

## Визначення домішок купруму в субстанції *N*-ацетилцистеїну кінетико-спектрофотометричним методом

М.Є.Блажеєвський, І.М.Боровська

Національний фармацевтичний університет, кафедра фізичної і колоїдної хімії,  
ДЗ «Луганський державний медичний університет», кафедра фармацевтичної хімії та фармакогнозії  
Харків, Луганськ, Україна

Запропонована кінетико-спектрофотометрична методика кількісного визначення домішок купруму в субстанції *N*-ацетилцистеїну за індикаторною реакцією окислення *N*-ацетилцистеїну калій гексаціанофератом (III) у середовищі ацетатного буферного розчину. Нижня межа визначуваних концентрацій – 5 нг/мл Cu (II).

**Ключові слова:** *N*-ацетилцистеїн, каталітичне окислення, купрум, калій гексаціаноферат (III), кінетико-спектрофотометричний метод, кількісне визначення домішок.

### ВСТУП

*N*-ацетил-*L*-цистеїн (АЦЦ) — відомий муколітичний лікарський засіб. Крім того, його використовують як протиотруту під час отруєнь важкими металами. Виявлені останнім часом інші види біологічної активності АЦЦ дозволили значно розширити показання щодо його застосування [1].

З інтенсивним розвитком промисловості та науково-технічним прогресом щороку погіршуються екологічні умови довкілля і, як наслідок, розширюється перелік та збільшується кількісний вміст домішок важких металів. Вони здатні взаємодіяти з лікарськими речовинами або прискорювати їх розкладання. Обидва процеси можуть призводити до зменшення фармакологічної активності ліків або підвищення їх токсичності. До таких домішкових елементів, які

здатні каталізувати автоокислення багатьох лікарських речовин, належить купрум.

Згідно з ДФУ, вміст домішок важких металів в субстанції АЦЦ рекомендують знаходити візуальним напівкількісним тіоацетамідним методом порівняння зі стандартом плюмбуму (II) після попередньої мінералізації досліджуваного зразка субстанції [3].

У доступній науковій літературі описано декілька методик кількісного визначення купруму в лікарських препаратах з використанням кінетичного методу аналізу переважно після здійснення мінералізації зразків [4-6, 8].

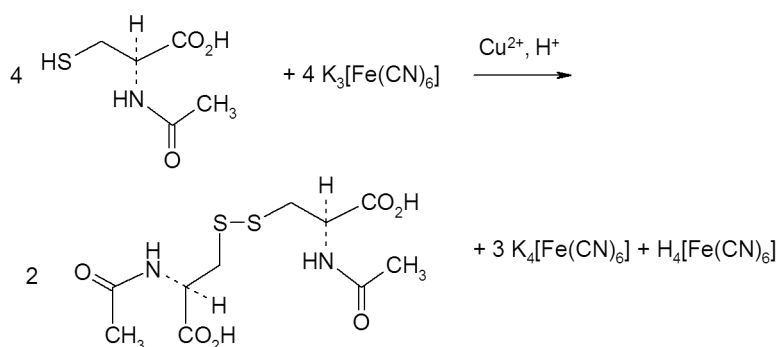
Метою дослідження було з'ясування можливості застосування кінетико-спектрофотометричного методу аналізу для кількісного визначення вмісту домішок купруму в субстанції АЦЦ без попереднього здійснення мінералізації зразка.

Як індикаторна для визначення домішок купруму нами запропонована каталітична реакція окислення АЦЦ калій гексаціанофератом (III) в середовищі ацетатного буферного розчину з рН=4,0. Швидкість перебігу індикаторної реакції реєстрували за зменшенням світлопоглинання забарвленого в жовтий колір калій гексаціаноферату (III) при 420 нм.

Каталітичне окислення АЦЦ калій гексаціанофератом (III) у присутності іонів купруму (II) відбувається за такою загальною схемою:

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Використовували реагенти кваліфікації х.ч. або ч.д.а.; розчини виготовляли на отриманій за допомогою кварцового дистилятора двічі дистильованій воді.



*N*-ацетилцистеїн — субстанція, серія 091108, виробник Moehs Catalana S. L., Іспанія.

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

Ацетатний буферний розчин з рН=4,0 виготовляли шляхом змішування 90 мл 0,2 моль/л розчину натрій ацетату з 410 мл 1,1 моль/л розчину ацетатної кислоти [5].

