отметить такие их недостатки, как малая специфичность, чувствительность и субъективность восприятия окраски индикаторов. Среди методов количественного определения алкалоидсодержащих лекарственных препаратов наиболее широко в литературе в настоящее время представлены работы по хроматографическим методам во всех вариантах (газовая, жидкостная, ВЭЖХ, хроматомасс-спектрометрия). Методы достаточно чувствительны, точны и селективны, однако требуется дорогостоящая аппаратура и дефицитные реагенты или сорбенты [3].

Спектрофотометрические методы находят широкое применение в анализе лекарственных препаратов благодаря сравнительной доступности, дешевизне, простоте в сочетании с хорошей точностью [4]. Лекарственные вещества определяют как по собственному светопоглощению в УФ-области, так и с использованием окрашенных соединений с их участием. Известны методики определения в виде ионных ассоциатов анионного комплекса иона металла с хромофорным реагентом в присутствии азотсодержащего алкалоида

типа $\{[\text{Me-R}]^{n-} \cdot n\text{Alk}^+\}$ [5 – 7]. Данные окрашенные соединения могут быть успешно использованы как для определения ионов металлов, так и для количественного определения алкалоидов. Это позволяет вести разработку новых методик, основанных на оптических свойствах соединений и направленных на определение активных компонентов без их разделения.

Цель настоящего исследования — разработка безэкстракционной спектрофотометрической методики определения папаверина (ПП) в лекарственных препаратах с использованием его ионного ассоциата с титаном(IV) и бромпирогаллоловым красным (БПК).

Экспериментальная часть

В работе использовали 0,1 мг/мл раствор ПП (ОАО “Дальхимфарм”, Россия), приготовленный растворением точной навески препарата фармакопейной чистоты в дистиллированной воде; 0,1 мг/мл раствор титана (IV), приготовленный из металлического титана спектральной чистоты (Россия); 10^{-3} М раствор БПК (Chemapol, Чехословакия), приготовленный растворением точной навески реагента в 50 % ацетоне (Россия). Растворы меньшей концентрации готовили разбавлением исходных. Для измерения оптической плотности использовали спектрофотометр Leki SS1207, для получения спектров поглощения — Spekord 210 Plus. Кислотность растворов контролировали с помощью рН-метра “Экотест-120”. Статистическую обработку проводили по программе Microsoft Excel 2010.

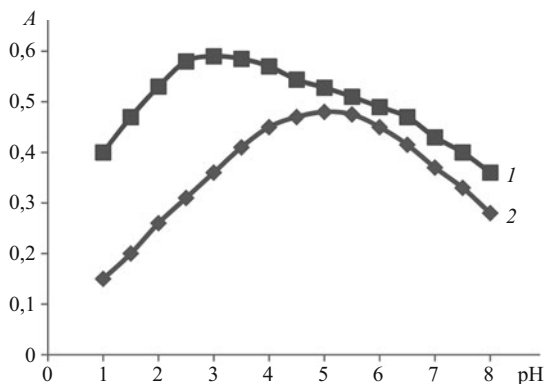


Рис. 1. Зависимость оптической плотности комплексов Ti – BPK – PPP (1) и Ti – BPK (2) от кислотности среды. c (BPK) = $2 \cdot 10^{-5}$ М, c (PPP) = $2 \cdot 10^{-5}$ М, c (Ti) = $4,2 \cdot 10^{-5}$ М, $\lambda = 620$ нм.

Результаты и их обсуждение

Известно, что Ti(IV) образует с BPK окрашенное комплексное соединение анионного характера. Введение алкалоидов улучшает химико-аналитические свойства комплексных соединений, выражающиеся увеличением контрастности и интенсивности окраски [8].

Одним из важнейших факторов, влияющим на образование и стабильность окрашенного соединения, также на весь процесс комплексообразования, является концентрация ионов водорода. При этом наиболее важным предварительным доказательством образования новых соединений является исследование особенностей спектров поглощения исходных компонентов и их смесей. Образование ионных ассоциатов обнаруживается по изменению характера спектров.

