

УДК 543.48:543.63:543.06

М. Є. Блажеєвський¹, Л. О. Дубенська²¹Національний фармацевтичний університет,
вул. Пушкінська, 53, м. Харків, 61002; email: blazejowski@ukr.net²Львівський національний університет
вул. Кирила та Мефодія, 6, м. Львів, 79005

ЗАСТОСУВАННЯ ДЕРИВАТИЗАЦІЇ ЗА ДОПОМОГОЮ ПЕРОКСОКИСЛОТНОГО ОКИСНЕННЯ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ПОХІДНИХ ФЕНТІАЗИНУ МЕТОДОМ НЕПРЯМОЇ СПЕКТРОФОТОМЕТРІЇ (ОГЛЯД)

У даній роботі оглянуто сучасний стан застосування методу УФ-ВИД спектроскопії у фармацевтичному аналізі похідних фентіазину. Розглянуто особливості визначення лікарських речовин у різних препаратах і проблеми, які пов'язані з використанням хімічних реакцій перед спектрофотометричними вимірюваннями. Наведено огляд методів спектрофотометричного визначення основних сімейств лікарських препаратів похідних фентіазину, а основну увагу сфокусовано на досягненнях останнього десятиліття. На прикладі піперидинових та піперазинових похідних фентіазину показані переваги застосування Оксону та дипероксидикарбонових кислот як дериватизаційних реагентів для добування сульфоксидів відповідних фентіазинів для здійснення вибіркового та високочутливого кількісного визначення їх у лікарських препаратах методом непрямой спектрофотометрії.

Ключові слова: дериватизація, Оксон, дипероксидикарбонові кислоти, спектрофотометрія, похідні фентіазину.

Відомо, що найбільш доступним методом для застосування у фармацевтичному аналізі є абсорбційна оптична спектрофотометрія (АОС) та її різноманітні модифікації. АОС включена у ДФ України, у Міжнародну фармакопею та національні фармакопеї багатьох країн, а також інші нормативні документи – фармакопейні статті, що є державними стандартами. Традиційно АОС поділяють на групи методів для дослідження в ультрафіолетовому (УФ від 190 до 400 нм), видимому (ВИД) (від 400 до 700 нм) та інфрачервоному (ІЧ) від 700 нм до 1 мм діапазонах [1-3]. Зазвичай в АОС вимірюється показник поглинання або оптична густина, які відповідно до закону Бера [4] пропорційні концентрації, що дозволяє визначити вміст речовини в розчинах невідомої концентрації. Тому одним з перших прикладних напрямків АОС у фармації стало визначення концентрації компонентів в рідких сумішах і розчинах лікарських речовин [5-6].

Поява останнім часом цифрових напівавтоматичних спектрофотометрів, значно спростили реєстрацію спектрів світлопоглинання, розширила коло аналітичних фармацевтичних задач, що вирішуються із залученням АОС. У теперішній час спектрофотометричні методи визначення концентрацій розчинів чистих речовин (субстанцій), синтетичних лікарських препаратів (сполук з хромоформними групами) досить добре розроблені. Тут досягнуті відомі успіхи: визначені спектральні характеристики речовин, аналітичні смуги поглинання, методи АОС стали рутинними у фармацевтичній лабораторії [2]. Наприклад, у пігулках та розчині для ін'єкцій Левомепромазину малеату згідно фармакопеї Великої Британії

вміст діючої речовини визначають методом прямої спектрофотометрії за власним поглинанням світла (характерна К-смуга спряженої системи фентіазинового кільця в УФ-ділянці спектра) при 254 нм у середовищі метанолу або у воді (Левомепромазину гідрохлорид) за уособленою смугою при 302 нм відповідно; а у розчинах для ін'єкцій з аскорбіновою кислотою та метабісульфітом чи моногіоціцеролом згідно Національного формуляру Фармакопеї США вміст діючої речовини визначають методом обернено-фазової ВЕРХ зі спектрофотометричним детектуванням (USP 39). У науковій літературі описані методики кількісного визначення похідних фентіазину у вигляді проміжного продукту окиснення катіон-радикалу фентіазонію [7].

Важливою проблемою фармації є контроль якості, стандартизація, а також виявлення фальсифікації ліків [8]. Останнім часом проблеми забезпечення якості лікарських засобів (ЛЗ) на міжнародному, регіональному та національному рівнях набули особливого значення. Сучасні вимоги до якості ліків характеризуються тенденцією до отримання нових або додаткових об'єктивних даних про властивості і хімічні перетворення лікарських речовин. Методики з'ясування автентичності (тотожності) субстанцій та препаратів, похідних фентіазину, що належать до списку життєво необхідних ЛЗ, із застосуванням якісних реакцій, методів ТШХ, а також УФ-та ІЧ-спектроскопії, можуть бути використані для виявлення фальсифікованих ЛЗ. Таке поєднання дозволяє з достатнім ступенем достовірності підтвердити автентичність або довести відсутність в ЛЗ діючої речовини, зазначеної на упаковці. З цією метою були розроблені методики аналізу ЛЗ похідних фентіазину, що дозволяють виявляти фальсифіковані лікарські препарати [9].

Останнім часом набула поширення так звана «похідна» спектрофотометрія (ПСФМ), заснована на використанні похідних різних порядків від спектральної кривої. Похідні спектри корисні там, де їх якісна та кількісна оцінка звичайними прийомами ускладнена. Виявляється, що навіть невелике порушення монотонності вихідної кривої чітко фіксується її похідними, тому більш точно визначаються положення максимумів і мінімумів, сходинок і перегинів, поліпшується роздільна здатність спектрів, знижується або усувається, що особливо важливо для фармації, вплив фону або розчинника [1]. Так, згідно рекомендованого Фармакопеєю методу для спектрофотометричного визначення Перфеназину у пігулках здійснюють запис другої похідної ультрафіолетового спектру поглинання в інтервалі від 210 до 290 нм розчинів препарату [10]. Вимірюють висоту від піку при 265 нм до впадини при 255 нм.

Не менш перспективним до вирішення проблеми підвищення вибірковості та чутливості визначення є підхід, котрий заснований на визначенні активних фармацевтичних інгредієнтів (АФІ) у вигляді деривату – функціонального похідного, добутого за допомогою певного аналітичного реагента. Хімічному перетворенню піддається функціональна група, котра входить до складу молекули активної речовини і не входить до складу молекул допоміжних речовин (наповнювача), а відтак досягається вибірковість визначення власне АФІ. Правильність такого визначення вища, ніж у зазвичай використовуваних методах, тому що відсутня необхідність проведення хроматографічного розділення чи екстракції активного компонента, а також калібрування за відповідним стандартом. Необхідно лише

за певних оптимальних умов обробити розчин препарату реагентом, переводячи його активну речовину у відповідну сполуку, котра матиме кращі спектральні характеристики, більш сприятливі для здійснення визначення методом спектрофотометрії [11]. Так, здійснювати кількісне визначення похідних фентіазину можна за їх продуктами окиснення – відповідними сульфоксидами. Молярний коефіцієнт світлопоглинання смуги новоутвореного продукту на ділянці спектра в інтервалі 300-360 нм, вищій ніж такої смуги солевої форми неокисненого похідного фентіазину. До того ж у результаті окиснення спостерігається батохромний зсув смуги поглинання детектованого продукту, що додатково забезпечує підвищення вибірковості аналізу. Аналізуючи наведені літературні дані, можна дійти до таких висновків: у фармацевтичному спектрофотометричному аналізі до теперішнього часу сформувалося декілька головних прикладних напрямків.

