

О. І. Панасенко¹, Н. В. Донченко², А. С. Гоцуля¹, В. П. Буряк¹, І. М. Кейтлін³, І. О. Юрченко¹, Н. А. Постол¹

УФ-СПЕКТРОФОТОМЕТРІЯ МЕТРОНІДАЗОЛУ

¹Запорізький державний медичний університет,

²Донецький національний медичний університет ім. М. Горького,

³Державна служба з лікарських засобів у Запорізькій області

Ключові слова: метронідазол, УФ-спектри, розчинники, кількісне визначення.

Вивчили УФ-спектри метронідазолу у розчинниках різної полярності. Встановили залежність між хімічною будовою метронідазолу та характером його електронних спектрів. Розробили методики кількісного визначення досліджуваного препарату у субстанції та лікарських формах.

УФ-спектрофотометрія метронідазола

А. И. Панасенко, Н. В. Донченко, А. С. Гоцуля, В. П. Буряк, И. М. Кейтлин, И. А. Юрченко, Н. А. Постол

Изучили УФ-спектры метронидазола в растворителях разной полярности. Установили зависимость между химическим строением метронидазола и характером его электронных спектров. Разработали методики количественного определения исследуемого соединения в субстанции и лекарственных формах.

Ключевые слова: метронидазол, УФ-спектры, растворители, количественное определение.

UV spectrophotometry of the Metronidazole

O. I. Panasenko, N. V. Donchenko, A. S. Hotsulya, V. P. Buryak, I. N. Caitlin, I. A. Yurchenko, N. A. Postol

UV-spectrums of the drug Metronidazole in different solvents with different polarity were studied. Dependence between chemical structure of the Metronidazole and the nature of its electronic spectrum had been established. The techniques of quantitative determinations of studied substance in bulk and dosage forms have been developed.

Key words: Metronidazole, UV-spectrum, solutes, quantitative determination.

Метронідазол (1- β -оксиетил-2-метил-5-нітроімідазол) – синтетичний лікарський засіб, клінічне застосування якого почалося у 1961 році під час лікування протозойних і бактеріальних інфекцій [4]. Фармацевтична промисловість України виробляє цей препарат у вигляді 0,5% розчину та вагінальних супозиторіїв по 0,1 г.

Методики контролю якості (МКЯ) щодо метронідазолу у субстанції, що чинні в Україні, рекомендують здійснювати контроль якості препарату методом кислотно-основного титрування у середовищі безводної оцтової кислоти шляхом титрування розчину 0,1 М хлорної кислоти з потенціометричним визначенням кінцевої точки титрування. Кількісне визначення метронідазолу у 0,5% розчині для інфузій здійснюють методом УФ-спектрофотометрії у середовищі 0,1 М кислоти хлористоводневої. Враховуючи питомий показник поглинання або оптичної густини розчину стандартного зразка діючої речовини, виконують кількісний розрахунок вмісту. Як альтернативний застосовують метод високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) з УФ-детектуванням при довжині хвилі 320 нм із використанням розчину стандартного зразка метронідазолу.

Метронідазол у вагінальних супозиторіях кількісно визначають методом спектрофотометрії в УФ-ділянці спектра у середовищі метанолу. Екстракцію діючої речовини із супозиторіїв виконують сумішню метанол-хлороформ. Детектування роблять при довжині хвилі 310 нм із застосуванням розчину стандартного зразка метронідазолу.

У науковій літературі описано метод аналізу метронідазолу шляхом капілярного електрофорезу з УФ-детектуванням. Реєстрацію аналізованого компонента здійснюють при

довжині хвилі детектора 277 нм [7]. Я.В. Мурза [5] при кількісному визначенні метронідазолу у вагінальній мазі рекомендує електронну спектроскопію з визначенням оптичної густини розчину при 320 нм (розчинник – 95% етанол та вода у співвідношенні 1:1).

