

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© Чекулаева Г.Ю., Громова З.Ф., 2014
УДК 615.1:547.562.1

**МЕТОД КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ НЕКОТОРЫХ
ПРОИЗВОДНЫХ ПАРА-АМИНОФЕНОЛА В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОМ
И ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОМ ИССЛЕДОВАНИЯХ**

Г.Ю. Чекулаева, З.Ф. Громова

Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, г. Рязань

В статье представлены материалы по разработке методики анализа парацетамола спектрометрическим методом в фармацевтической субстанции, лекарственных формах и биологических жидкостях.

Ключевые слова: парацетамол, методы анализа, спектрофотометрия в видимой области, экспресс-анализ, химико-токсикологический анализ биологической жидкости.

Фармацевтический рынок средств, применяемых для снятия симптомов простуды и гриппа представлен многочисленными препаратами, одним из компонентов которых является парацетамол. Парацетамол входит в состав лекарственных препаратов, выпускаемых в разнообразных формах: порошки («Колдрекс», «Фервекс» для детей и взрослых, «Терафлю» от гриппа и простуды), таблетки («Панадол», «Пенталгин Плюс», «Ринза» и др.), свечи («Цефекон» для детей, «Эффералган» и др.), капсулы («Солпадеин»), суспензии («Детский Панадол»), кроме того в аптеках в свободной продаже имеется парацетамол в виде таблеток [4]. Высокий спрос на данную группу средств объясняется их эффективностью при снятии жара и боли, а также тем, что указанные препараты, имея широкий спектр показаний, являются средствами безрецептурного отпуска [3]. По статистическим данным объем продаж только "Колдрекса" в 2012 году составил 1,47 млрд. рублей, «Фервекса» – 1,18 млрд. рублей, «Терафлю» – 3,8 млрд. рублей [6].

Парацетамол оказывает жаропонижающее и болеутоляющее действие. Препарат применяют самостоятельно или в сочетании с другими средствами при невралгиях, головной боли, простудных забо-

леваниях. Однако при передозировке возможно поражение печени, а иногда и почек. К приему этого препарата следует с осторожностью относиться пациентам с выраженным астматическим компонентом.

Для установления факта отравления и правильного выбора метода детоксикации необходима разработка экспресс-методики количественного определения парацетамола в биологических жидкостях, в частности в моче.

Для количественного определения парацетамола фармакопейная статья ГФ XII издания рекомендуют метод нитритометрии с внешним индикатором (йодкрахмальная бумага) после кислотного гидролиза субстанции в течение одного часа, что связано с большими временными затратами [2].

Таким образом, актуальной является разработка экспрессной методики количественного определения данного лекарственного вещества, обладающей высокой чувствительностью. Она позволит провести количественное определение парацетамола не только в лекарственных формах, но и в биологических жидкостях организма человека (кровь, моча), что необходимо при химико-токсикологических исследованиях.

Целью работы является разработка унифицированной валидизированной методики количественного определения парацетамола в фармацевтической субстанции, лекарственных формах и биологических объектах.

Наличие фенольного гидроксила в структуре парацетамола указывает на возможность последнего вступать в реакции азосочетания с солями диазония с образованием азокрасителя, что и было использовано нами в настоящем исследовании.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. Установить количественное соотношение реагирующих веществ (парацетамола и диазореактива);
2. Осуществить выбор рабочей длины волны;
3. Установить время устойчивости окраски азокрасителя;
4. Определить чувствительность реакции с целью возможности использования ее при химико-токсикологических исследованиях;
5. Определить диапазон подчинения продукта реакции основному закону светопоглощения;
6. Провести количественное определение парацетамола в фармацевтической субстанции, лекарственных формах и биологических жидкостях.

В основе спектрофотометрического метода количественного определения в видимой области использована реакция спиртового раствора парацетамола с диазотированной сульфаниловой кислотой в кислой среде.

Материалы и методы

Все исследования проводили на фотометре КФК-3 в кюветках с толщиной оптического слоя 10мм при комнатной температуре.

В анализе использовали рабочий стандартный образец (РСО) парацетамола (ФС 42-0268-07).

Приготовление рабочего стандартного раствора: 0,0200 г (точная навеска) субстанции парацетамола помещали в мерную колбу на 10 мл, растворяли в 5 мл 95%-

ного спирта этилового, доводили спиртом до метки, хорошо перемешивали.

