

ВОЛЬАМПЕРОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ АТРОПІНУ У ВИГЛЯДІ N-ОКСИДУ, ОДЕРЖАННОГО ЗА ДОПОМОГОЮ КАЛІЙ ГІДРОГЕНПЕРОКСОМОНОСУЛЬФАТУ

Блажеєвський М.Є., Анацька Я.Ю., Кисіль О.П.*

Національний фармацевтичний університет; ДНУ НТК «Інститут монокристалів» НАН України, Харків*

Атропін—біс(1R,3r,5S)-3-[(RS)-(3-гідрокси-2-фенілпропіоніл)окси]-8-метил-8-азабіцикло[3.2.1]октану сульфат – відомий офтальмологічний засіб, котрий застосовується для діагностичного розширення зіниці під час дослідження очного дна; для досягнення паралічу акомодатії з метою визначення істинної рефракції ока, у комплексній терапії запальних захворювань, травм ока і емболій, спазмів центральної артерії сітківки.

Препарат випускають у вигляді очних крапель з вмістом атропіну сульфату 10 мг/мл; допоміжні речовини: натрій метабісульфіт, натрій хлорид, вода для ін'єкцій. Також атропіну сульфат застосовують в медичній практиці при спастичних станах внутрішніх органів, крім того атропін є специфічним антидотом при отруєннях холіномітичними сполуками і антихолінестеразними речовинами. З цією метою препарат випускається у вигляді розчину для ін'єкцій (1 мл розчину містить 1 мг атропіну); допоміжні речовини: 0,1 М хлоридна кислота, вода для ін'єкцій. [1].

Для кількісного визначення атропіну використовують методи неводного [2,3] та окисно-відновного [4] титрування, екстракційної спектрофотометрії [5], рідинної хроматографії (ВЕРХ) [6], полярографії [7], потенціометрії з використанням ІСЕ [8], хромато-маспектрометрії [9] та хемілюмінесценції [10].

Європейська Фармакопея рекомендує застосовувати для кількісного визначення атропіну сульфату в очних краплях та розчині для ін'єкцій метод ВЕРХ з використанням спектрофотометричного детектування при 257 нм [11].

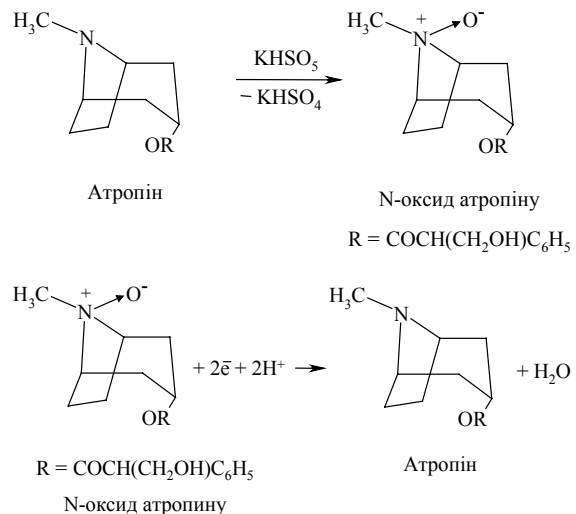
Метою теперішньої праці було опрацювання відносно дешевих та водночас простих у виконанні методик кількісного визначення атропіну сульфату в лікарських формах у присутності допоміжних речовин і супутніх домішок.

Матеріали та методи дослідження. Для кількісного визначення атропіну методом полярографії запропоновано останній попередньо N-оксидувати гідроген пероксидом з утворенням електрохімічно активного N-оксиду (АО) [12]. Проте виконання процесу N-оксидатії гідроген пероксидом через його порівняно невисоку окиснювальну здатність є досить утруднене: вимагає тривалого нагрівання при 40°C протягом 30 хв. Недоліком ві-

домого методу є також необхідність руйнування надлишку окисника після завершення реакції, оскільки потенціали півхвиль відновлення АО та гідроген пероксиду є надто близькі для диференціювання.

Застосування як окисника атропіну калій гідрогенпероксидомоносульфату (KHSO_5) дозволяє уникнути зазначених вище недоліків. Установлено, що на фоні фосфатного буферного розчину з рН 5,5 добутий N-оксид атропіну відновлюється з утворенням характерного піку при $-0,76$. Концентраційна залежність висот піків у інтервалі концентрацій $(1-10) \cdot 10^{-5}$ моль/л мала лінійний характер ($r=0,983$), що дозволяє використовувати її для кількісних визначень.