Для изучения условий комплексообразования были получены зависимости светопоглощения комплексов Ti(IV) с BPK в присутствии и отсутствии PPP на фоне воды от pH в диапазоне 1 – 9 (рис. 1).

Как видно из рис. 1, введение PPP в раствор двойного комплекса вызывает смещение pH максимального комплексообразования в более кислую область с одновременным гиперхромным смещением. Максимальное комплексообразование комплекса Ti — BPK наблюдается при pH 4,5 – 5,5, тогда как максимальный выход трехкомпонентного комплекса Ti — BPK — PPP смещен до области pH 2,5 – 4,0.

Сопоставление спектров поглощения растворов чистого реагента и его смеси с PPP при различных значениях pH показало, что характер спектров практически не изменяется. При постоянном максимуме светопоглощения в присутствии PPP наблюдаются незначительные гиперхромные смещения (рис. 2).

Анализ спектров поглощения чистого реагента и его комплексов с Ti(IV) в отсутствие и в присутствии PPP при pH оптимального комплексообразования (рис. 3) позволяет заключить, что спектры поглощения тройной системы Ti — BPK — PPP выгодно отличаются от спектров Ti — BPK и BPK — PPP.

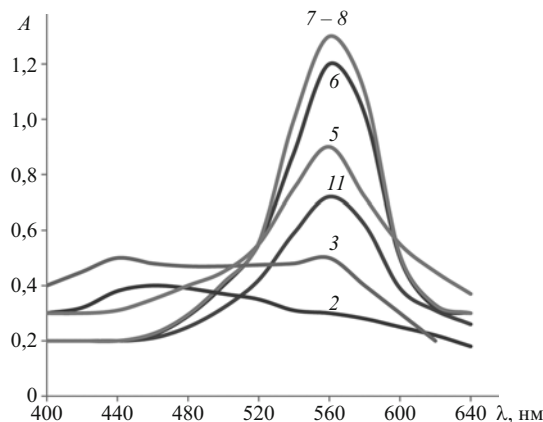


Рис. 2. Спектры поглощения водно-ацетоновых растворов BPK в присутствии PPP при различных значениях pH (значения pH указаны на кривых). c (BPK) = c (PPP) = $2 \cdot 10^{-5}$ М.

Комплексообразование как в двойной, так и в тройной системах сопровождается батохромным смещением до 640 нм с максимумом светопоглощения в одной и той же области. В присутствии PPP усиливается интенсивность окраски, отражающаяся на спектрах гиперхромным смещением, что свидетельствует об увеличении чувствительности данной реакции. Следует отметить, что при максимальном поглощении комплексов наблюдается незначительное поглощение и BPK, поэтому для исключения его влияния на результат анализа при практическом применении реакции в качестве раствора сравнения использовали раствор реактива при соответствующих условиях.

Светопоглощение комплекса Ti(IV) с BPK и PPP остается постоянным в течение 2 сут в случае избытка лиганда, в случае избытка комплексообразователя образуется осадок. Образующийся разнолигандный комплекс электронейтрален и при стоянии растворов выпадает в осадок, что объяснимо ассоциативным взаимодействием папаверина, который нейтрализует комплекс Ti — BPK по схеме:



Установлено, что максимальный выход комплекса достигается при 2 – 3-кратном избытке BPK.

Практическая значимость аналитических реакций, как правило, определяется их чувствительностью и избирательностью к определяемому компоненту. Величина молярного коэффициента светопоглощения ϵ является наиболее важной, общепризнанной и объективной характеристикой возможной чувствительности фотометрического определения [9]. Значения величин $\epsilon_{620} = 6100$ и $\epsilon_{640} = 8800$ указывают на достаточную чувствительность исследованной системы к папаверину.