Перший: кількісне визначення концентрації органічних речовин, що містять хромофорні групи (визначення за власним поглинанням). У дослідницькій фармацевтичній практиці завдяки високій точності, порівняно малої трудомісткості, швидкості, майже без витрат додаткових реактивів, спектрофотометрія приваблює як експрес-метод.

Другий: вирішення питань контролю якості та стандартизації лікарських препаратів з використанням АОС. Цей напрямок технічно пов'язаний з першим, і розрізняються вони лише за програмними цілями використання спектрофотометричної інформації, тому поділ напрямків слід вважати умовним.

Третій напрям зводиться до опрацювання та вдосконалення прийомів обробки спектральних кривих, вилучення з них більш повної інформації про властивості речовин. Стандартні та нестандартні параметри спектральних кривих: максимуми, точки перегину, сходинок, їх крутизна і ширина смуг поглинання в своїй сукупності складають так званий, «спектрофотометричний паспорт/профіль», який відображає індивідуальні особливості аналітів та дозволяє виявляти найтонші відмінності речовин й ідентифікувати їх. Все це разом узятє розширює інформаційні можливості АОС. Підсумовуючи, слід зауважити, що методи «похідної» спектрофотометрії ще недостатньо використовуються у фармації, хоча в силу своєї прецизійності досить-таки перспективні у порівнянні зі звичайною АОС. До того ж математичне забезпечення сучасною цифровою спектрофотометричною апаратурою дозволяє обчислювати похідні першого і вищих порядків від емпіричних спектральних кривих.

Таким чином, безумовно актуальними убачаються дослідження, спрямовані на розширення можливостей методу дериватизаційної (непрямої) спектрофотометрії з використанням нових аналітичних реакцій (четвертий напрям), які б дозволяли відносно легко та швидко добувати нові форми аналітів, придатних для аналітичних визначень. Останній у дослідницькій фармацевтичній практиці, завдяки достатньо високій точності, порівняно малої трудомісткості, швидкості, є привабливий як експрес-метод. Загальна формула похідних фентіазину наведена на рис. 1 та табл. 1.

Препарати фентіазину у теперішній час продукують у різних лікарських формах як індивідуальних, так і в комбінації з одним або більше іншими лікарськими засобами.

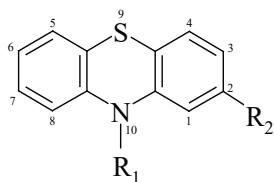


Рис. 1. Загальна формула похідних фентіазину.

Fig. 1. The general formula of phenothiazine derivatives.

Серед методів, які використовуються для аналізу фентіазинових похідних у фармацевтичних препаратах, позиціоновані головним чином хроматографічні, УФ- та ВІД- спектрофотометричні процедури. Прості спектрофотометричні методи, що використовуються, наприклад, Британською Фармакопеею, зазвичай включають екстракцію або сильне розбавлення розчину препарату з подальшим вимірюванням світлопоглинання в УФ-ділянці спектра.

Таблиця 1

Хімічна будова 2- та/або10-дизаміщених похідних фентіазину

Table 1

Structure of 2- and/or 10-disubstituted fentiazine derivatives

Лікарська речовина	Замісники		Символ
	R ₁	R ₂	
Хлорпромазин	-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -N(CH ₃) ₂	-Cl	CPH
Левомепромазин	-CH ₂ -CH(CH ₃)-CH ₂ -N(CH ₃) ₂	-OCH ₃	LMPH
Прометазин	-CH ₂ -CH(CH ₃)-N(CH ₃) ₂	-	PMH
Перфеназин	-(CH ₂) ₃ -N N-(CH ₂) ₂ OH	-Cl	EPH
Тіорідазин	-CH ₂ -CH ₂ -	-SCH ₃	TRDH
Трифтазин	-(CH ₂) ₃ -N N-CH ₃	-CF ₃	TFP
Етацизин	-C-CH ₂ -CH ₂ -N(C ₂ H ₅) ₂	-NHC(O)OC ₂ H ₅	ET
Прохлорперазин	-(CH ₂) ₃ -N N-CH ₃	-Cl	PCP
Периціазин (Неулептил)	-(CH ₂) ₃ -N N-OH	-CN	PRC

Ці процедури не мають специфічності і піддаються негативному впливу інших поглинаючих в ультрафіолеті лікарських засобів чи барвників і ароматизаторів або продуктів окиснення фенотіазинових препаратів. З метою поліпшення аналітичних властивостей цього спектрофотометричного методу як окисдаційні реагенти були запропоновані довголанцюгові аліфатичні динадкислоти, а також Оксон – потрійна калійна сіль кислоти Каро. Було виявлено, що дипероксиадипінова кислота в кислому середовищі швидко та кількісно окиснює фентіазини з утворенням відповідних сульфоксидів фентіазинів. Запропоновані методи характеризуються простотою, чутливістю і хорошою точністю. Визначення фентіазинів спектрофотометричним методом є кращим перед іншими традиційними методами, оскільки вони є швидшими і точнішими (значення RSD в діапазоні від 0,6 до 2,5%) [12]. Природа продуктів, що утворюються при взаємодії похідних фентіазину з окисдаційним реагентом в умовах аналізу, підтверджувалася шляхом порівняння значень величин R_f не менше як у двох системах розчинників, а також порівнянням ультрафіолетових спектрів поглинання з такими розчинів зразків автентичних сульфоксидів.

Описано також новий метод для швидкого визначення похідних фентіазину у фармацевтичних препаратах. Препарати визначали методом різницевої спектрофотометрії, заснованої на абсорбції похідного сульфоксиду препарату по відношенню до абсорбції розчину неокисненого препарату. Сульфоксидне похідне утворюється швидко і кількісно за кімнатної температури шляхом додавання розчину калій пероксомоносульфату (у вигляді стійкого Оксону). Різниця абсорбції розчину пропорційна концентрації фентіазинового препарату в препараті і є специфічним для препарату в присутності барвників і ароматизаторів, а також більшості інших складників препаратів [13-21], а відносно стандартне відхилення близьке до 3%. Оптичні характеристики та аналітичні параметри аналітичних форм фентіазинових препаратів узагальнені в табл. 2.