Вихідний розчин  $1 \cdot 10^{-3}$  моль/л купруму (II) був виготовлений об'ємно-ваговим методом шляхом розчинення 0,2497 г купруму сульфату п'ятиводного ч.д.а у двічі дистильованій воді в мірній колбі об'ємом 1 літр. Отриманий розчин стандартизували методом йодометричного титрування [3]. Робочий розчин  $10^{-5}$  моль/л купруму (II) готували розбавленням вихідного розчину двічі дистильованою водою безпосередньо перед випробуваннями.

Розчин калій гексаціаноферату (III) 0,01 моль/л виготовляли об'ємно-ваговим методом шляхом розчинення 0,3293 г калій гексаціаноферату (III) у воді в мірній колбі об'ємом 100 мл. Катіонообмінник КУ-2-8 переводили у  $\text{H}^+$ -форму згідно з методикою [7]. Для вимірюван-

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

Використовували диференціальний варіант кінетичного методу. Тангенс кута нахилу лінійних ділянок кінетичних кривих у координатах оптична густина — час характеризував швидкість індикаторної реакції ( $\text{tg } \alpha, \text{хв}^{-1}$ ).

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Оптимальні концентрації АЦЦ та калій гексаціаноферату (III) були визначені експериментально.

На рис. 1 наведені кінетичні криві залежності швидкості реакції АЦЦ з калій гексаціанофератом (III) від концентрації АЦЦ.

На рис. 2 наведені кінетичні криві залежності швидкості реакції між АЦЦ та калій гексаціанофератом (III) від концентрації калій гексаціаноферату (III).

За оптимальну концентрацію АЦЦ було обрано  $1 \cdot 10^{-2}$  моль/л і калій гексаціаноферату (III)  $2,5 \cdot 10^{-4}$  моль/л, що дозволяло здійснюва-

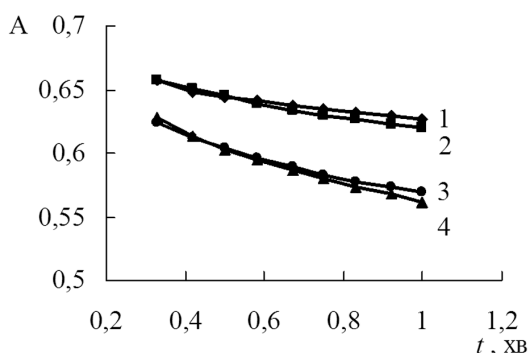


Рис. 1. Вплив концентрації АЦЦ на швидкість утворення  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  в системі АЦЦ-  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ .  $c(\text{АЦЦ})$ : 1 —  $5 \cdot 10^{-3}$  моль/л; 2 —  $7,5 \cdot 10^{-3}$  моль/л; 3 —  $1 \cdot 10^{-2}$  моль/л; 4 —  $1,25 \cdot 10^{-2}$  моль/л.  $c(\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]) = 1 \cdot 10^{-4}$  моль/л.

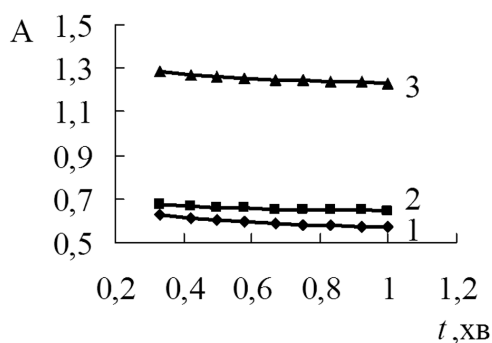


Рис. 2. Вплив концентрації  $K_3[Fe(CN)_6]$  на швидкість утворення  $K_4[Fe(CN)_6]$  в системі АЦЦ-  $K_3[Fe(CN)_6]$ : 1 –  $2,5 \cdot 10^{-4}$  моль/л; 2 –  $5 \cdot 10^{-4}$  моль/л; 3 –  $1 \cdot 10^{-3}$  моль/л.  $c(\text{АЦЦ}) = 1 \cdot 10^{-2}$  моль/л.

ти кількісні вимірювання оптичної густини в часі на лінійній ділянці кінетичної кривої.

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

На рис. 3 наведені кінетичні криві утворення калій гексаціаноферату (II) у системі АЦЦ-калій гексаціаноферат (III): з наперед очищеним від домішок купруму АЦЦ, з добавкою купруму (II) та з випробуваною субстанцією лікарського препарату АЦЦ. Добавка солей купруму 12,7 нг/мл призводила до підвищення швидкості реакції в 1,3 разу.

