
ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 615.917:615.071:615.217.34

ЭКСТРАКЦИОННО-ФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПИРИДОСТИГМИНА БРОМИДА В ВИДЕ МЕТАБОЛИТА В МОДЕЛЬНЫХ СМЕСЯХ

М. И. Алехина¹, Т. Н. Никитина¹, В. К. Шорманов²

¹Воронежский государственный медицинский университет им. Н. Н. Бурденко,

²Курский государственный медицинский университет

Разработана методика экстракционно-фотометрического определения метаболита пиридостигмина бромид в модельных смесях в виде ионного ассоциата с красителем тропеолин 00. Методика позволяет определять 1-метил-3-пиридон в биологических жидкостях в присутствии соэкстрактивных веществ.

Ключевые слова: экстракционно-фотометрическое определение, пиридостигмина бромид, 1-метил-3-пиридон, тропеолин 00, судебно-медицинская экспертиза.

DOI 10.19163/1994-9480-2017-3(63)-23-25

EXTRACTION-PHOTOMETRIC DETERMINATION OF PYRIDOSTIGMINE BROMIDE AS A METABOLITE IN MODEL MIXTURES

M. I. Aloykhina¹, T. N. Nikitina¹, V. K. Schormanov²

¹Voronezh State Medical University them. N.N. Burdenko,

²Kursk State Medical University

A procedure of extraction and photometric determination of a pyridostigmine bromide metabolite represented as ion pair of tropeoline 00 in model mixtures has been developed. The method makes it possible to identify 1-methyl-3-pyridone in model mixtures with ballast substances.

Key words: extraction and photometric determination, pyridostigmine bromide, 1-methyl-3-pyridone, tropeoline 00, forensic medical examination.

Экстракционно-фотометрическое определение лекарственных веществ, содержащих третичный атом азота, достаточно широко используется в фармацевтическом анализе. Разработаны методики определения действующих веществ как в лекарственных формах, так и биологических жидкостях, что позволяет использовать их в судебно-медицинской экспертизе, в том числе при несмертельных отравлениях, где высоки требования к экспрессности исследования. Метод имеет преимущество в тех случаях, когда непосредственное определение вещества невозможно, а выделение из сложных смесей затруднено тем, что вещества имеют близкие физико-химические свойства [1, 2, 4, 5].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Разработка методики количественного определения экстракционно-фотометрическим методом азотсодержащего лекарственного средства в биологических жидкостях в виде метаболита.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования являлся 1-метил-3-пиридон, основной продукт метаболизма пиридостигмина бромид [3], полученный в результате щелочного гидролиза препарата.

В предварительных испытаниях было установлено, что 1-метил-3-пиридон хорошо растворим в воде, этиловом спирте, максимум поглощения в водно-спиртовой среде при pH = 3 регистрировался при длине волны (290 ± 2) нм [6].

Раствор бромфенолового синего водорастворимого и раствор тропеолина 00 готовили путем растворения 0,01 г красителя в водно-спиртовой среде, приготовленной в соотношении 1:1, в мерной колбе вместимостью 100 мл с последующим доведением объема той же смесью растворителей до метки. pH буферных растворов контролировали с помощью иономеров лабораторного И-160МИ. Спектры поглощения и оптическую плотность измеряли на спектрофотометре Shimadzu UV-1800 (Япония) в кюветках

кварцевого стекла толщиной слоя 10 мм. В качестве растворителя ионных ассоциатов выбрали хлороформ, который обладает наибольшей экстрагирующей способностью.

Аликвоты раствора 1-метил-3-пиридона концентрацией $5,06 \cdot 10^{-5}$ г/мл помещали в мерные колбы вместимостью 50 мл, в каждую добавляли около 20 мл водно-спиртовой смеси, буферный раствор, раствор красителя и хлороформ, интенсивно встряхивали в течение 5 мин и доводили водно-спиртовой смесью до метки, после чего снова встряхивали в течение 3 мин. По истечении 10–20 мин наблюдали полное разделение водной и органической фаз, отделяли хлороформный слой и измеряли оптическую плотность исследуемого раствора в интервале длин волн от 250 до 700 нм. В качестве раствора сравнения использовали хлороформ.