Статистическую обработку экспериментальных данных исследований ($p = 95\%$) проводили с помощью программ StatSoft Statistica 6,0 Microsoft Excel с вычислением граничных значений доверительного интервала среднего результата и определением ошибки единичного определения [1].

Результаты и их обсуждение

Установлено, что взаимодействие парацетамола с диазотированной сульфаниловой кислотой происходит в стехиометрических соотношениях 1:1.

Для выбора рабочей длины волны готовили спиртовой раствор парацетамола с концентрацией 0,0002г/мл. По истечении 5 минут измеряли оптическую плотность окрашенного продукта реакции при разных длинах волн, относящихся к видимой области спектра (380нм -780нм).

Спектр поглощения спиртового раствора парацетамола в видимой области имеет максимум при длине волны 565 нм. При той же длине волны проводили измерения оптической плотности испытуемых растворов и растворов сравнения.

Результаты определения устойчивости окраски во времени представлены в таблице 1. Из данных таблицы видно, что в течение 30 минут окраска оставалась устойчивой.

Для выявления линейной зависимости между концентрацией фармацевтической субстанции парацетамола и оптической плотностью продукта его реакции с диазореактивом готовили ряд разведений в широком диапазоне концентраций – от 0,0001 г/мл до 0,004 г/мл. Проведенные исследования позволяют сделать заключение, что в выбранном интервале концентраций парацетамола наблюдается подчинение закону Бугера-Ламберта-Бера.

На основании полученных данных была разработана следующая методика анализа парацетамола.

Методика анализа: 0,2000 г (точная навеска) парацетамола растворяют в 25 мл спирта этилового в мерной колбе вместимостью 100 мл, перемешивают и доводят спиртом объем раствора до метки (раствор А).

Таблица 1

Зависимость оптической плотности азокрасителя от времени

Объем раствора парацетамола и его концентрация, г/мл	Объем добавляемых реактивов, мл	Длина волны, нм	Оптическая плотность					
			5 мин	10 мин	15 мин	20 мин	25 мин	30 мин
0,1 мл; 0,0002 г/мл	2 мл кислоты сульфаниловой, 0,5 мл раствора NaNO ₂ , 4 мл раствора Na ₂ CO ₃ , 1 мл раствора NaOH, спирта до 10 мл	565	0,314	0,316	0,314	0,314	0,314	0,314

В мерную колбу на 10 мл вносят 2 мл 0,4%-ного раствора кислоты сульфаниловой, 0,5 мл свежеприготовленного раствора натрия нитрита, 0,1 мл спиртового раствора парацетамола (раствора А), 4 мл 20%-ного раствора натрия карбоната, 1 мл 20%-ного раствора натрия гидроксида и воды очищенной до 10 мл. После перемешивания в течение 10-15 секунд измеряют оптическую плотность испытуемого раствора и стандартного раствора парацетамола на спектрофотометре в максимуме поглощения при 565 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Раствор сравнения – вода очищенная.

Относительная погрешность определения находилась в пределах точности спектрофотометрического анализа.

Минимальная концентрация парацетамола, определяемая по этой методике, составляет 0,0001 г/мл, что свидетельствует о возможности ее применения не только для анализа фармацевтических препаратов, но и для определения парацетамола в биологических объектах.

Следующим этапом исследования явилось определение содержания парацетамола в фармацевтической субстанции и лекарственной форме. Определение проводили в сравнительном аспекте с раствором стандартного образца, поскольку данный метод определения является более точным, надежным и отвечает требованиям Государственной Фармакопеи XII издания. Полученные результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2

Результаты определения парацетамола в фармацевтической субстанции и лекарственной форме

№ опыта	Объект исследования	Найдено	Нормы допустимых отклонений	Метрологическая характеристика
1. 2. 3. 4. 5.	Фармацевтическая субстанция парацетамола	99,98 100,20 99,96 99,98 99,98	Не менее 99,9%, не более 101,0%	X _{ср} = 100,02 S= 0,1009 Sx _{ср} = 0,4512 ε= 0, 0125 ε _a = 100,02 ± 1,25
1. 2. 3. 4. 5.	Таблетки парацетамола по 0,5 г	0,494 0,494 0,497 0,494 0,494	[0,470÷ 0,530]	X _{ср} = 0,495 S= 0,5530 Sx _{ср} = 0,2473 ε= 1,3868 ε _a = 0,495 ± 0,19

Как следует из приведенных в таблице данных, полученные результаты укладываются в нормы допустимых отклонений.