Хімізм процесів N-оксидатії, а відтак подальшого відновлення на ртутному електроді може бути представлений схемою:



Реагенти. Об'єктом випробувань був Атропіну сульфат розчин для ін'єкцій з точно відомим вмістом діючої речовини 0,99 мг/мл (ТОВ „ДЗ ДНЦЛЗ”, Харків, Україна), сер. 70608. Атропіну сульфат розчин 10,40 мг/мл (очні краплі) (ТОВ „ДЗ ДНЦЛЗ”, Харків, Україна), сер. 21008.

Як окисник використовували Оксон® – потрійну сіль кислоти Каро ($2\text{KHSO}_5 \cdot \text{KHSO}_4 \cdot \text{K}_2\text{SO}_4$). Активні діючою речовиною її є калій гідрогенпероксидомоносульфат – KHSO_5 .

Апаратура. Вольтамперометричні вимірювання здійснювали за допомогою спеціалізованого полярографа типу ПЛС, використовуючи триелектродну систему у змінно струмо-

вому варіанті з прямокутною формою поляризуючої напруги та режимом полярографування «Однокрапельний». Індикаторним електродом був стаціонарний ртутний електрод клапанного типу, електродом порівняння служив насичений калій хлоридом хлоридосрібний електрод типу ЭВЛ-1М4, а допоміжним – платиновий електрод. Усі вимірювання здійснювалися при 20°C.

Виготовлення буферних розчинів. У мірній колбі на 1 л розчиняють 34,84 г однозаміщеного калій фосфату (ч.д.а.) і за допомогою 0,1 моль/л розчину калій гідроксиду доводять рН розчину до 10,0. Об'єм у колбі доводять до позначки дистильованою водою. Для одержання буферного розчину з рН 5,5 у 1 л дистильованої води розчиняють 3,45 г K_2HPO_4 та 24,52 г $KHSO_5$. Виготовлення розчину 0,02 моль/л $KHSO_5$. Наважку порошку Оксону ($2KHSO_5 \cdot K_2SO_4 \cdot KHSO_4$), яка містить 0,615 г основної речовини, кількісно переносять в колбу на 100 мл, розчиняють у 70 мл дистильованої води при перемішуванні і доводять об'єм дистильованою водою до позначки.

Виготовлення розчину робочого стандартного зразка (РСЗ) атропіну сульфату, 1,0 мг/мл ($2,88 \cdot 10^{-3}$ моль/л). Наважку субстанції атропіну сульфату, яка містить 0,1000 г основної речовини, розчиняють у мірній колбі на 100 мл у 70 мл дистильованої води, доводять об'єм до позначки при 20°C і ретельно перемішують.

Побудова градувального графіку. У п'ять мірних колб на 25 мл послідовно вносять 0,40; 1,20; 2,00; 2,80; 4,00 мл розчину РСЗ атропіну сульфату, додають по 20 мл фосфатного буферного розчину з рН 10,0, по 0,30 мл $2 \cdot 10^{-2}$ моль/л $KHSO_5$ при перемішуванні, витримують суміш 25–30 хв та доводять об'єм дистильованою водою до позначки при +20°C. З кожної колби відбирають по 5,00 мл одержаної суміші і переносять у мірні колби на 20 мл, додають по 2 мл 0,1 моль/л розчину сульфатної кислоти, об'єм доводять до позначки 0,2 моль/л фосфатним буферним розчином з рН

5,5 і ретельно перемішують.

Полярограми реєструють на ділянці потенціалів від – 0,4 до – 1,4 В. На полярограмах вимірюють висоти піків стандартів. За усередненими результатами будують графік залежності висоти піку I , у мкА, та кінцевою концентрацією атропіну сульфату c , у моль/л. Рівняння градувального графіку має вигляд: $I = (0,078 \pm 0,001) \cdot 10^5 \cdot c$ ($r=0,983$).

Методика кількісного визначення атропіну сульфату в 0,1% розчині для ін'єкцій. У мірну колбу на 25 мл вносять 2,00 мл випробуваного 0,1% розчину для ін'єкцій, додають по 20 мл фосфатного буферного розчину з рН 10,0, 0,30 мл $2 \cdot 10^{-2}$ моль/л $KHSO_5$ при перемішуванні, витримують суміш 25–30 хв та доводять об'єм дистильованою водою до позначки при +20°C. З колби відбирають 5,00 мл одержаної суміші і переносять у мірну колбу на 20 мл, додають 2 мл 0,1 моль/л розчину сульфатної кислоти і об'єм доводять до позначки 0,2 моль/л фосфатним буферним розчином з рН 5,5 і ретельно перемішують. Полярограму реєструють на ділянці потенціалів від – 0,4 до – 1,4 В. На полярограмі вимірюють висоту піку ($E_{1/2} = -0,76$ В, Нас.ХЕ).

