

УДК 615.9:615.07:615.212.7:54-438
 © Ковальська О.В., Маїна О.О., 2011

ЗАСТОСУВАННЯ СПЕКТРАЛЬНИХ МЕТОДІВ В АНАЛІЗІ ДОКСАЗОЗИНУ, ПРИДАТНИХ ДЛЯ ХІМІКО-ТОКСИКОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Ковальська О.В., Маїна О.О.

Національний фармацевтичний університет України, м.Харків

Вступ. Доксазозин- 1-(4-аміно-6,7-диметокси-2-хіназолініл)-4-[(1,4-бензоді-оксан-2-іл)-карбоніл] піперазина мезилат, α_1 -адреноблокатор, широко застосовується у медичній практиці при лікуванні артеріальної гіпертензії та гіпертрофії простати; при передозуванні вражає серцево-судинну систему, порушує функції нирок [5,8].

Серед методів, які використовуються при аналізі токсичних речовин у лікарських формах та біологічному матеріалі, методи УФ-спектрофотометрії та похідної спектрофотометрії характеризуються високою чутливістю та селективністю. Наведені дані у літературних джерелах свідчать про відсутність систематичних досліджень відносно вибору оптимальних умов спектральних методів аналізу доксазозину, придатних для хіміко-токсикологічних досліджень [6,7].

Метою даної роботи є вибір оптимальних умов аналізу доксазозину методом УФ-спектрофотометрії та похідної спектрофотометрії, а також проведення порівняльної оцінки спектральних методів.

Матеріали та методи дослідження. Попередньо були отримані УФ-спектри розчинів доксазозину у розчинниках, які широко застосовуються при проведенні хіміко-токсикологічних досліджень: воді, етанолі, 0,1 М розчині кислоти хлористоводневої та 0,01 М розчині натрію гідроксиду з концентрацією 5 мкг/мл при застосуванні спектрофотометру СФ-46, кювети товщиною 10 мм, у діапазоні 220-350 нм, розчини порівняння – відповідні розчинники (рис. 1,2). При проведенні аналізу реактиви та розчинники готували у відповідності з вимогами ДФУ [2].

Для аналізу методом похідної спектрофотометрії використовували другу похідну УФ-спектрів доксазозину у відповідних розчинниках ($d^2A / d\lambda^2$), яку розраховували за допомогою

поліноміальної апроксимації методом найменших квадратів за формулою: $P'' = 2A_1 - A_2 - 2A_3 - A_4 + 2A_5$, базуючись на значеннях оптичної густини розчину (A) при довжинах хвиль $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3, \lambda_4, \lambda_5$ з інтервалом 4 нм [1,3,4].

Результати дослідження та їх обговорення. Для ідентифікації доксазозину методом УФ-спектрофотометрії використовували максимуми поглинання УФ-світла (λ_{\max} , нм), питомий показник поглинання ($A_{1\text{см}}$), молярний показник

поглинання (ϵ), а також встановлювали межу виявлення досліджуваної речовини методом УФ-спектрофотометрії (мкг/мл) (табл.1). В результаті досліджень встановлено, що оптимальними умовами, які забезпечують найбільшу чутливість аналізу в УФ-області спектру є застосування етанольного розчину доксазозину, λ_{\max} 250 \pm 1 нм (рис.2, табл.1).

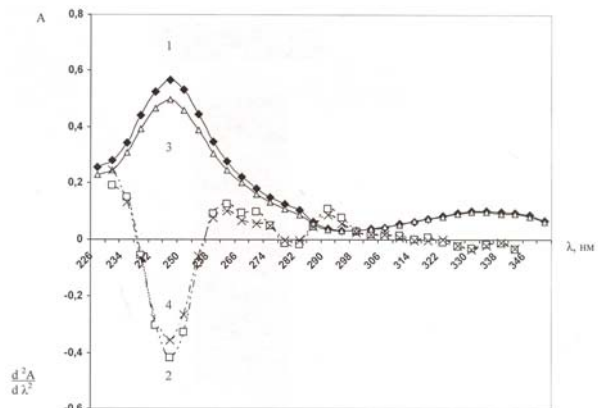


Рис.1. УФ-спектри 0,0005% розчину доксазозину у воді (1) та його друга похідна (2); у 0,1 М розчині кислоти хлористоводневої (3) та його друга похідна (4).