Описані методики визначення методом непрямої різницевої спектрофотометрії таких фентіазинових препаратів як Прохлорперазин (син. Веринекс) (з використанням Оксону як окисника) [17] та Периціазин [19] (син. Неулептил), а також Тизерцин та Етаперазин (з використанням дипероксиізелаїнової кислоти як окисника) [18, 20] у різних комерційних препаратах. Аналіз може бути виконаний швидко, подібно до прямого спектрофотометричного визначення, і він достатньо специфічний. Метод полягає в окисненні препарату в аликвоті розчину дипероксиізоізелоїновою кислотою чи оксоном з утворенням відповідного сульфоксидного похідного фентіазину (рис. 2) та вимірюванні абсорбції розчину в області 320-350 нм з використанням розчину реагента тієї ж концентрації в компенсаційному розчині. Отримана різниця абсорбції пропорційна концентрації нативного похідного фенотіазину у лікарському засобі, а на її величину не впливає присутність допоміжних речовин, продуктів розкладення або наявність інших препаратів.

Таблиця 2

Оптичні характеристики та аналітичні параметри
для визначення фентіазинових препаратів

Table 2

Optical characteristics and analytical parameters
for the determination of fentiazine preparations

Характеристики	Хлорпромазин (СРН)	Прометазин (РМН)	Левомепромазин (LMPH)	Етаперазин (ЕРН)	Ридазин (TRDH)
λ_{\max} , нм	341-342	335-337	332-333	341-342	349-350
$\epsilon \pm \Delta\epsilon$ (л·моль ⁻¹ ·см ⁻¹)	5350±300	5300±100	6090±300	5300±300	4950±400
Інтервал виконання закону Бера, 10 ⁻⁵ М	0,35 – 11	0,2–11	0,6 – 14	0,4–10	0,9–15
LOQ, М	3,5·10 ⁻⁶	1,6·10 ⁻⁶	5,7·10 ⁻⁶	4,2·10 ⁻⁶	8,6·10 ⁻⁶
Коефіцієнт регресії* (r)	0,999	0,999	0,999	0,999	0,999
Нахил (b±Δb), л·моль ⁻¹	5350±291	5293±111	6088±297	5304±290	4952±423
Вільний член (a±Δa)	-0,00005±0,02	-0,001±0,0075	-0,02±0,03	0,01±0,02	0,02±0,04
Дисперсія (S ²) (n=5-7; P=0,95)	1,9·10 ³	2,2·10 ³	3,25·10 ³	2,0·10 ³	1,1·10 ³

*A = b·c+a , де «A» оптична густина, «c» – концентрація, М

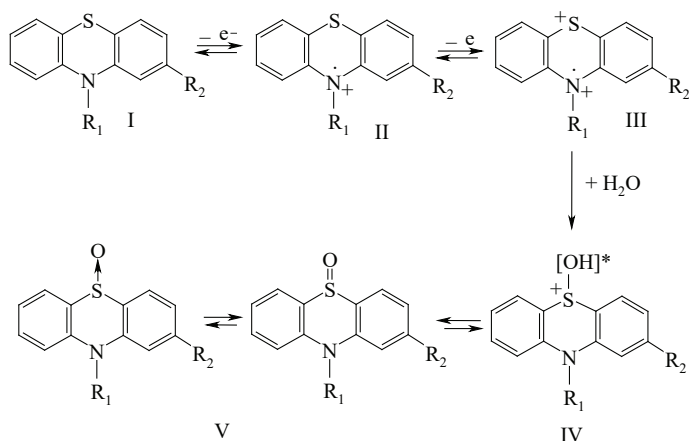


Рис. 2. Схема процесу окиснення похідних фентіазину

Fig. 2. Scheme of the process of phenothiazine derivatives oxidation

Об'єктом випробувань була готова лікарська форма відомого препарату – ВЕРТИНЕКС (Прохлорперазину малеату чи метеразину) пігулки, по 5 мг № 100, виробництва Кусум Телтхкер Пвт. Лтд. (Раджастан, Індія), номер серії VE7003. Згідно з Сертифікатом якості А.Р. № FG/1054/17 вміст препарату становив 4,92 мг до однієї пігулки (98,40%) (допуски не менше 95,0 та не більше 105,0 % до однієї пігулки прохлорперазину малеату в перерахунку на основу Прохлорперазину).

Схема процесу окиснення Прохлорперазину у відповідний сульфоксид має вигляд (рис. 3).

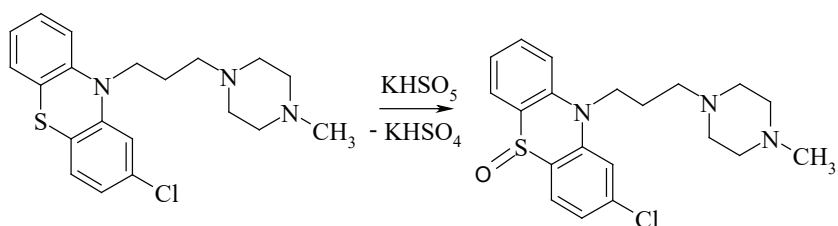


Рис. 3. Схема реакції окиснення Прохлорперазину калій гідрогенпероксимоноссульфатом до S-оксиду Прохлорперазину

Fig. 3. Scheme of the oxidation reaction of Prochlorperazine potassium with hydrogen peroquimonosulfate to Prochlorperazine S-oxide

Концентраційна залежність продукту окиснення зберігає лінійний характер в інтервалі концентрацій від 4 до 40 мкг/мл. У табл. 3 наведені результати визначення Прохлорперазину малеату в пігулках по 5 мг, отримані новоопрацьованим спектрофотометричним методом. Відносне стандартне відхилення не перевищує $\pm 1,34$ %. Одержані результати добре узгоджуються із даними визначення досліджуваного похідного фентіазину рекомендованим фармакопейним методом рідинної хроматографії ($\delta = +0,57$ %).

Визначення Прохлорперазину малеату у пігулках по 5 мг за відповідним сульфоксидом, добутим за допомогою калій гідрогенпероксимоноссульфатом більш чутливе, швидше і менш трудомістке у порівнянні до методик, які ґрунтуються на утворенні вільних радикалів фентіазонію (див. вище), а також простіше за хроматографічну методику, рекомендовану фармакопеею USP 39. Особливістю новоопрацьованої методики, що вигідно відрізняє її від відомих, є можливість здійснення контролю однорідності дозування препаратів Прохлорперазину без застосування додаткових операцій розділення. Межа кількісного визначення (LOQ) становить 1,67 мкг/мл [17].