Методика кількісного визначення атропіну сульфату в очних краплях 10 мг/мл. У мірну колбу на 25 мл вносять 2,50 мл випробуваного розчину очних крапель, доводять дистильованою водою до позначки і ретельно перемішують. Відбирають за допомогою піпетки 2,00 мл і вносять у мірну колбу на 20 мл, додають по 20 мл фосфатного буферного розчину з рН 10,0, 0,30 мл $2 \cdot 10^{-2}$ моль/л калій гідрогенпероксомоноссульфату при перемішуванні, витримують суміш 25–30 хв та доводять об'єм дистильованою водою до позначки при +20°C. З колби відбирають 5,00 мл одержаної суміші і переносять у мірну колбу на 20 мл, додають 2 мл 0,1 моль/л розчину сульфатної кислоти і об'єм доводять до позначки 0,2 моль/л фосфатним буферним розчином з рН 5,5 і ретельно перемішують.

Полярограму реєструють на ділянці потенціалів від – 0,4 до – 1,4 В. На полярограмі вимірюють висоту піку.

Таблиця. Результати кількісного визначення атропіну сульфату в 0,1% розчині для ін'єкцій та 1% очних краплях ($P = 0,95$).

Взято препарату для аналізу	Знайдений вміст, мг/мл	Метрологічні характеристики
Атропіну сульфат розчин для ін'єкцій 0,99 мг/мл (ТОВ „ДЗ ДНЦЛЗ”, Харків, Україна), сер. 70608 (0,90...1,10)	0,96	$x = 0,99$
	0,95	$S = 4,23 \cdot 10^{-2}$
	1,04	$S_{-} = 1,60 \cdot 10^{-2}$
	1,05	$\Delta \bar{x} = 3,92 \cdot 10^{-2}$
	0,97	$RSD = 4,26 \%$
	0,96	$\varepsilon = 3,95 \%$
	1,02	$-\delta^* = 0$
	10,63	$x = 10,49$
	10,65	$S_{-} = 0,14$
	10,55	$\Delta x = 0,13$
Атропіну сульфат розчин 10,40 мг/мл (очні краплі) (ТОВ „ДЗ ДНЦЛЗ”, Харків, Україна), сер. 21008 (10,00...11,00)	10,42	$RSD = 1,38 \%$
	10,54	$\varepsilon = 1,28 \%$
	10,32	$\delta^* = +0,87 \%$
	10,31	

Примітки: *Розрахунок здійснений за даними середнього вмісту, знайденого за допомогою референтного методу (Фармакопεί Великобританії 2009)

Результати досліджень та їх обговорення. Вміст атропіну сульфату в лікарських формах X, у мг/мл, знаходять методом стандарту з розчином РСЗ 1,0 мг/мл за формулою:

$$X = \frac{I_x \times C_{cm}}{I_{cm}}, \quad (1)$$

де c_{cm} – вміст атропіну сульфату у розчині РСЗ, 1,0 мг/мл;

I_x – сила струму у робочому досліді, мкА;

I_{cm} – сила струму у досліді з розчином РСЗ, мкА.

Результати кількісного визначення атропіну сульфату в 0,1% розчині для ін'єкцій та 1% очних краплях наведені у табл.