Таблиця 1. Ідентифікація доксазозину методом УФ-спектрофотометрії (середнє трьох вимірювань)

Розчинник	λ_{\max} , нм	$A_{1\text{см}}$	ϵ	Межа виявлення мкг/мл
Вода	246	1132	55241,6	0,88
	332	202	9857,6	
0,1 М НСІ	246	994	48507,2	1,01
	332	192	9369,6	
0,01 М NaOH	250	834	40699,2	1,2
	274	310	15128,0	
Етанол	250	1282	62561,6	0,78
	276	398	19422,4	

Таблиця 2. Ідентифікація доксазозину з використанням другої похідної УФ-спектрів (середнє трьох вимірювань)

Розчинник	λ_{\max} , нм	λ_{\min} , нм	λ (перетин осі абсцис), нм
0,1 М HCl	262, 290	246	239, 257, 280, 284
0,01 М NaOH	262, 294	250, 279	240, 260, 275, 289
Вода	262, 290	246	239, 257, 279, 285
Етанол	262, 294	250, 282	242, 259, 274, 289

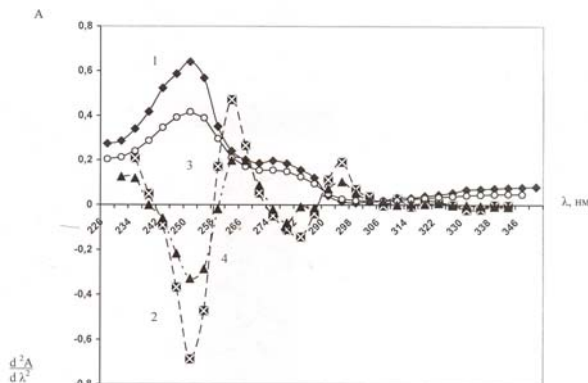


Рис.2. УФ-спектри 0,0005% розчину доксазозину в етанолі (1) та його друга похідна (2); у 0,01 М розчині натрія гідроксида (3) та його друга похідна (4).

Для виявлення доксазозину методом похідної спектрофотометрії проводили за наявності максимумів, мінімумів та точок перетину похідної з осями довжин хвиль, які більш чітко виявлялись на другій похідній від спектру порівняно з вихідним УФ-спектром (рис.1,2, табл.2).

Для кількісного визначення доксазозину використовували градувальний графік, побудований у координатах: А (оптична густина розчинів) – С, мкг/мл (концентрація етанольних розчинів досліджуваної речовини).

Методика побудови градувального графіку для визначення доксазозину методом УФ-спектрофотометрії. 10,0 мг досліджуваної речовини вносили в мірну колбу місткістю 100,0 мл, розчиняли у 96% етанолі та доводили об'єм розчину до позначки (стандартний розчин 1,

концентрація 100 мкг/мл). У мірну колбу місткістю 50,0 мл вносили із бюретки 25,0 стандартного розчину 1 і доводили об'єм розчину до позначки етанолом (стандартний розчин 2, концентрація 50 мкг/мл). У ряд мірних колб місткістю 10,0 мл вносили із бюретки 0,2, 0,4, 0,6, 0,8, 1,0, 1,2, 1,4 та 1,6 мл стандартного розчину 2 і доводили об'єми розчинів до позначки етанолом (розчини 1- 8 відповідно, концентрації 1,0-8,0 мкг/мл). Значення оптичної густини вимірювали на спектрофотометрі СФ-46, кювета товщиною 10 мм; λ_{\max} 250 ± 1 нм; розчин порівняння – етанол (рис.2).