Також досліджено готову лікарську форму відомого препарату – Етаперазин пігулки, вкриті оболонкою по 10 мг № 50, виробництва АТ «Татхимфармпрепараты» (Казань, Росія), номер серії 10218. Згідно з Паспортом № 458 вміст препарату становив 0,092 г до однієї пігулки (допуски не менше 0,0085 та не більше 0,0115 г до однієї пігулки, тобто 85-115%) [18].

Таблиця 3

Результати кількісного визначення Прохлорперазину малеату

Table 3

Results of the quantitative determination of Prochlorperazine maleate

Взято для аналізу	Знайдений вміст Прохлорперазину основи	Метрологічні характеристики
	мг/табл.	P=0,95
0,3000 г порошку табл. Вертинекс®, Кусум Телгхкер Пвт. Лтд. (Раджастан, Індія), номер серії VE7003.	4,90	$\bar{x} = 4,95$
	4,88	S = 0,0661
	4,95	$\Delta\bar{x} = 0,0822$
	5,05	RSD = 1,34 %
	4,96	$\varepsilon = 1,66 \%$
		$\delta^* = +0,57 \%$

*Розрахунок здійснений за даними середнього вмісту, знайденого за методикою USP 39 (4,92 мг/табл – 98,40±5%).

Нами запропоновано кількісне визначення Етаперазину здійснювати методом непрямої спектрофотометрії у вигляді відповідного сульфоксиду, добутого за допомогою дипероксіязелаїнової кислоти як аналітичного реагента-окисника. Схема окиснення Етаперазину дипероксіязелаїновою кислотою в кислому середовищі наведена на рис. 4.

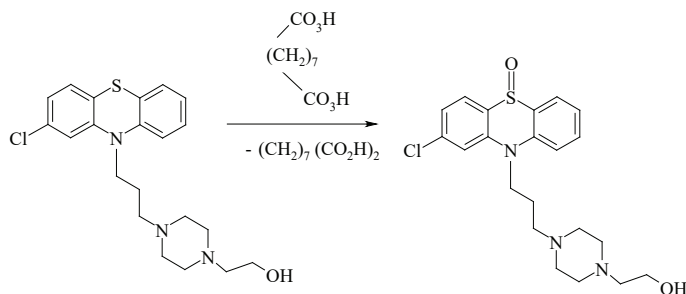


Рис. 4. Схема окиснення Етаперазину дипероксіязелаїновою кислотою в кислому середовищі

Fig. 4. Scheme of oxidation of Etaperazine with diperoxyazelaic acid in acidic medium

Лінійна залежність світлопоглинання спостерігається в інтервалі концентрацій аналіту від 1 до 40 мкг до одного мл кінцевого об'єму ($A=0,0136 C - 0,002$, $r=0,999$), де C – концентрація у мкг/мл. При 342 нм молярний коефіцієнт світлопоглинання дорівнює $5,45 \cdot 10^3 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$. $\text{LOD}(3S)=0,57 \text{ мкг/мл}$; $\text{LOQ}(10S)=1,9 \text{ мкг/мл}$.

У табл. 4 наведені результати визначення етаперазину в пігулках по 10 мг, отримані новоопрацьованим методом. Вони свідчать, що запропонований нами спосіб виконання аналізу дозволяє визначати заміщене похідне фентіазину – Етаперазин у готових лікарських формах із достовірною точністю. Відносна помилка визна-

чення не перевищує $\pm 2\%$. Одержані результати добре узгоджуються із даними визначення досліджуваного похідного фентіазину у таблетованій лікарській формі рекомендованим фармакопейним методом [18].

Таблиця 4

Результати кількісного визначення Етаперазину у вкритих оболонкою таблетках по 10 мг виробництва АТ «Татхімфармпрепарати»

Table 4

Results of quantitative determination of Etaperazine in 10 mg coated tablets produced by JSC "Tathimpharmaceuticals"

Взято для аналізу препарату	Знайдений вміст	Метрологічні характеристики
	г/табл.	P=0,95
0,33701 г (9,2 мг до 1 табл. $\pm 10\%$) * ЕТАПЕРАЗИН, виробництва АТ «Татхімфармпрепарати» (Казань, Росія), номер серії 10218.	0,00890	$\bar{x} = 0,00912$
	0,00915	S = 0,00018
	0,00935	$S_{\bar{x}} = 0,00007$
	0,00925	$\Delta\bar{x} = 0,00017$
	0,00928	RSD = 2,00 %
	0,00900	$\varepsilon = 1,85\%$
	0,00892	$\delta^* = -0,85\%$

*Розрахунок здійснений за даними сертифікату аналізу (Ph Eur 9).

Об'єктом наступних випробувань була готова лікарська форма Неуптил®, капсули 10 мг – № 5, виробництва «SANOFI» Фамар Хелс Кеа Сервіссз Мадрид С.Ф.У., Іспанія, номер серії 17N0020. В одній капсулі Неуптилу міститься 10 мг Періциазину основи, а також такі допоміжні сполуки як магній стеарат (3 мг) и кальцій дигідрату гідрогенфосфату (137 мг). У складі самої капсули присутні такі хімічні речивини як желатин та титану діоксид. Згідно з Сертифікатом аналізу середній вміст препарату (Періциазину основи) становив 10,07 мг до однієї капсули (допуски – не менше 9,50 та не більше 10,50 мг до однієї капсули, тобто 95-105%) [19]. Неуптил, 4% розчин для вживання всередину (краплі) 30 мл, який містить Періциазину основи – 4 г, а також такі допоміжні речовини як: очищена вода (100 мл), гліцерин (15 г), кислота аскорбінова (0,8 г), етерна олія, добута з листя м'яти перечної (0,04 г), цукроза (сахароза) (25 г) та E150d (карамель, 0,2 г), винна кислота (1,65 г) та 96% етанол (9,74 г). САНОФІ – АВЕНТІС ФРАНС (Франція), вироблено А. Хатгерман енд Сіе, Гмбх, Німеччина. Згідно з Сертифікатом аналізу (серія № 6K0331) середній вміст препарату (Періциазину основи) становив 3,96 % до однієї капсули (допуски – не менше 3,8 та не більше 4,2 %, тобто 95-105%).

Виходячи з даних літератури, хімізм процесу може бути представлений схемою (рис. 5).