Для приготовления модельных смесей с биологическими жидкостями использовали мочу. К аликвоте биологической жидкости добавляли навеску препарата (120 мг), настаивали в течение 45 мин, затем к смеси добавляли 1,0 г NaF и настаивали еще в течение 15 мин. По истечении времени в стакан прибавляли 30 мл этилового спирта 95%-го и настаивали в темном месте 30 мин. Извлечение центрифугировали и сливали в фарфоровую чашку. Затем центрифугат выпаривали досуха на водяной бане. Сухой остаток гидролизировали 30%-м раствором NaOH на водяной бане в течение 30–40 мин, затем снова выпаривали досуха. После охлаждения остаток смывали смесью спирта этилового 96%-го и воды (1:1), центрифугировали, фильтровали через бумажный фильтр «белая лента» в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводили до метки смесью спирта этилового 96% и воды (1:1), создавали pH = 2,7 одномолярным раствором H_2SO_4 . 5 мл полученного раствора переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводили до метки смесью спирта этилового 96%-го и воды (1:1), поддерживая значение pH = 2,7.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Образование ионных ассоциатов 1-метил-3-пиридона и выбранных красителей происходило в кислой среде (pH = 2,7 или pH = 4,0) (рис. 1.), причем при pH = 2,7 степень извлечения комплекса в органический слой была максимальной. При pH = 8 и pH = 11 образование ионных ассоциатов не происходило, что подтверждалось отсутствием максимумов поглощения на спектрах хлороформных экстрактов и окраской растворов.

Максимумы поглощения комплекса 1-метил-3-пиридона и бромфенолового синего регистрировали при $\lambda = 283$ нм и $\lambda = 425$ нм. Максимум поглощения комплекса с тропеолином 00 регистрировали при длине волны 420 нм (рис. 2.).

Оптимальное соотношение водной и органической фаз составило 2:1. Изменение времени экстракции от 10 до 40 минут и температуры в интервале 15–25 °С не влияло на полноту экстракции образующегося комплексного соединения красителя с метаболитом.

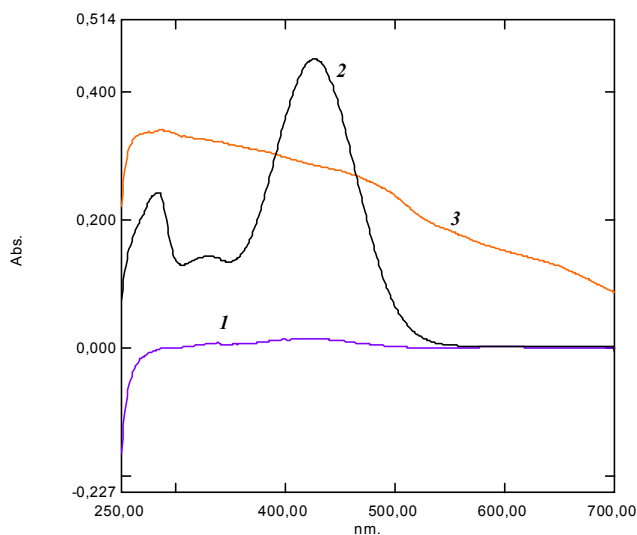


Рис. 1. Спектры хлороформных извлечений из растворов при pH = 2,7: 1 – раствор бромфенолового синего; 2 – ионный ассоциат 1-метил-3-пиридона с бромфеноловым синим; 3 – раствор 1-метил-3-пиридона

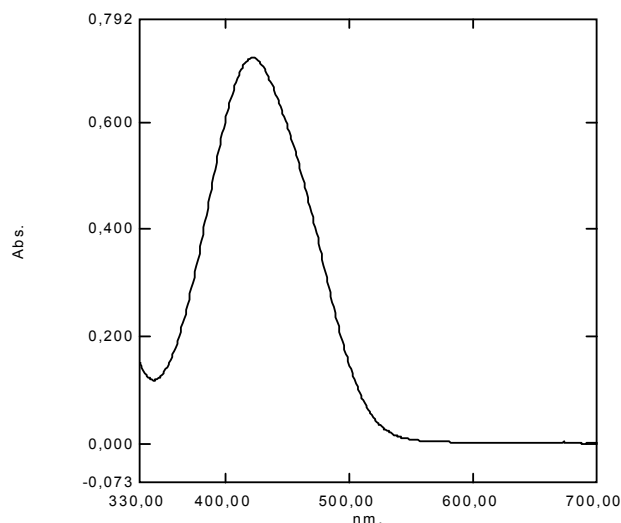


Рис. 2. Спектр хлороформного извлечения из раствора ионного ассоциата 1-метил-3-пиридона с тропеолином 00 при pH = 2,7