Валидация методики показала, что данная методика не отягощена грубой и системной ошибкой, является правильной и позволяет получить воспроизводимые результаты.

Разработанная методика была применена в химико-токсикологическом исследовании парацетамола в моче в качестве биологической жидкости [5].

Были изучены условия экстракции парацетамола из водных растворов с целью их использования при разработке оптимальной методики изолирования определяемого вещества из мочи. Установлено, что максимальное количество парацетамола экстрагируется эфиром при $pH=7,5$ в присутствии натрия хлорида в качестве электролита. Оптимальной оказалась двукратная экстракция по 5 минут.

Для приготовления модельной смеси использовали образец мочи, полученный от здорового добровольца. При этом в течении месяца до отбора проб человек не принимал лекарств. Модельные смеси мочи готовили путем добавления к ней определенного объема стандартного спиртового раствора парацетамола с концентрацией 0,0002 г/мл. Приготовленные смеси выдерживали в течении 24 часов при комнатной температуре. Экстракцию парацетамола проводили с соблюдением условий, разработанных для водных растворов определяемого вещества. Сухой остаток, полученный после испарения эфира, исследовали спектрофотометрическим методом в видимой области по методике, разработанной для фармацевтической субстанции исследуемого лекарственного средства.

Результаты исследования представлены в таблице 3.

Таблица 3

Результаты количественного определения парацетамола в моче

Внесено парацетамола мкг/10 мл мочи	Найдено		Метрологическая характеристика
	мкг	%	
40	29,36	73,40	$X_{ср} = 76,63\%$
40	32,40	81,02	$S = 3,27$
40	29,80	74,50	$S_{хср} = 1,46$
40	30,04	75,11	$\epsilon = 5,29$
40	31,65	79,12	$\epsilon_{\text{д}} = 76,63 \pm 5,29$

Выводы

Разработана методика количественного определения парацетамола в фармацевтической субстанции и лекарственной форме спектрофотометрическим методом в видимой области спектра. Показана возможность использования данной методики в дальнейших химико-токсикологических исследованиях.

Литература

1. Государственная фармакопея. – 11 изд. – М.: Медицина, 1987. – Вып. 1. – 334 с.
2. Государственная фармакопея Российской Федерации. – 12-е изд. – М.: Научный центр экспертизы средств медицинского применения, 2008. – 704 с.
3. Люлина С.А. Основные принципы формирования аптечного ассортимента / С.А. Люлина // Российские аптеки. – 2008. – №20. – С. 11-12.
4. Машковский М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковский. – 15-е изд., перераб., исправл. и доп. – М.: РИА «Новая волна», 2007. – 1206 с.
5. Основы аналитической токсикологии / Р. Дж. Фланаган [и др.]. – М.: Медицина, 1997. – С. 363.
6. URL: <http://slon/biz/1037105> ammo 1. livejournal.com.

**THE METHOD OF QUANTITATIVE EVALUATION OF SOME
PARA-AMINOPHENOL DERIVATIVES IN PHARMACEUTICAL
AND CHEMICO-TOXICOLOGICAL INVESTIGATIONS**

G.Yu. Chekulaeva, Z.F. Gromova

The materials on the development of analytical methods for paracetamol using a spectrometric technique in the pharmaceutical substance, medicinal forms and biological liquids are presented in the paper.

Keywords: *paracetamol, analytical methods, spectrophotometry in the visible region, express analysis, chemico-toxicological analysis of biological liquid.*

Чекулаева Г.Ю. – к.б.н., доц., зав. кафедрой фармацевтической и токсикологической химии ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России.

Тел.: 8(4912)25-69-95.

E-mail: rzgmu@rzgmu.ru.

Громова З.Ф. – канд. фарм. наук, доц. кафедры фармацевтической и токсикологической химии ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России.

Тел.: 8(4912)25-69-95.

E-mail: rzgmu@rzgmu.ru.