Є.Ф. Сафонова і співавт. [6] порівняли методики визначення метронідазолу методом ІЧ-спектроскопії, УФ-спектрофотометрії та тонкошарової хроматографії (ТШХ). Автори встановили, що найприйнятнішим методом для оцінювання якості метронідазолу є УФ-спектрофотометрія з використанням як розчинника суміші спирту етилового 95% та води у співвідношенні 1:1.

А.Н.Теплих та Є.А.Ілларіонова розробили методику спектрофотометричного визначення метронідазолу у субстанції та таблетках [8]. Як розчинник використали 0,1М розчин кислоти хлоридної, а як зразок – фенолфталеїн і кислоту бензойну. Встановили, що під час використання фенолфталеїну як стандарту помилка визначення не перевищує $\pm 1,03\%$.

Ю.В.Левачкова і співавт. при біофармацевтичному обґрунтуванні складу песаріїв Меланізол для кількісного визначення метронідазолу використовували фармакопейний метод УФ-спектрофотометрії [1,2,9], а при розробці методики кількісного визначення його у песаріях Клімадекс використовували ВЕРХ [3].

МЕТА РОБОТИ

Вивчення УФ-спектрів метронідазолу у розчинниках різної полярності (вода, 95% етанол, 0,1 М розчин натрію гідроксиду, 0,1 М хлористоводневої кислоти та 5 М розчин сірчаної кислоти) для встановлення взаємозв'язку між



хімічною будовою аналізованої сполуки та характером її електронних спектрів. Крім того, докладне вивчення ультрафіолетових спектрів метронідазолу у зазначених розчинах дає можливість обрати оптимальну довжину хвилі та розчинник для розробки умов кількісного визначення метронідазолу у субстанції та лікарських формах.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

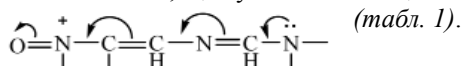
Об'єкти дослідження, розчинники й обладнання

Всі використані розчинники та реактиви мали кваліфікацію «х.ч.». Стандартний зразок метронідазолу наданий ДП «Науково-експертний фармакопейний центр України». Для вивчення УФ-спектрів метронідазолу та для розробки методики кількісного визначення його у субстанції та лікарських формах використали спектрофотометр SPECORD 200-222U214.

Дослідження УФ-спектрів метронідазолу його модельних речовин

Вимірювання абсорбції розчинів метронідазолу виконали у кварцових кюветах із товщиною шару 10 мм. У зв'язку з тим, що аналізована речовина виявляє вибіркоче світловбирання в ультрафіолеті, її УФ-спектри і спектр модельних речовин досліджували в концентрації 1мг%. Електронні спекти вивчали у межах від 200 до 400 нм, графік спектрів будували в координатах $A=f(\lambda)$.

Для вивчення УФ-спектрів метронідазолу (1-β-оксиетил-2-метил-5-нітроімідазол) зняли спектри поглинання його модельних речовин: 2-метил-імідазол, 4(5)-нітроімідазол та 2-метил-4(5)-нітроімідазол у 95% етанолі. Дослідження свідчать, що УФ-спектр 2-метилімідазолу має один низькоінтенсивний максимум при 268 нм, що зумовлений збудженням електронів в імідазольному циклі типу $\pi \rightarrow \pi^*$. Введення нітрогрупи в положення 5 імідазольного кільця призводить до появи інтенсивної смуги у довгохвильовій частині спектра 4(5)-нітроімідазолу та 2-метил-4(5)-нітроімідазолу у межах 290–310 нм, що зумовлена ланцюгом спряження



Таблиця 1

Спектральна характеристика 2-метилімідазолу, 4(5)-нітроімідазолу, 2-метил-4(5)-нітроімідазолу та метронідазолу