Установлено, что в пределах концентраций метаболита $0,01012 \cdot 10^{-5}$ – $0,1518 \cdot 10^{-5}$ г/мл оптическая плотность хлороформных экстрактов ионных ассоциатов метаболита и красителя тропеолин 00 подчиняется закону Бугера-Ламберта-Бера (рис. 3). Растворы ионных ассоциатов с красителем бромфеноловым синим закону Бугера-Ламберта-Бера не подчинялись. Вероятно, это связано с тем, что в выбранных условиях эксперимента 1-метил-3-пиридон с бромфеноловым синим образует два вида комплексных соединений различного состава, однако это предположение требует дополнительных исследований. Таким образом, для количественного определения метаболита пиридостигмина бромид экстракционно-фотометрическим методом можно использовать краситель тропеолин 00.

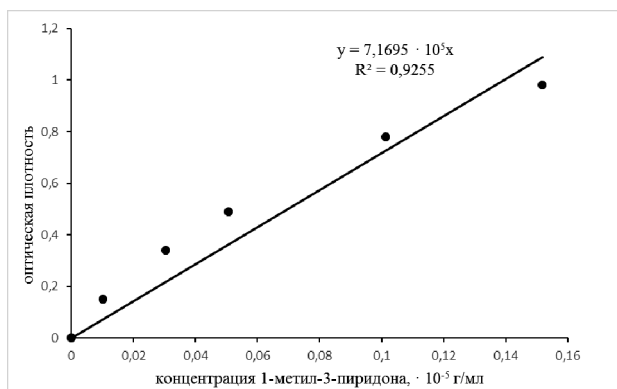


Рис. 3. Градуировочный график для количественного определения 1-метил-3-пиридона в виде ионных ассоциатов с красителем тропеолин 00

При экстракционно-фотометрическом определении метаболита пиридоستيigma бромидом с красителем тропеолин 00 методом введено-найденно в модельных смесях были получены следующие результаты (табл.).

Количественное определение пиридоستيigma бромидом в виде метаболита в модельных смесях

№ п/п	Найдено			Метрологические характеристики
	1-метил-3-пиридона, г	пиридо-стиigma бромидом, г	пиридо-стиigma бромидом, %	
1	$1,82 \cdot 10^{-2}$	$4,32 \cdot 10^{-2}$	85,45	$\bar{x} = 81,50 \%$ $S = 3,981$ $S_{\bar{x}} = 1,780$ $\Delta\bar{x} = 4,948$
2	$1,78 \cdot 10^{-2}$	$4,24 \cdot 10^{-2}$	83,79	
3	$1,60 \cdot 10^{-2}$	$3,79 \cdot 10^{-2}$	74,98	
4	$1,74 \cdot 10^{-2}$	$4,13 \cdot 10^{-2}$	81,62	
5	$1,74 \cdot 10^{-2}$	$4,13 \cdot 10^{-2}$	81,62	

Разработанный метод позволяет определить содержание метаболита азотсодержащего лекарственного средства в модельных смесях в присутствии соэкстрактивных веществ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработана методика экстракционно-фотометрического определения пиридоستيigma бромидом в виде метаболита (1-метил-3-пиридона) в модельных смесях с красителем тропеолин 00. Метод характеризуется высокой чувствительностью, простотой выполнения, экспрессностью. Относительная ошибка определения, вычисленная с доверительной вероятностью 0,95 на превышает 5 %.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беликов В.Г. Анализ лекарственных веществ фотометрическими методами. Опыт работы отечественных специалистов / В.Г. Беликов // Российский химический журнал (Журнал Российского химического общества им. Д. И. Менделеева). – 2002. – Т. XLVI, № 4. – С. 52–56.

2. Береговых Г.В. Исследование клофелина в химико-токсикологическом анализе экстракционно-спектрофотометрическим методом / Г.В. Береговых, Г.В. Вавин, Н.Б. Мартыненко // Актуальные вопросы клинической и экспериментальной медицины, медицинской науки и образования. Медицина в Кузбассе. – 2005. – № 4. – С. 24–25.