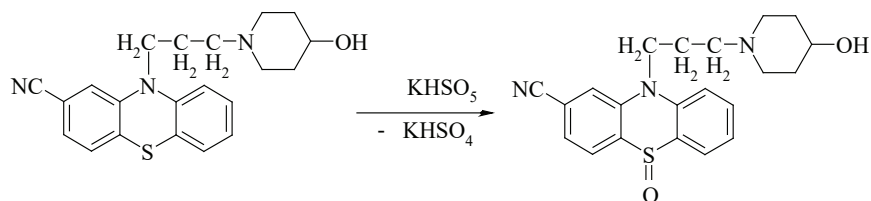


Рис. 5. Схема реакції S-окисації Періціазину калій гідрогенпероксомосульфатом (кароатом) в кислому середовищі

Fig. 5. Scheme of the reaction of S-oxidation of pericyazine potassium with hydrogen peroxomonosulfate in acidic medium

Оптична густина розчинів в максимумі світлопоглинання є лінійною функцією концентрації випробуваного похідного фентіазину (рівняння має вигляд $A=0,015 \times C - 0,02$ (коефіцієнт кореляції 0,999)). За даними градувального графіка були розраховані LOD та LOQ, які становлять 0,7 мкг/мл та 2,2 мкг/мл відповідно.

У таблицях 5 та 6 наведені результати визначення Періціазину в капсулах по 10 мг, а також 4% розчині (краплях) (40 мг/мл) Періціазину, отримані за новоопрацьованими методиками. Вони свідчать, що запропонований нами спосіб виконання аналізу дозволяє визначати Періціазин у готових лікарських формах із достовірною точністю. Відносна помилка визначення не перевищує $\pm 1,76\%$. Одержані результати добре узгоджуються з даними визначення досліджуваного похідного фентіазину у капсулах по 10 мг та розчині 40 мг/мл (краплях) за рекомендованими Європейською фармакопеею методиками.

Таблиця 5

Результати кількісного визначення Періціазину в капсулах «Неулептіл®» 10 мг («SANOFI» Фамар Хелс Кеа Сервіссз Мадрід С.Ф.У., Іспанія)

Table 5

The results of the quantitative determination of Pericyazine in Neuleptil® 10 mg capsules (SANOFI Famar Hels Kea Services Madrid SFU, Spain)

Взято для аналізу препарату	Знайдений вміст	Метрологічні характеристики
	мг/капс.	
0,1500 г (10,07 мг до 1 капс. $\pm 5\%$)* Неулептіл®, капс. 10 мг – № 5, виробництва «SANOFI» Фамар Хелс Кеа Сервіссз Мадрід С.Ф.У., Іспанія, номер серії 17N0020.	10,23	$\bar{x} = 10,10$
	10,40	S = 0,1779
	9,88	$S_{\bar{x}} = 0,0673$
	10,06	$\Delta \bar{x} = 0,1648$
	9,95	RSD = 1,76 %
	10,15	$\epsilon = 1,63\%$
	10,01	$\delta^* = +0,27\%$

*Розрахунок здійснений за даними середнього вмісту, знайденого за методикою Ph Eur 9.

Визначення Періциазину у капсулах по 10 мг, а також 4% розчині для вживання всередину в присутності низки допоміжних речовин за відповідним сульфоксидом, добутим за допомогою калій гідрогенпероксомоносульфату, більш чутливе, швидше і менш трудомістке у порівнянні до методик, які ґрунтуються на утворенні вільних радикалів фентіазонію, а також простіше за ВЕРХ методику, яку рекомендовано Європейською Фармакопеєю. Слід зауважити, що опрацьована нами методика дозволяє визначати Періциазин в присутності аскорбінової кислоти без їх попереднього розділення [19].

Таблиця 6

Результати кількісного визначення Періциазину
у 4 % розчині Неулентилу 30 мл

Table 6

The results of the quantitative determination of Pericyazine
in a 4% solution of Neuleptil 30 ml

Взято для аналізу розчину	Знайдений вміст	Метрологічні характеристики
	%	P=0,95
0,50 мл (3,96 %)* розчину крапель САНОФІ – АВЕНТІС ФРАНС (Франція), вироблено А. Хатгерман енд Сіс, Гмбх, Німеччина; № серія: 6K0331	3,91	$\bar{x} = 3,91$
	3,84	S = 0,069
	3,92	$S_{\bar{x}} = 0,026$
	3,88	$\Delta\bar{x} = 0,0638$
	3,82	RSD = 1,76 %
	3,99	$\epsilon = 1,63 \%$
	4,00	$\delta^* = -1,13 \%$

*Розрахунок здійснений за даними сертифікату аналізу, ВЕРХ (Ph Eur 9).

Наступним об'єктом випробувань була готова лікарська форма препарату – Тизерцин®, розчин для ін'єкцій Левомепромазину гідрохлориду по 1 мл № 10. Тизерцин® розчин для ін'єкцій, 1 ампула містить 25 мг левомепромазину гідрохлориду в перерахунку на Левомепромиазин основу; Допоміжні речовини: цитратна (лимонна) кислота безводна – 9 мг, моногіліцерол – 7,5 мг, натрій хлориду – 6 мг, вода д/ін'єкцій – до 1 мл. Виробник ЗАТ «Фармацевтичний завод ЕГІС» (Будапешт, Угорщина); № серії: 23F0317 [20].

Європейська фармакопея рекомендує вміст основної речовини у субстанції левомепромазину малеату знаходити методом ацидиметрії у середовищі оцтового ангідриду потенціометрично, у субстанції левомепромазину гідрохлориду – методом алкаліметрії в середовищі вода-ізопропанол з потенціометричною реєстрацією кінцевої точки титрування; у таблетках та розчині для ін'єкцій левомепромазину малеату – (після екстрактивного вилучення препарату у вигляді основи) методом прямої спектрофотометрії за власним поглинанням світла при 254 нм у середовищі метанолу або у воді (левомепромазину гідрохлорид) при 302 нм, а у розчинах для ін'єкцій з аскорбіновою кислотою та метабісульфітом чи моногіліцеролом – титриметрично чи методом обернено-фазової ВЕРХ зі спектрофотометричним детектуванням (USP 39).

Було запропоновано кількісне визначення Левомепромазину гідрохлориду виконувати методом непрямой спектрофотометрії у вигляді відповідного сульфоксиду, який було добуто за допомогою дипероксіязелаїнової кислоти як аналітичного реагента. Схема S-окиснення Левомепромазину за допомогою дипероксіязелаїнової кислоти у кислому середовищі наведена на рис.6.

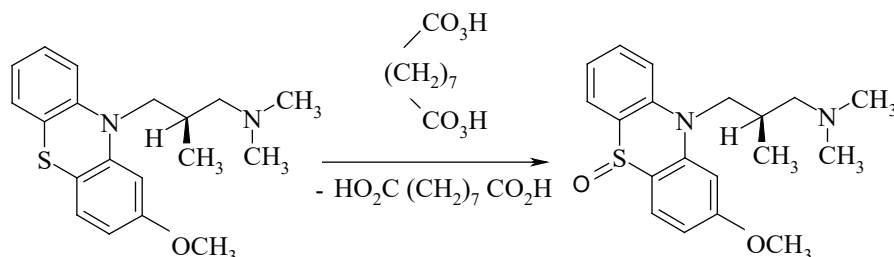


Рис. 6. Схема S-окиснення Левомепромазину за посередництвом дипероксіязелаїнової кислоти у кислому середовищі

Fig. 6. Scheme of S-oxidation of levomepromazine mediated by diperoxyazelaic acid in acidic medium

Градувальний графік для кількісного визначення левомепромазину методом непрямой спектрофотометрії у вигляді відповідного сульфоксиду наведений на рис. 15. Рівняння має вигляд $A=0,0077 C$ (коефіцієнт кореляції $r=0,999$), де C концентрація в мкг/мл, а також розраховано величини: $LOD=1,55$ мкг/мл та $LOQ = 4,7$ мкг/мл [20].