Досліджувана речовина	Розчинник	Концентрація розчину	$\lambda_{\text{макс.}}$ нм	Ig, ε
2-метилімідазол	95% етанол	1 мг %	268	2,00
4(5)-нітроімідазол	95% етанол	1 мг %	238 290	3,58 3,76
2-метил-4(5)-нітроімідазол	95% етанол	1 мг %	240 318	3,82 3,86
метронідазол	вода	1 мг %	230 320	3,82 4,12
метронідазол	95% етанол	1 мг %	230 312	3,78 3,90
метронідазол	1M NaOH	1 мг %	228 332	3,76 3,84
метронідазол	1M HCl	1 мг %	276	3,65
метронідазол	5M H ₂ SO ₄	1 мг %	276	3,80

Як розчинники використовували воду, 95%етанол, 0,1M NaOH, 0,1M HCl і 5 M H₂SO₄. УФ-спектр метронідазолу має перший максимум при 230 нм, другий – при 320 нм. У розчинах етанолу спектр метронідазолу також має два максимуми при 230 і 312 нм. У 0,1 M розчині NaOH УФ-

спектр метронідазолу має два максимуми при 228 і 332 нм. Під час переходу від лужного розчинника до кислого в УФ-спектрі метронідазолу спостерігали помітну зміну кривої, бо в 0,1 M розчині хлоридної кислоти та у 5 M сульфатній кислоті відбувається солеутворення по N₃-атому, а отже, відбувається скорочення спряженої системи, що призводить до зникнення короткохвильової смуги та значного гіпсохромного зміщення довгохвильової смуги, максимум котрої в обох випадках припадає на 276 нм (табл. 1).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

На підставі вивчення УФ-спектрів метронідазолу та його модельних речовин можна зробити висновок, що у короткохвильовій частині спектра вбирання зумовлене переносом і збудженням електронів в імідазольному кільці, а у довгохвильовій – спряженням хромофора імідазольного циклу та нітрогрупи як акцептора електронів.

Аналіз УФ-спектрів метронідазолу дає можливість визначити аналітичний максимум для кількісного визначення препарату, яким може бути максимум, що припадає на короткохвильову частину спектра і належить імідазольному кільцю.

Кількісне визначення метронідазолу в субстанції

Попередньо розрахували питомі показники вбирання метронідазолу у воді (750,80±0,05), 95% етанолі (654,78±0,02) та визначили межі концентрації, за яких абсорбція розчинів підпорядковувалась об'єднаному закону світловбирання Бугера-Ламберта-Бера: 0,2–1,8 мг% та 0,2–2,2 мг% відповідно.

Точну наважку метронідазолу (близько 0,011 г для розчину у воді, 0,014 г для розчину етанолу) переносять у мірну колбу місткістю 100 мл, додають 70 мл обраного розчинника і перемішують до повного розчинення субстанції. Використаним розчинником доводять до мітки і знову ретельно перемішують (розчин А), 5 мл розчину А за допомогою піпетки переносять у мірну колбу місткістю 100 мл, розчинником доводять до мітки і ретельно перемішують (розчин Б).

Абсорбцію отриманого розчину вимірюють за допомогою спектрофотометра при 230 нм для обох розчинників. Як розчин порівняння використовують воду або 95% етанол.

Паралельно при тих же довжинах хвиль вимірюють абсорбцію розчину стандартного зразка метронідазолу у концентрації 0,0011 г в 100 мл (вода), 0,0014 г 100 мл (95% етанол).

Вміст метронідазолу в субстанції та лікарських формах розраховували за рівняннями, наведеними у ДФУ[1].

Вміст метронідазолу в субстанції в перерахунку на суху речовину має бути в межах від 98,5% до 101,5%.