3. Дурицын Е.П., Илюшина Т.Н., Алехина М.И., Ветрова Е.Н. Разработка методики йодометрического определения Калимина 60 Н // Матер. науч.-практич. конф. с международным участием, посвященной 45-летию фармацевтического факультета КГМУ. – Курск: ГБОУ ВПО КГМУ Минздравсоцразвития России, 2011. – С. 271–273.

4. Куликов С.И. Спектрофотометрическое определение прозерина в лекарственных формах / С.И. Куликов, Т.Н. Боковикова, Л.К. Карпова, В.Е. Чичиро // Фармация. – 1987. – № 3. – С. 43–45.

5. Лукьянчикова Г.И. Использование экстракционной фотометрии в анализе производных хинуклидина, бензимидазола, тропана, пирролидина / Г.И. Лукьянчикова, И.Я. Багдасарова, Т.И. Блинова, Л.Л. Казакова, В.А. Карпенко, Л.Н. Дуккард // Фармация. – 1984. – Т. 33, № 6. – С. 73–76.

6. Шорманов В.К., Дурицын Е.П., Илюшина Т.Н., Алехина М.И. Изучение спектральных характеристик, способности к окислению и хроматографической подвижности в тонких слоях обращенно-фазового сорбента продукта метаболизма Калимина 60 Н // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2012. – № 2. – С. 133–137.

REFERENCES

1. Belikov V.G. Analiz lekarstvennyh veshhestv fotometricheskimi metodami. Opyt raboty otechestvennyh specialistov [Analysis of medicinal substances by photometric methods. Experience of domestic specialists] *Rossijskij himicheskij zhurnal (Zhurnal Rossijskogo himicheskogo obshhestva im. D. I. Mendeleeva)*. 2002, T. XLVI, no4, S. 52-56 (In Russ.)

2. Beregovykh G.V. Issledovanie klofelina v himiko-toksikologicheskom analize jekstrakcionno-spektofotometricheskim metodom [Study of clonidine in the chemical-toxicological analysis by extraction-spectrophotometric method] *Aktual'nye voprosy klinicheskoy i jeksperimental'noj mediciny, medicinskoj nauki i obrazovanija. Medicina v Kuzbasse*. 2005, no4, S. 24-25 (In Russ.)

3. Duricyn E.P., Iljushina T.N., Alehina M.I., Vetrova E.N. Razrabotka metodiki jodometricheskogo opredelenija Kalimina 60 N [Development of the method of iodometric determination of Kalinin 60 N] *Mater. nauch.-praktich. konf. s mezhdunarodnym uchastiem, posvjashhennoj 45-letiju farmacevticheskogo fakul'teta KGMU*. Kursk: GBOU VPO KGMU Minzdravsocrazvitija Rossii, 2011. S. 271-273 (In Russ.)

4. Kulikov S.I. Spektrofotometricheskoe opredelenie prozerina v lekarstvennyh formah [Spectrophotometric determination of proserin in dosage forms] *Farmacija*. 1987, no3, S. 43-45 (In Russ.)

5. Luk'janchikova G.I. Ispol'zovanie jekstrakcionnoj fotometrii v analize proizvodnyh hinuklidina, benzimidazola, tropana, pirrolidina [The use of extraction photometry in the analysis of derivatives of quinuclidine, benzimidazole, tropane, pyrrolidine] *Farmacija*. 1984, T. 33, no6, S. 73-76 (In Russ.)

6. Shormanov V.K., Duricyn E.P., Iljushina T.N., Aljoshina M.I. Izuchenie spektral'nyh harakteristik, sposobnosti k okisleniju i hromatograficheskoy podvizhnosti v tonkih slojah obrashhenno-fazovogo sorbenta produkta metabolizma Kalimina 60 N [Study of spectral characteristics, ability to oxidation and chromatographic mobility in thin layers of reverse phase sorbent of the product of Kalinin 60 N metabolism] *Kurskij nauchno-prakticheskij vestnik «Chelovek i ego zdorov'e»*. 2012, no2, S. 133-137 (In Russ.)

Контактная информация

Алехина Мария Игоревна – ассистент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии, Воронежский государственный медицинский университет им. Н. Н. Бурденко, e-mail: pharmchem.vgma@mail.ru