Для исследования специфичности реакции сравнивали значения оптических плотностей раствора тройного комплекса со значениями, полученными при добавлении основных веществ, входящих в состав некоторых готовых лекарственных форм (таблеток, порошков, растворов для инъекций) с учетом их соотношения. Результаты исследования (табл.1) показыва-

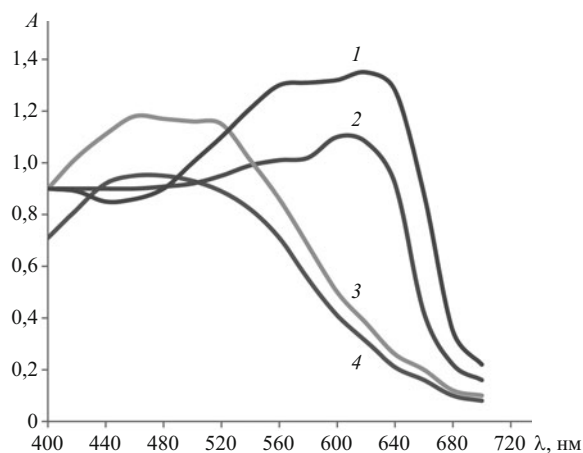


Рис. 3. Спектры поглощения растворов: 1 — Ti – BPK – ПП; 2 – Ti – BPK; 3 – BPK – ПП; 4 – BPK. $c(\text{BPK}) = 4 \cdot 10^{-5} \text{ M}$, $c(\text{ПП}) = 4 \cdot 10^{-5} \text{ M}$, $c(\text{Ti}) = 8 \cdot 10^{-5} \text{ M}$, $\text{pH} = 2,5$.

ют, что светопоглощение комплекса практически не меняется в присутствии сопутствующих веществ в соотношении 1:10, и трехкомпонентный комплекс может быть использован для определения папаверина в присутствии таких компонентов, как дибазол, теобромин, глюкоза, сахараза.

От компонентов, нерастворимых в воде (тальк, крахмал), избавлялись фильтрованием исследуемых растворов.

Полученные результаты положены в основу разработки спектрофотометрической методики определения папаверина в лекарственных препаратах. Содержание ПП определяли по градуировочному графику.

Методика построения градуировочного графика.

В мерных колбах емкостью 25 мл готовят серию растворов исследованного трехкомпонентного комплекса Ti-BPK-ПП. Для этого в каждую колбу вносят по 2 мл 10^{-3} M раствора BPK, 0,5 мл 10^{-3} M раствора Ti(IV) и возрастающие количества (1, 3, 5, 7, 11 мл) ПП с исходной концентрацией 0,1 мг/мл. Устанавливают pH 2,5 и доводят растворы до метки дистиллированной водой. Оптическую плотность измеряют при 640 нм в кюветках с толщиной поглощающего слоя 1 см относительно раствора двойного комплекса BPK-Ti, приготовленного при тех же условиях. Зависимость оптической плотности трехкомпонентного комплекса от концентрации ПП представлена на рис. 4. Линейность градуировочной кривой для ПП наблюдается в диапазоне концентраций 0,008 – 0,1 мг/мл. Градуировочный график описывается уравнением $A = 0,547c + 0,003$ (c

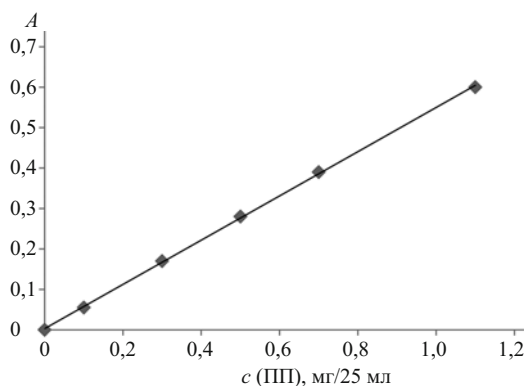


Рис. 4. Зависимость оптической плотности системы Ti – BPK – ПП от концентрации ПП. $c(\text{BPK}) = 10^{-3} \text{ M}$ (2 мл), $c(\text{Ti}) = 10^{-3} \text{ M}$ (0,5 мл), $\lambda = 640 \text{ нм}$, $\text{pH} = 2,5$.