Виготовлення розчинів стандартного зразка метронідазолу

Факторну наважку стандартного зразка метронідазолу ФСЗ ДФУ 0,011 г для води і 0,014 г для етанолу поміщають у мірну колбу ємністю 100 мл, при ретельному перемішуванні розчиняють у 70 мл використаного розчинника, доводять об'єм розчину водою або етанолом до мітки і перемішують. 5 мл отриманого розчину поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, доводять об'єм розчину обраним розчинником до мітки і перемішують. Концентрація розчину стандартного зразка метронідазолу у воді становить 1,1 мл%, у 95% етанолі – 1,4 мг%.

Розчини стандартного зразка метронідазолу (ФСЗ ДФУ) при визначенні діючої речовини у 0,5% розчині для інфузій і вагінальних супозиторіях 0,1 г готують аналогічно наведе-



дений методиці, що застосовується при кількісному визначенні метронідазолу в субстанції. Результати кількісного визначення в субстанції наведені в таблиці 2.

Таблиця 2

Результати кількісного визначення метронідазолу в субстанції за стандартним значенням

Розчинник	Довжина хвили	Наважка метронідазолу, мг%	Знайдено		Метрологічні характеристики
			мг%	%	
Вода	230	1,12	1,14	101,78	$\bar{x} = 100,03$ $S^2 = 1,81$ $S = 1,35$ $\Delta\bar{x} = 0,03$ $\varepsilon = 0,03$
		1,09	1,10	100,91	
		1,14	1,15	100,88	
		1,20	1,18	98,33	
		1,15	1,14	99,12	
		1,17	1,16	99,15	
95% етанол	230	1,52	1,54	101,32	$\bar{x} = 99,65$ $S^2 = 1,72$ $S = 1,31$ $\Delta\bar{x} = 0,03$ $\varepsilon = 0,03$
		1,48	1,46	98,65	
		1,47	1,46	99,32	
		1,49	1,47	98,65	
		1,50	1,48	98,67	
		1,54	1,56	101,30	

Експериментально встановлено, що допоміжні речовини, котрі входять до складу 0,5% розчину метронідазолу для інфузій і вагінальних супозиторіїв по 0,1 г, не мають вибіркового світловбирання у межах від 200 до 400 нм, а тому не заважають кількісному визначенню метронідазолу в аналізованих лікарських формах.

Кількісне визначення метронідазолу у 0,5% розчині для інфузій

Для аналізу виготовили 0,5% розчин для інфузій; як розчинник використали воду.

Методика визначення

За допомогою піпетки 0,5 мл 0,5% розчину метронідазолу для інфузій вміщують у мірну колбу місткістю 100 мл, додають 70 мл води, енергійно збовтують, доводять об'єм розчину використаним розчинником. 5 мл отриманого розчину переносять у мірну колбу місткістю 100 мл, доводять об'єм водою до мітки і перемішують. Вимірюють абсорбцію досліджуваного розчину при 230 нм.

Результати кількісного визначення метронідазолу у 0,5% розчині для інфузій наведені в таблиці 3.

Таблиця 3

Результати кількісного визначення метронідазолу в 0,5% розчині для інфузій та у вагінальних супозиторіях по 0,1 г*

Лікарська форма	Розчинник	Довжина хвили	Межі визначених концентрацій
0,5% розчин метронідазолу для інфузій	Вода	230	99,19±0,04
Вагінальні супозиторії	Вода	230	99,54±0,04

Примітка: наведені результати є середніми із шести паралельних дослідів.

Відомості про авторів:

Панасенко О.І., д. фарм. н., професор, зав. каф. токсикологічної і неорганічної хімії ЗДМУ.

Донченко Н.З., к. фарм. н., зав. каф. фармакогнозії, технології ліків та медичної ботаніки ДонНМУ ім. М. Горького.

Гоцуля А.С., к. фарм. н., асистент каф. токсикологічної і неорганічної хімії ЗДМУ.

Буряк В.П., д. фарм. н., професор каф. токсикологічної і неорганічної хімії ЗДМУ.

Кейтлін І.М., зав. лабораторії з контролю якості лікарських засобів та медичної продукції ДСЛЗ у Запорізькій області.