Висновки: Опрацьовані методики та показана можливість кількісного визначення атропіну сульфату в лікарських формах методом вольтамперометрії у вигляді N-оксиду, попередньо одержанного за допомогою калій гідрогенпероксомоносульфату.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Компендиум. Лекарственные препараты / Под ред. чл.-кор. АМН Украины проф. В.Н. Коваленко и проф. А.П. Викторова. – К.: Морион, 2008. – 1911 с.
 2. Туркевич М. Фармацевтична хімія (стероїдні гормони, їх синтетичні замінники і гетероциклічні сполуки як лікарські засоби). Підручник / М. Туркевич, О. Владзімірська, Р. Лесик. Вінниця: НОВА КНИГА, 2003. – 464 с.
 3. Безуглий П.А. От субстанции к лекарству: Учеб. Пособие./П.А. Безуглый, В.В. Болотов, И.С. Гриценко и др.; Под ред. В.П. Черных. – Харьков: Изд-во НФаУ: Золотые страницы, 2005. – 1244 с.
 4. Dubey B.K. Assay of some ophthalmic drugs with ammonium metavanadate reagent/ B.K. Dubey., U. Renu, A.K. Tiwari, I.C. Shukla// J. Indian Chem. Soc. – 2004. – Vol. 81, № 6. – P. 511-514.
 5. Маркова О. М. Использование физико-химических методов в анализе лекарственных средств растительного происхождения/ О.М. Маркова, В.А. Карпенко, А.С. Саушкина, Т.Т.Лихота Т. Т.// Вестн. Воронеж. гос. ун-та. Химия. Биол. Фармация. – 2003. – № 1. – С. 99-100.
 6. Rbeida O. Integrated on-line sample clean-up using cation exchange restricted access sorbent for the LC determination of atropine in human plasma coupled to UV detection/ O. Rbeida, B. Christiaens, Ph. Hubert, D. Lubda, K.-S. Boos, J. Crommen, P. Chiap// J. Pharm. and Biomed. Anal. – 2005. – Vol. 36, № 5. – P. 947-954.
 7. Мискиджян С.П., Кравченко Л.П. Полярография лекарственных препаратов. – К.: Виш. шк. – 1976. – С. 232.
 8. Bibire N. Membrane-selective electrode for atropine assay/ N. Bibire, G. Tântaru, V. Dorneanu, M. Stan, M. Apostu// Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat. Iasi. – 2003. – Vol. 107, № 1. – P. 218-222.
 9. Chen H. Sensitive and specific liquid chromatographic-tandem mass spectrometric assay for atropine and its eleven metabolites in rat urine/ H.Chen, Y. Chen, P. Du, F. Han, H. Wang, H. Zhang // J. Pharm. and Biomed. Anal. – 2006. – Vol. 40, № 1. – P. 142-150.
 10. Sun S. Flow-injection post chemiluminescence determination of atropine sulfate/ S. Sun, J. Lu // Anal. chim. acta. – 2006. – Vol. 580, № 1. –P. 9-13.
 11. European pharmacopoeia. – 6th-ed. Council of Europe. – Strasbourg:EDQM, 2007. – 2199 p.
 12. Hoffmann H. Polarographische Bestimmung tertiärer Amine über ihre Aminoxide./ H. Hoffmann// Arch. Pharm. und Ber. Dtsch Pharmar. Ges. – 1971. – 304, №8. – P. 614-623
- Блажеєвський М.С., Анацька Я.Ю., Кисіль О.П.** Вольтамперометричне визначення атропіну у вигляді N-оксиду, одержанного за допомогою калій гідрогенпероксомоносульфату // Український медичний альманах. – 2012. – Том 15, № 1. – С. 26-28.
- Опрацьовані методики та показана можливість кількісного визначення атропіну сульфату в лікарських формах методом вольтамперометрії у вигляді N-оксиду, попередньо одержанного за допомогою калій гідрогенпероксомоносульфату.
- Ключові слова:** вольтамперометрія, визначення атропіну сульфату, N-оксид атропіну, калій гідрогенпероксомоносульфат, лікарські засоби.
- Блажеевский Н.Е., Анацкая Я.Ю., Кисиль Е.П.** Вольтамперометрическое определение атропина в виде N-оксида, полученного с помощью гидропероксомоносульфата калия // Український медичний альманах. – 2012. – Том 15, № 1. – С. 26-28.
- Разработаны методики и показана возможность количественного определения атропина сульфата в лекарственных формах методом вольтамперометрии в виде N-оксида, предварительно полученного с помощью гидропероксомоносульфата калия.
- Ключевые слова:** вольтамперометрия, определение атропина сульфата, N-оксид атропина, гидропероксомоносульфат калия, лекарственные средства.
- Blazheevskiy M.Ye., Anatskaya Ya. Yu., Kisil Ye. P.** Volamperometric determination of atropine in the form of N-oxide, obtained by potassium hydrogenperoxomonosulphate // Український медичний альманах. – 2012. – Том 15, № 1. – С. 26-28.
- Methods have been developed and demonstrated the possibility of quantitative determination of atropine sulfate in dosage forms by voltammetry in the form of N-oxide, previously obtained by potassium hydrogenperoxomonosulphate.
- Key words:** voltammetry, determination of atropine sulfate, N-oxide atropin, potassium hydrogenperoxomonosulphate, drugs.

Надійшла 13.11.2011 р.

Рецензент: проф. Л.В.Савченкова