У спеціально здійснених дослідях з розчином субстанції АЦЦ, котрий попередньо був очищений за допомогою катіонообмінника КУ-2-8 у  $H^+$ -формі від домішок купруму, була доведена практична відсутність впливу зміни кон-

центрації АЦЦ в інтервалі ( $5 \cdot 10^{-3}$  –  $1,25 \cdot 10^{-2}$  моль/л) на умовну швидкість реакції.

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

Методика визначення домішок купруму в субстанції ацетилцистеїну. До 2,00 мл  $5 \cdot 10^{-2}$  моль/л АЦЦ додавали 0,50 мл  $1 \cdot 10^{-2}$  моль/л калій гексаціаноферату (III) і додали 0,2 моль/л ацетатним буферним розчином з  $pH=4,0$  до об'єму 10,00 мл. Температуру  $+30^\circ C$  підтримували за допомогою термостату ТС-80 та термостатованого пристрою. Аналогічні досліді виконували з домішкою 2,00 мл  $1 \cdot 10^{-5}$  моль/л розчину РСЗ купруму (II).

Швидкість некаталітичної реакції (за відсутності домішок іонів купруму у «сліпому» досліді) знаходили в досліді з розчином субстанції АЦЦ, котрий попередньо був спеціаль-

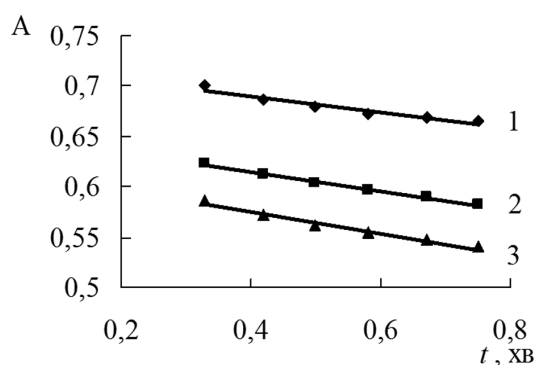


Рис. 3. Кінетична крива утворення  $K_4[Fe(CN)_6]$  у реакції АЦЦ з  $K_3[Fe(CN)_6]$  в ацетатному буфері: 1 –  $1 \cdot 10^{-2}$  моль/л АЦЦ (спеціально очищений від Си); 2 –  $1 \cdot 10^{-2}$  моль/л АЦЦ; 3 –  $1 \cdot 10^{-2}$  моль/л АЦЦ з добавкою Си (II) 12,7 нг/мл;  $pH$  4,0.

ТАБЛИЦЯ 1

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

Назва субстанції лікарської речовини	Вміст купруму, мкг/г	Метрологічні характеристики (P=0,95)
N-ацетилцистеїн	6,82	$\bar{x} = 6,56$ мкг/г
	6,06	$S = 3,5 \cdot 10^{-7}$
	6,41	$S_{\bar{x}} = 1,6 \cdot 10^{-7}$
	6,54	$\Delta \bar{x} = 4,4 \cdot 10^{-7}$
	6,95	$RSD = 5,4\%$ $\varepsilon = 6,7\%$ $\delta^* = 0,3\%$

*Примітка:* \* – вміст купруму в АЦЦ визначений за референтною методикою [2].

но очищений за допомогою катіонообмінника КУ-2-8.

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

$$X = \left[ \frac{C_1}{(tga_2 - tga_1)} \cdot (tga_1 - tga_3) \right] / m$$

де X – вміст купруму в субстанції АЦЦ, мкг/г;  $C_1$  – кінцева концентрація домішки купруму (II), мкг/л;  $tga_1$  – тангенс кута нахилу кінетичної кривої окислення субстанції АЦЦ у робочому досліді,  $xv^{-1}$ ;  $tga_2$  – тангенс кута нахилу кінетичної кривої окислення субстанції АЦЦ з домішкою купруму (II),  $xv^{-1}$ ;  $tga_3$  – тангенс кута нахилу кінетичної кривої некаталітичної реакції (у «сліпому» досліді),  $xv^{-1}$ ;  $m$  – маса наважки випробуваної субстанції лікарської речовини АЦЦ, г.

Результати кінетико-спектрофотометричного визначення вмісту домішок купруму у субстанції лікарської речовини АЦЦ наведені в табл. 1.