У таблиці 7 наведені результати визначення левомепромазину гідрохлориду в розчині для ін'єкцій по 25 мг до 1,00 мл, отримані новоопрацьованим методом.

Таблиця 7

Результати кількісного визначення Левомепромазину у розчині Тизерцин® для ін'єкцій

Table 7

Results of quantitative determination of Levomepromazine in Tizercin® solution for injection

Взято для аналізу препарату	Знайдений вміст	Метрологічні характеристики
	мг/мл	P=0,95
1,00 мл (25,25 мг ± 5%) розчину для ін'єкцій Тизерцин®, ВАТ Фармацевтичний завод ЕГІС (Будапешт, Угорщина); № серія: 23F0317	25,45	$\bar{x} = 25,20$
	25,08	$S = 0,3124$
	25,78	$S_{\bar{x}} = 0,1181$
	24,90	$\Delta x = 0,2893$
	24,98	$RSD = 1,24 \%$
	25,02	$\varepsilon = 1,15 \%$
	25,16	$\delta^* = -0,02 \%$

*Розрахунок здійснений за даними вмісту діючої речовини, знайденого методом ВЕРХ (PhEur 9), вказаного у сертифікаті відповідності.

Результати свідчать, що запропонований спосіб виконання аналізу дозволяє визначати заміщене похідне фентіазину – левомепромазину гідрохлориду у готових лікарських формах із достовірною точністю, а відносна помилка визначення не перевищує $\pm 1,24\%$. Одержані результати добре узгоджуються із даними визначення досліджуваного похідного фентіазину рекомендованим фармакопейним методом рідинної хроматографії (USP 39).

Оптичні характеристики та аналітичні параметри сульфоксидів фентіазинових похідних у новоопрацьованих методиках узагальнені у таблиці 8.

Таблиця 8

Оптичні характеристики та аналітичні параметри сульфоксидів фентіазинових похідних

Table 8

Optical characteristics and analytical parameters of fentiazine derivatives sulfoxides

Характеристики	Мегеразин	Периціазин	Тизерцин	Етаперазин
λ_{max} , нм	336-338	360-362	332-333	342-343
$\varepsilon \pm \Delta\varepsilon$ (л·моль ⁻¹ ·см ⁻¹)	(2,7±0,1)- 3,9)·10 ³	(5,5±0,15)·10 ³	(3,5-4,0)·10 ³	(5,6-7,0)·10 ³
Інтервал виконання закону Бера, 10 ⁻⁵ моль·л ⁻¹	0,2 – 11	0,2 – 11	0,4 – 14	0,4 – 10
Межа визначення, LOQ, моль·л ⁻¹	4,5·10 ⁻⁶	5,8·10 ⁻⁶	5,7·10 ⁻⁶	4,2·10 ⁻⁶

Таким чином, в даній роботі оглянуто сучасний стан застосування методу УФ-ВИД спектроскопії у фармацевтичному аналізі похідних фентіазину, зокрема проблеми, які пов'язані з використанням хімічних реакцій перед спектрофотометричними вимірюваннями. На прикладі піперидинових та піперазинових похідних фентіазину показані переваги застосування Оксону та диперокси-карбонових кислот як дериватизаційних реагентів для добування сульфоксидів відповідних фентіазинів для здійснення вибіркового та високочутливого кількісного визначення їх у лікарських препаратах методом непрямої спектрофотометрії.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Марченко З., Бальцежак М. Методи спектрофотометрії в УФ і видимій областях в неорганічному аналізі. – М.: БИНОМ, 2009. – 711 с.
2. Овчинников М.М., Подгорный Г.Н., Балаховский И.С. Количественный спектрофотометрический анализ в ультрафиолетовой, видимой и ближней инфракрасной областях // Клиническая лабораторная диагностика. – 2002. – № 2. – С. 6–11.
3. Петин Ю.А., Кураמיшина Г.М. Основы молекулярной спектроскопии. – М. Мир. БИНОМ, 2008. – 398 с.
4. Шмидт В. Оптическая спектроскопия для химиков и биологов. М.: Техносфера, 2007. – 368 с.
5. Беликов В.Г. Анализ лекарственных веществ фотометрическими методами // Российский химический журнал. – 2002. – № 4. – С. 52–56.
6. Беликов В. Г. Фармацевтическая химия в 2-х ч; учебное пособие, 4-е изд, перераб и доп. М.: МЕД-прес – информ., 2012. – 640 с.
7. Puzanowska-Tarasiewicz H., Kuźmicka L., Karpińska J., Mielech-Lukasiewicz K. Efficient oxidizing agents for determination of 2,10-disubstituted phenothiazines // Anal. Sci. – 2005. – Vol. 21, N 10. – P. 1149-1153.