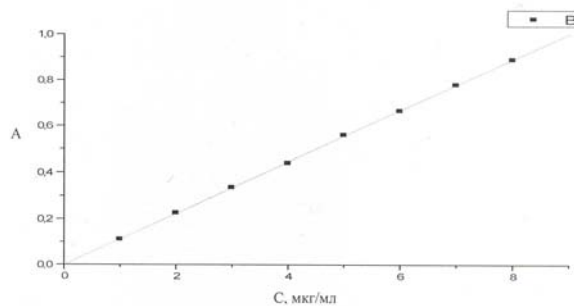


Рис.3. Градувальний графік для визначення доксазозину методом УФ-спектрофотометрії

В табл.3. наведені інтервал лінійності градувального графіку у діапазоні концентрацій (1,0 – 8,0 мкг/мл); нижня межа визначення (0,9 мкг/мл); коефіцієнти регресії рівняння градувального графіку розраховані методом найменших квадратів.

Таблиця 3. Коефіцієнти регресії градувального графіку $C = a + bA$ кількісного визначення доксазозину методом УФ-спектрофотометрії

Коефіцієнти регресії градувальних графіків		Довірчі інтервали коефіцієнтів регресії		Коефіцієнт кореляції (R)	Інтервал лінійності графіку, (нижня межа визначення, мкг/мл)
a	b	Δa	Δb		
0,001	8,988	0,021	0,038	0,999	1,0 – 8,0 мкг/мл 0,9 мкг/мл

Кількісне визначення доксазозину у модельних розчинах при використанні другої похідної УФ-спектра в етанолі виконували при довжинах хвиль 242, 247, 251, 255 та 259±1 нм методом стандарта (рис.2). Розрахунок кількості досліджуваної речовини проводили за формулою:

$$C_x = P''_x \cdot C_{ст} / P''_{ст}$$

де C_x , P''_x - концентрація та друга похідна від спектру доксазозину у модельних розчинах (мкг/мл); $C_{ст}$, $P''_{ст}$ - концентрація та друга похідна від спектру стандартного розчину доксазозину.

Дані, наведені в табл. 4, свідчать про відтворюваність результатів аналізу доксазозину методами УФ-спектрофотометрії та похідної спектрофотометрії у модельних розчинах, що підтверджується метрологічними характеристиками (відносна невизначеність не перевищує ± 2,08 % та ± 1,98% відповідно).

При порівнянні дисперсій за F-критерієм для УФ-спектрофотометрії та похідної спектрофотометрії (1,1) встановлено, що методики характеризуються однаковою відтворюваністю та придатні для хіміко-токсикологічного аналізу.

Таблиця 4. Результати кількісного визначення доксазозину у модельних розчинах методами УФ-спектрофотометрії та похідної спектрофотометрії (n = 5, P = 95%)

Метод аналізу	Внесено док-сазозину, мкг/мл	Виділено док-сазозину, %	Метрологічні характеристики					
			\bar{X}	S^2	S	$S_{\bar{x}}$	Δx	ϵ
УФ-спектрофотометрія	5,0	97,9 – 102,8	100	2,81	1,68	0,75	2,08	2,08
Похідна спектрофотометрія	5,0	97,8 – 101,8	99,8	2,55	1,6	0,71	1,97	1,98

Висновки:

1. Проведено ідентифікацію і кількісне визначення доксазозину методами УФ-спектрофотометрії та похідної спектрофотометрії при оптимальних умовах досліджень.

2. Результати порівняльної оцінки розроблених методик спектрального аналізу доксазозину підтверджують їх придатність для досліджень біологічних об'єктів.