Вміст купруму в субстанції не перевищує допустимого значення ( $\leq 10$  ppm) – 6,56 мкг/г,  $RSD \leq 5,3\%$  ( $\delta = 0,3\%$ ). Правильність отриманих результатів ( $\delta$ ) перевіряли за даними референтного кінетико-спектрофотометричного методу кількісного визначення купруму за індикаторною реакцією окислення АЦЦ іонами феруму (III) в присутності 1,10-фенантроліну в середовищі ацетатного буферного розчину [2]. Нижня межа визначуваної концентрації купруму (II) – 5 нг/мл.

До переваг запропонованого нами методу варто віднести перш за все відсутність довготривалої мінералізації зразка та використання токсичних реактивів, а також простоту процедури здійснення аналізу та доступність використаної апаратури.

## ВИСНОВОК

Опрацьована нова кінетико-спектрофотометрична методика кількісного визначення домішок купруму в субстанції N-ацетилцистеїну, вміст якого не перевищує допустимого значення ( $\leq 10$  ppm) – 6,56 мкг/г,  $RSD \leq 5,4\%$  ( $\delta = 0,3\%$ ).

## ЛІТЕРАТУРА

- Бердникова Н.Г. Особенности применения ацетилцистеина в клинической практике / Н.Г.Бердникова, Д.В.Цыганко, Г.В.Демидова // Рус. мед. журнал. – 2010. – №3. – С. 74-75.
- Боровська І.М. Застосування кінетичних методів аналізу для визначення домішок купруму (II) в субстанції кислота аскорбінова та ацетилцистеїн / І.М.Боровська, М.Є.Блажеєвський // Тези доповідей. Річна сесія НАН України з проблеми «Аналітична хімія». 16-20 травня 2011 р., с. Гурзуф. – 2011. – С. 14.
- Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид. – Харків: PIPEP, 2001. – 556 с.
- Catalytic kinetic methods for photometric or fluorometric determination of heavy metal ions / Z.Chen, N.Zhang, L.Zhuo, B.Tang // Microchimica Acta. – 2009. – Vol. 164. – №3-4. – P. 311-336.
- Fornazari Ana L. de Toledo. Flow injection spectrophotometric system for N-acetyl-L-cysteine determination in pharmaceuticals // Acta Chim. Slov. – 2005. – Vol. 52. – P. 164-167.
- Prasad S. Development and validation of catalytic kinetic spectrophotometric method for determination of copper(II) / S.Prasad, T.Halafih // Microchim. Acta. – 2003. – Vol. 142. – №4. – P. 237-244.
- Standard 20298-74. Ion-exchange resins. Cation exchangers. Specifications. – Instead standard 13505-68 – 2005.07.01.
- Teshim N. Flow-injection determination of copper(II) based on its catalysis on the redox reaction of cysteine with iron(III) in the presence of 1,10-phenanthroline / N.Teshim, H.Katsumata, M.Kurihara [et al.] // Talanta. – 1999. – Vol. 50. – №1. – P. 41-47.

*Н.Е.Блажеевский, И.Н.Боровская. Определение примеси меди в субстанции N-ацетилцистеина кинетико-спектрофотометрическим методом. Харьков, Луганск, Украина.*

**Ключевые слова:** N-ацетилцистеин, каталитическое окисление, медь, калий гексацианоферрат (III), кинетический метод, количественное определение примеси.

Предложена кинетико-спектрофотометрическая методика количественного определения примеси меди в субстанции N-ацетилцистеин с использованием индикаторной реакции окисления N-ацетилцистеина калий гексацианоферратом (III) в среде ацетатного буферного раствора. Нижняя граница определяемых концентраций – 5 нг/мл Cu (II).

*M.Ye.Blazheevskiy, I.N.Borovskaya. The determination of copper impurities in substance of N-acetylcysteine by kinetic-spectrophotometric method. Kharkiv, Lugansk, Ukraine.*

**Key words:** N-acetylcysteine, catalytic oxidation, copper, potassium hexacyanoferrate (III), the kinetic method, quantification of impurities.

A kinetic-spectrophotometric method for the quantitative determination of copper impurities in the substance N-acetylcysteine was proposed. The reaction is based on the catalytic oxidation of N-acetylcysteine potassium hexacyanoferrate (III) in medium of acetate buffer solution. LOQ is 5 ng/ml Cu (II).

Надійшла до редакції 01.09.2011 р.