8. Гризодуб А.И., Сур С.В. Проблемы качества и фальсификации лекарственных средств // [Електронний ресурс]. – Режим доступу до сайту: <http://www.apteka.ua/article/4880>.
9. Кувырченкова И.С. Методики анализа производных фенотиазина // Фармация. – 2006. № 6. – С. 18–21.
10. European Pharmacopoeia 9th Edition – European Directorate for the Quality of Medicines (EDQM) // Council of Europe, 67075 Strasbourg Cedex, France 2016. – 4016 p.
11. Блажесвський М. Застосування дериватизації за допомогою реакцій окиснення надкислотами та пергідролізу у фармацевтичному аналізі «Application of derivatization by means of peroxy acid oxidation and perhydrolysis reactions in pharmaceutical analysis // монографія – Львів: ЛНУ імені Івана Франка, 2017. – 106 с.
12. Блажесвський М.С. Спектрофотометричне визначення 10-алкілпохідних фенотіазину в лікарських формах з використанням пероксикислотного окислення // Фармац. журн. – 2003. – № 1. – С. 64-73.
13. Шлюсар О.І., Блажесвський М.С. Спектрофотометричне визначення хлорпромазину гідрохлориду у вигляді S-оксиду, одержаного за допомогою калій пероксомоносульфату // Вісник фармації. – 2012. – Т. 1, № 69. – С. 51-53.
14. Шлюсар О.І., Блажесвський М.С. Спектрофотометричне визначення тіоридазину гідрохлориду у вигляді S,S'-діоксиду, одержаного за допомогою пероксомоносульфату // Фармац. часопис. – 2012. – Т. 3, № 23. – С. 89-92.
15. Шлюсар О.І., Блажесвський М.С. Спектрофотометричне визначення левомепромазину у вигляді S-оксиду, одержаного за допомогою калій пероксомоносульфату // Вісник фармації. – 2012. – Т. 4, № 72. – С. 34-38.
16. Шлюсар О.І., Блажесвський М.С. Спектрофотометричне визначення перфеназину у вигляді S-оксиду, одержаного за допомогою пероксомоносульфату // Фармац. журнал. – 2012. – № 4. – С. 71-75.
17. Блажесвський М.С., Раммаль А.Н. Кількісне визначення Прохлорперазину методом спектрофотометрії у вигляді його сульфоксиду, добутого за допомогою калій гідрогенпероксосульфату // Медичні науки: історія розвитку, сучасний стан та перспективи досліджень: зб. тез наук. робіт учасн. міжнар. наук.-практ. конф., 21-22 вересня 2018 р. Львів: ГО «Львівська медична спільнота», 2018. – С. 73-79.
18. Блажесвський М.С., Борта І.В. Кількісне визначення Етаперазину методом спектрофотометрії у вигляді сульфоксиду, добутого за допомогою дипероксіазелайнової кислоти // Медичні науки: історія розвитку, сучасний стан та перспективи досліджень: зб. тез наук. робіт учасн. міжнар. наук.-практ. конф., 21-22 вересня 2018 р. Львів: ГО «Львівська медична спільнота», 2018. – С. 52-58.
19. Блажесвський М.С., Піженко А.С. Кількісне визначення Периціазину в лікарських формах методом непрямой спектрофотометрії у вигляді відповідного сульфоксиду // Медичні науки: історія розвитку, сучасний стан та перспективи досліджень: зб. тез наук. робіт учасн. міжнар. наук.-практ. конф., 21-22 вересня 2018 р. Львів: ГО «Львівська медична спільнота», 2018. – С. 66-72.
20. Блажесвський М.С., Куц А.А. Кількісне визначення Левомепромазину в лікарських формах методом непрямой спектрофотометрії у вигляді відповідного сульфоксиду // Медичні науки: історія розвитку, сучасний стан та перспективи досліджень: зб. тез наук. робіт учасн. міжнар. наук.-практ. конф., 21-22 вересня 2018 р. Львів: ГО «Львівська медична спільнота», 2018. – С. 59-65.
21. Спосіб кількісного визначення похідних фентіазину: пат.№ 72208 Україна: МПК G01N 33/00 (2012.01) / М.С. Блажесвський, О.І. Шлюсар. № u201201119; заявл. 03.02.2012; опубл. 10.08.2012, Бюл. № 15.

Стаття надійшла до редакції 03.09.2019

Н. Е. Блажеевский¹, Л. О. Дубенская²

¹Национальный фармацевтический университет,
ул. Пушкинская, 53, г. Харьков, 61002; email: blazejowski@ukr.net

²Львовский национальный университет
ул. Кирилла и Мефодия, 6, г. Львов, 79005

ПРИМЕНЕНИЕ ДЕРИВАТИЗАЦИИ С ПОМОЩЬЮ ПЕРОКСОКИСЛОТНОГО ОКИСЛЕНИЯ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОИЗВОДНЫХ ФЕНТИАЗИНА МЕТОДАМИ НЕПРЯМОЙ СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ (ОБЗОР)

В этой статье проведен обзор современного состояния применения метода УФ-ВИД спектроскопии в фармацевтическом анализе производных фентиазина. Рассмотрены особенности определения лекарственных веществ в различных препаратах и проблемы, которые связаны с использованием химических реакций предшествующих спектрофотометрическим измерениям. Приведен обзор методов спектрофотометрического определения основных семейств лекарственных препаратов производных фентиазина, а основное внимание сфокусировано на достижениях последнего десятилетия. На примере пиперидинового и пиперазинового производных фентиазина показаны преимущества применения Оксона и дипероксидикарбоновых кислот как дериватизационных реагентов для получения сульфоксидов соответствующих фентиазинов и осуществления избирательного и высокочувствительного количественного определения их в лекарственных препаратах методами не прямой спектрофотометрии.

Ключевые слова: дериватизация, Оксон, дипероксидикарбоновые кислоты, спектрофотометрия, производные фентиазина.

M. Ye. Blazheyevskiy¹, L. O. Dubenska²

¹National University of Pharmacy, Pushkinska str., 53
Kharkov, 61002, Ukraine; email: blazejowski@ukr.net

²Lviv National University вул. Кyрyла та Мefодiя str., 6,
Lviv, 79005, Ukraine

AN APPLICATION OF DERIVATIZATION BY THE PEROXIC ACID OXIDATION FOR THE DETERMINATION OF FENTIASINE DERIVATIVES BY INDIRECT SPECTROPHOTOMETRY METHOD (A REVIEW)

The present article reviews the current state of the UV-spectroscopy method in the pharmaceutical analysis of phenothiazine derivatives. There are three main areas of applied research using UV VIS spectrophotometry in pharmaceutical analysis: quantitative determination of the concentration of organic substances by their own light absorption; resolving the issues of quality control and standardization of medicinal products using UV VIS spectrophotometry; elaboration and improvement of techniques for processing spectral curves, obtaining from them more complete information about the properties of substances. The peculiarities of determination of pharmaceutical substances in various drugs and the problems associated with the use of the chemical reactions prior to UV VIS spectrophotometric measurements are considered. This review article presents the fundamentals for the beginner

and, for the expert, discusses quantitative analysis problems. The review of the UV VIS spectrophotometric methods for determination of the main type of pharmaceuticals, such as phenothiazine derivatives is given. The main attention is focused on the achievements of the last decade. The example of piperidine and piperazine derivatives of phenothiazine shows the advantages of using Oxone and diperoxydicarboxylic acids as derivatization reagents for the production of sulfoxides of the corresponding phenothiazines for selective and highly sensitive quantitative determination of them in some pharmaceuticals by UV VIS spectrophotometry.

Keywords: derivatization, Oxon, diperoxydicarboxylic acids, spectrophotometry, fentiazine derivatives pharmaceutical analysis.