ЛІТЕРАТУРА:

1. **Болотов В.В.** Хроматографические и спектральные методы в химико-токсикологическом анализе ксантинола / В.В.Болотов, П.А. Безуглый, Е.А. Маміна // Запорожский мед. журн.- 2007. - № 6. - С.155 - 159.
2. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр» - 1-е вид.– Харків: РІПЕГ, 2001. – 556 с.
3. Ідентифікація та кількісне визначення теофіліну методом похідної спектрофотометрії у витяжках з біологічного матеріалу / **О.О. Маміна, Н.Ю. Бевз, Г.О.Бур'ян, К.О.Бур'ян** //Україн. журн. клінічної та лабораторної медицини. – 2010. – Т.5. - № 2.– С. 95-98.
4. **Маміна О.О.** Хіміко-токсикологічний аналіз пентоксифіліну із застосуванням похідної спектрофотометрії / О.О. Маміна, В.В. Болотов // Фармац.журн.–2005.– № 2.– С. 87-91.
5. **Топчій І.І.** Роль доксазозину в лікуванні хворих

на діабетичну нефропатію з артеріальною гіпертензією/ Топчій І.І., Денисенко В.П., Несен А.О.// Врач. практ. - 2006. - № 2. - С. 45—49.

[My paper] 6. **Abdel-Aziz Y. El-Sayed.** Recent developments of derivative spectrophotometry and their analytical applications /Abdel-Aziz Y. El-Sayed, Najeb A. El-Salem //Anal Sci. – 2005.- Vol.21. - № 3. – P. 595-614.

7. **Aydodmup Zeynep.** Spectrophotometric determination of doxazosin mesylate in tablets by ion-pair and charge-transfer complexation reactions./ Aydodmup Zeynep, Barla Asli // J. of AOAC Internation.- 2009. - Vol.92. - № 1. – P.131-137.

8. **Guzic P. Adl-on** Therapy with a Nighttime Dose of doxazosin in Patients with Uncontrolled Hypertension: Effects on Autonomic Modulation of the Cardiovascular System/ Guzic P., Wykretowicz A., Krauze T.//Hypertension Research.- 2008.- Vol.31.- №3.- P. 443-453.

Ковальська О.В., Маміна О.О. Застосування спектральних методів в аналізі доксазозину, придатних для хіміко-токсикологічних досліджень // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, № 1. – С. 106-108.

Проведено ідентифікацію і кількісне визначення доксазозину методами УФ-спектрофотометрії та похідної спектрофотометрії при оптимальних умовах досліджень. Результати порівняльної оцінки розроблених методик спектрального аналізу доксазозину підтверджують їх придатність для досліджень біологічних об'єктів.

Ключові слова: доксазозин, УФ-спектрофотометрія, похідна спектрофотометрія.

Ковальская Е.В., Маміна Е.А. Использование спектральных методов в анализе доксазозина, пригодных для химико-токсикологических исследований // Украинский медицинский альманах. – 2011. – Том 14, № 1. – С. 106-108.

Проведено ідентифікацію і кількісне визначення доксазозина методами УФ-спектрофотометрії та похідної спектрофотометрії при оптимальних умовах досліджень.

Результати порівняльної оцінки розроблених методик спектрального аналізу доксазозина підтверджують їх придатність для досліджень біологічних об'єктів.

Ключевые слова: доксазозин, УФ-спектрофотометрія, похідна спектрофотометрія.

Kovalska O.V., Mamina O.O. The use of spectral methods in analysis of doxazosin, suitable for chemical-toxicological investigations // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, № 1. – С. 106-108.

The identification and quantitative determination of doxazosin by UV- spectrophotometry and derivative spectrophotometry methods by optimum conditions of investigations have been conducted.

The results of comparative estimation of elaborating methods of doxazosin's spectral analysis have been confirmed them suitable for investigations biological objects.

Key words: doxazosin, UV- spectrophotometry, derivative spectrophotometry.

Надійшла 22.10.2010 р.

Рецензент: проф. І.В.Комаревцева