– концентрация ПП). Коэффициент корреляции $R^2 = 0,9997$.

Методика определения папаверина в растворах для инъекций. Содержимое ампул разбавляют в 50 раз дистиллированной водой. Аликвоту (5 мл) разбавленного раствора вносят в колбу на 25 мл, добавляют 2 мл 10^{-3} M раствора BPK и 0,5 мл 10^{-3} M раствора Ti(IV). Устанавливают значение pH 2,5 и доводят растворы до метки дистиллированной водой. Оптическую плотность измеряют при 640 нм в кюветках с толщиной поглощающего слоя 1 см относительно раствора комплекса BPK – Ti приготовленного при тех же условиях. Концентрацию ПП определяют по градуировочному графику.

Методика определения ПП в таблетках. Навеску порошка растертых таблеток растворяют в таком количестве дистиллированной воды, чтобы получить раствор с концентрацией ПП 0,2 – 4,0 мг/мл. Для отделения от малорастворимых включений раствор фильтруют и разбавляют до метки дистиллированной водой. Из полученного фильтрата отбирают аликвотную часть и далее пробу обрабатывают согласно протоколу разработанной методики, концентрацию ПП определяют по градуировочному графику.

Содержание ПП в пересчете на одну таблетку вычисляют по формуле:

$$X = \frac{q \cdot V \cdot m_T}{V_a \cdot m_n}$$

где m_T — средняя масса таблетки, мг; m_n — навеска растертых таблеток, мг; q — количество ПП, найденное по градуировочному графику, мг; V_a — объем рас-

Результаты исследования специфичности реакции *

Т а б л и ц а 1

Система	Ti – BPK – ПП	Ti – BPK – ПП			
		+ дибазол	+ теобромин	+ глюкоза	+ сахараза
A	0,283	0,280	0,279	0,287	0,285

* $c(\text{BPK}) = 10^{-3} \text{ M}$ (2 мл), $c(\text{Ti}) = 10^{-3} \text{ M}$ (0,5 мл), $c(\text{ПП}) = 0,1 \text{ мг/мл}$ (3 мл), $V_{\text{колбы}} = 25 \text{ мл}$, $\lambda = 640 \text{ нм}$, $\text{pH} = 2,5$.

Результаты определения ПП в лекарственных формах ($n = 5, P = 0,95$)

Состав лекарственной формы	Статистические характеристики		
	\bar{x}	S_r	$\bar{x} \pm \frac{t_{P,f} \cdot S}{\sqrt{n}}$
Sol. Papaverini hydr. 2 %, ОАО “Биосинтез”, Россия	2,01 %	0,020	2,01 ± 0,05
Tab. Papaverini hydr. 0,04 г, ОАО “Ирбитский химико-фармацевтический завод”, Россия	39,45 мг	0,010	39,45 ± 0,48
Tab. Papazoli: Dibazoli 0,03 г Papaverini hydr. 0,03 г, ОАО “Ирбитский химико-фармацевтический завод”, Россия	29,70 мг	0,008	29,70 ± 0,29
Tab. Theodibaverini: Dibazoli 0,02 г, Papaverini hydr. 0,02 г, Theobromini 0,15 г, ОАО “Дальхимфарм”, Россия	20,05 мг	0,007	20,05 ± 0,17

твора, взятый для определения, мл; V — общий объем исследуемого раствора, мл; X — содержание ПП в 1 таблетке, мг.