Юрченко І.О., к. фарм. н., асистент каф. фізичної та колоїдної хімії ЗДМУ.

Постол Н.А., к. фарм. н., ст. викладач каф. токсикологічної і неорганічної хімії ЗДМУ.

Кількісне визначення метронідазолу у вагінальних супозиторіях по 0,1 г

Факторну наважку вагінального супозиторію (близько 1,6 г) вміщують у мірну колбу місткістю 100 мл, додають 70 мл води і нагрівають на водяному нагрівникові протягом 10 хв при постійному перемішуванні. Після охолодження об'єм розчину доводять водою до мітки, перемішують і фільтрують через паперовий фільтр (синя стрічка), 10 мл перших порцій фільтрату відкидають. 5 мл фільтрату переносять у мірну колбу місткістю 100 мл, доводять об'єм розчину водою до мітки і перемішують.

Вимірювання абсорбції випробовуваного розчину стандартного зразка виконали при 230 нм.

Результати кількісного визначення метронідазолу у вагінальних супозиторіях наведено в таблиці 3.

Кожен супозиторій із метронідазолом має містити не менше 99% і не більше 110% (від 99 мг до 110 мг).

ВИСНОВКИ

Вивчили УФ-спектри метронідазолу у воді, 95% етанолі, 0,1 М розчині NaOH, 0,1 М розчині HCl та 5 М розчині H₂SO₄.

Встановили, що УФ-спектри метронідазолу у зазначених розчинниках характеризуються двома смугами вбирання у межах 228–230 нм і 276–332 нм.

Розробили методики кількісного визначення метронідазолу в субстанції (вода та 95% етанол при 230 нм), у 0,5% розчині для інфузій (вода при 230 нм) і вагінальних супозиторіях по 0,1 г (вода при 230 нм).

Похибка визначення метронідазолу в субстанції не перевищує ±0,03, а в лікарських формах – ±0,05.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Державна фармакопея України/ Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х.: РІРЕГ, 2001. – 556 с.
2. Левачкова Ю.В. Біофармацевтичне обґрунтування складу пєсаріїв «Меланізол» / Ю.В. Левачкова // Український біофармацевтичний журнал. – 2010. – №5. – С. 4–7.
3. Левачкова Ю.В. Розробка методики кількісного визначення діючих речовин у пєсаріях «Клімодекс» / Ю.В. Левачкова, С.М. Коваленко, В.І. Гусаров та ін. // Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. – 2012. – №2. – С. 44–51.
4. Машковский М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковский. – М.: Новая волна, 2010. – 1216 с.
5. Мурза Я.В. Разработка и исследование вагинальных мазей с метронидазолом / Я.В. Мурза // Фармація. – 2004. – №4. – С. 34–36.
6. Сафонова Е.Ф. Сравнительная оценка физико-химических методов контроля качества метронидазола / Е.Ф. Сафонова, А.И. Сливкин, Д.С. Вязова и др. // Вестник Воронежского гос. университета. – 2008. – №1. – С. 159–162.
7. Сидоров А.И. Количественное определение метронидазола методом капиллярного зонного электрофореза с ультрафиолетовым детектированием / А.И. Сидоров, Э.М. Сульман, О.В. Манаенков // Химико-фармацевтический журнал. – 2003. – №11. – С. 47–48.
8. Теплых А. Н. Количественное определение метронидазола спектрофотометрическим методом / А.Н. Теплых, Е.А. Илларионова // Сибирский медицинский журнал. – 2009. – №5. – С. 48–50.
9. Ярних Т. Г. Розробка методики спектрофотометричного визначення метронідазолу у пєсаріях «Меланізол» / Т.Г. Ярних, В.М. Чушенко, Ю.В. Левачкова // Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. – 2010. – №5. – С. 16–20.

Поступила в редакцію 22.04.2013 г.