REFERENCES

1. Marchenko Z., Bal'tsezhak M. *Metody spektrofotometrii v UF i vidimoy oblastiakh v neorganicheskoy analize*. Moscow, BINOM, 2009. 711 p. (in Russian)
2. Ovchinnikov M.M., Podgornyy G.N., Balakhovskiy I.S. *Kolichestvennyy spektrofotometricheskyy analiz v ul'trafioletovoy, vidimoy i blizhney infrakrasnoy oblastiakh*. Klinicheskaya laboratornaya diagnostika., 2002, vol. 2, pp. 6–11. (in Russian)
3. Petin Yu.A., Kuramshina G.M. *Osnovy molekulyarnoy spektroskopii*. Moscow, Mir. BINOM, 2008., 98 p. (in Russian)
4. Shmidt V. *Opticheskaya spektroskopiya dlya khimikov i biologov*. Moscow, Tekhnosfera, 2007, 368 pp. (in Russian)
5. Belikov V.G. *Analiz lekarstvennykh veshchestv fotometricheskimi metodami*. Rossiyskiy khimicheskiy zhurnal, 2002, vol. 4, pp. 52–56. (in Russian)
6. Belikov V. G. *Farmatsevticheskaya khimiya v 2-kh ch; uchebnoye posobiye, 4-ye izd, pererab i dop*. Moscow, MED-pres – inform., 2012, 640 p. (in Russian)
7. Puzanowska-Tarasiewicz H., Kuźmicka L., Karpińska J., Mielech-Lukasiewicz K. *Efficient oxidizing agents for determination of 2,10-disubstituted phenothiazines*. Anal. Sci., 2005, vol. 21, no 10, pp. 1149-1153.
8. Grizodub A.I., Sur S.V. *Problemy kachestva i fal'sifikatsii lekarstvennykh sredstv*. [Electronic resource]. Site access mode: <http://www.apteka.ua/article/4880>.
9. Kuvyrenkova I.S. *Metodiki analiza proizvodnykh fenotiazina*. Farmatsiya. 2006, no 6, pp. 18–21. (in Russian)
10. European Pharmacopoeia 9th Edition – *European Directorate for the Quality of Medicines (EDQM)*. Council of Europe, 67075 Strasbourg Cedex, France 2016, 4016 p.
11. Blazheys'kyy M. *Zastosuvannya deryvatyzatsiyi za dopomohoyu reaktsiy oksyennyya nadkyslotamy ta perhidrolizu u farmatsevtichnomu analizi «Application of derivatization by means of peroxy acid oxidation and perhydrolysis reactions in pharmaceutical analysis*. monohrafiya– L'viv: LNU imeni Ivana Franka, 2017, 106 p. (in Ukrainian)
12. Blazheys'kyy M.Ye. *Spektrofotometrychne vyznachennya 10-alkilpokhidnykh fenotiazynu v likars'kykh formakh z vykorystanniam peroksykyslotnoho oksylennya*. Farmats. zhurn. 2003, vol. 1, pp. 64-73. (in Ukrainian)
13. Shlyusar O.I., Blazheys'kyy M.Ye. *Spektrofotometrychne vyznachennya khlorpromazynu hidrokhlorydu u vyhlyadi S-oksylu, oderzhanoho za dopomohoyu kaliy peroksomonosul'fatu*. Visnyk farmatsiyi. 2012, vol.1, no 69, pp. 51-53. (in Ukrainian)
14. Shlyusar O.I., Blazheys'kyy M.Ye. *Spektrofotometrychne vyznachennya tiorydazynu hidrokhlorydu u vyhlyadi S,S'-dioksydu, oderzhanoho za dopomohoyu peroksomonosul'fatu*. Farmats. chasopys. 2012, vol. 3, no 23, pp. 89-92. (in Ukrainian)
15. Shlyusar O.I., Blazheys'kyy M.Ye. *Spektrofotometrychne vyznachennya levomepromazynu u vyhlyadi S-oksylu, oderzhanoho za dopomohoyu kaliy peroksomonosul'fatu*. Visnyk farmatsiyi. 2012, vol. 4, no 72, pp. 34-38. (in Ukrainian)
16. Shlyusar O.I., Blazheys'kyy M.Ye. *Spektrofotometrychne vyznachennya perfenazynu u vyhlyadi S-oksylu, oderzhanoho za dopomohoyu peroksomonosul'fatu*. Farmats. zhurnal. 2012, vol. 4, pp.71-75. (in Ukrainian)
17. Blazheys'kyy M.Ye., Rammal' A.N. *Kil'kisne vyznachennya Prokhlorperazynu metodom spektrofotometriyi u vyhlyadi yoho sul'foksydu, dobutoho za dopomohoyu kaliy hidrogenperoksydosul'fatu*. Medychni nauky: istoriya rozvytku, suchasnyy stan ta perspektyvy doslidzhen': zb. tez nauk. robit uchasn. mizhnar. nauk.-prakt. konf., 21-22 veresnya 2018 r. L'viv: HO «L'viv's'ka medychna spil'nota», 2018, pp. 73-79. (in Ukrainian)

18. Blazheys'kyy M.Ye., Borta I.V. *Kil'kisne vyznachennya Etaperazynu metodom spektrofotometriyi u vyhlyadi sul'foksydu, dobutoho za dopomohoyu dyperoksiazelainovoyi kysloty*. Medychni nauky: istoriya rozvytku, suchasny stan ta perspektyvy doslidzhen'. Zb. tez nauk. robit uchasn. mizhnar. nauk.-prakt. konf., 21-22 veresnya 2018 r. L'viv. HO «L'viv'ka medychna spil'nota», 2018, pp. 52-58. (in Ukrainian)
19. Blazheys'kyy M.Ye., Pizhenko A.S. *Kil'kisne vyznachennya Perytsiazynu v likars'kykh formakh metodom nepryamoyi spektrofotometriyi u vyhlyadi vidpovidnoho sul'foksydu*. Medychni nauky: istoriya rozvytku, suchasny stan ta perspektyvy doslidzhen'. Zb. tez nauk. robit uchasn. mizhnar. nauk.-prakt. konf., 21-22 veresnya 2018 r. L'viv. HO «L'vivs'ka medychna spil'nota», 2018, pp. 66-72. (in Ukrainian)
20. Blazheys'kyy M.Ye., Kuts A.A. *Kil'kisne vyznachennya Levomepromazynu v likars'kykh formakh metodom nepryamoyi spektrofotometriyi u vyhlyadi vidpovidnoho sul'foksydu*. Medychni nauky: istoriya rozvytku, suchasny stan ta perspektyvy doslidzhen'. Zb. tez nauk. robit uchasn. mizhnar. nauk.-prakt. konf., 21-22 veresnya 2018 r. L'viv. HO «L'vivs'ka medychna spil'nota», 2018, pp. 59-65. (in Ukrainian)
21. Sposib kil'kisnoho vyznachennya pokhidnykh fentiazynu: pat.№ 72208 Ukrayina: MPK G01N 33/00 (2012.01) M.Ye. Blazheys'kyy, O.I. Shlyusar. № u201201119; zayavl. 03.02.2012, opubl.10.08.2012, Byul. № 15. (in Ukrainian)