Результаты анализа и метрологические характеристики разработанной методики представлены в табл. 2. Случайную погрешность (сходимость) оценивали по величине относительного стандартного отклонения S_r , систематическую погрешность (правильность) по величине доверительного интервала:

$$\bar{x} \pm \frac{t_{P,f} \cdot S}{\sqrt{n}}$$

Из результатов табл. 2 следует, что методика характеризуется хорошей сходимостью. Относительное стандартное отклонение $S_r = 0,007 - 0,02$, т.е. коэффициент вариации не превышает значения критерия приемлемости 2 %. Значения доверительных интервалов свидетельствуют о правильности разработанной методики.

Таким образом, разработанная методика спектрофотометрического определения ПП в лекарственных формах отличается высокой чувствительностью, нижний предел определяемых концентраций — 0,008 мг/мл, для титриметрического метода по ГФ — 2 мг/мл; простотой техники выполнения эксперимен-

та, доступностью для массовых исследований, позволяет определять ПП без отделения от сопутствующих компонентов. Также достоинством предложенного метода является отсутствие необходимости использования токсичных реагентов.

ЛИТЕРАТУРА

1. В. Г. Беликов, *Фармацевтическая химия*, в 2 ч, МЕДпрессинформ, Москва (2009).
2. *Государственная фармакопея РФ*, XIII изд., Москва (2015); <http://pharmacopeia.ru/gosudarstvennaya-farmakopeya-xiii-online-gf-13-online/>.
3. Г. М. Лизунова, Е. В. Ямбулатова, *Молодой ученый*, № 5, 187 – 192 (2013).
4. И. В. Власова, А. В. Шилова, Ю. С. Фокина, *Зав. лаб. Диаг. материалов*, 77(1), 21 – 28 (2011).
5. Х. А. Мирзаева, У. Г. Бюрниева, А. Ш. Рамазанов и др., *Фармация*, № 4, 18 – 20 (2012).
6. Х. А. Мирзаева, М. С. Ахмедова, С. А. Ахмедов, *Изв. высш. уч. зав. Северо-Кавказский регион. Сер.: Естеств. науки*, № 4, 71 – 76 (2010).
7. Х. А. Мирзаева, О. А. Тагаев, В. Ш. Магомедова, *Ж. неорг. химии*, 27(4), 929 – 931 (1982).
8. Х. А. Мирзаева, О. А. Тагаев, Р. Г. Казанбеков и др., *Изв. высш. уч. зав. Химия и хим. технологии*, 33(5), 221 – 225 (1990).
9. А. К. Бабко, А. Т. Пилипенко, *Фотометрический анализ*, Химия, Москва (1968).

Поступила 27.01.17

DEVELOPMENT OF METHOD FOR THE QUANTITATIVE SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF PAPAVERINE IN MEDICINAL PREPARATIONS

Kh. A. Mirzaeva¹ and U. G. Gamzaeva^{2*}

¹ Dagestan State University, Makhachkala, Dagestan, 367000 Russia

² Dagestan State Medical University, Makhachkala, Dagestan, 367008 Russia

* e-mail: ulzana_g@mail.ru

A new method for the quantitative spectrophotometric determination of papaverine (PP) in medicinal preparations is developed on the basis of the reaction of formation of a colored ionic associate of papaverine with titanium(IV) and bromopyrogallol red (BPR) dye is developed. Conditions of formation of $\{[TiO(H_2R)_2]^{2-} \cdot 2PP^+\}$ complex are determined. It is established that introduction of papaverine to solution of anionic Ti-BPR complex leads to bathochromic shift up to 640 nm with simultaneous hyperchromic shift. The value of molar absorption ($\epsilon = 8800$) testifies to sufficiently high sensitivity of reaction. The selectivity of reaction with respect to papaverine allows the analysis to be carried out without separation of the accompanying components. The proposed technique has high sensitivity, simplicity of realization in experiment, and accessibility to usual laboratories and does not require using of toxic reagents. The obtained results are characterized by good convergence ($S_r = 0.007 - 0.02$) and correctness.

Keywords: ion associate; complex formation, titanium(IV); bromopyrogallol red; spectrophotometer; development of method; papaverine; determination.