



О. І. Панасенко<sup>1</sup>, Н. В. Донченко<sup>2</sup>, А. А. Сафонов<sup>1</sup>, А. С. Гоцуля<sup>1</sup>, І. О. Юрченко<sup>1</sup>, Н. А. Постол<sup>1</sup>, В. П. Буряк<sup>1</sup>,  
І. М. Кейтлін<sup>3</sup>, Н. М. Кочура<sup>1</sup>

### КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ НАФАЗОЛІНУ НІТРАТУ МЕТОДОМ УФ-СПЕКТРОФОТОМЕТРІЇ

<sup>1</sup>Запорізький державний медичний університет,

<sup>2</sup>Донецький національний медичний університет ім. М. Горького,

<sup>3</sup>Державна служба лікарських засобів у Запорізькій області

**Ключові слова:** нафазолін, субстанція, назальні краплі, УФ-спектрофотометрія.

Розробили та запропонували методики кількісного визначення нафазоліну нітрату в субстанції та в 0,1% назальних краплях.

#### Количественное определение нафазолина нитрата методом УФ-спектрофотометрии

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

Разработаны и предложены методики количественного определения нафазолина нитрата в субстанции и 0,1% назальных каплях.

**Ключевые слова:** нафазолин, субстанция, назальные капли, УФ-спектрофотометрия.

#### Quantification of naphazoline nitrate by UV-spectrophotometry

O. I. Panasenko, N. V. Donchenko, A. A. Safonov, A. S. Gotsulya, I. O. Yurchenko, N. A. Postol, V. P. Buriyak, I. M. Keitlin, N. M. Kochura

Developed and proposed methods of quantitative determination of nafazolin nitrate in substance and in 0,1% nasal drops.

**Key words:** naphazoline, substance, nasal drops, UV-spectrophotometry.

Нафазолін (2-нафтален-1-ілметил-4,5-дигідро-1H-імідазолу нітрат) – лікарський засіб, у структурі якого імідазоліновий цикл зв'язаний із 1-метил-нафталіном, широко застосовується в лікувальній практиці для зменшення катаральних явищ і полегшення дихання під час риніту [1].

За сучасними методиками контролю якості (МКЯ), нафазоліну нітрат у вигляді субстанції кількісно визначається методом кислотного титрування в середовищі суміші безводної кислоти ацетатної та ацетатного ангідриду. Титрування виконують 0,1 М розчином кислоти перхлоратної (індикатор – кристалічний фіолетовий). Для перевірки якості назальних крапель нафазоліну нітрату МКЯ рекомендовано УФ-спектрофотометрію: препарат розчиняють розчином кислоти борної (20 г/л); як розчин порівняння застосовують розчин фармакопейного стандартного зразка субстанції нафазоліну нітрату.

Абсорбцію аналізованого розчину визначають при 280 нм.

Європейська фармакопея [6] для кількісного визначення нафазоліну нітрату у субстанції та назальних краплях використовує метод рідинної хроматографії з УФ-детектуванням при 280 нм. J.M. Lemus Callego та J. Perez Arroyo [8] наводять відомості про визначення нафазоліну нітрату у суміші із преднізолоном методом міцелярної електрокінетичної хроматографії.

Метод похідної спектрофотометрії та денситометрії К. Kelani [7] використовували для кількісного аналізу нафазоліну нітрату у суміші із хлорфеніраміном. Високоєфективну рідинну хроматографію (ВЕРХ) застосовували для визначення нафазоліну нітрату та тетрогідрозоліну в очних лікарських засобах [4]. Для визначення нафазоліну нітрату у плазмі рекомендовано метод рідинної колонкової хроматографії [5]. Газо-хроматографічний метод із використанням капілярної колонки, модифікованої поліметиленгліколем нітротерфталевої кислоти, M. Massacesi використав для

кількісного визначення нафазоліну в лікарських засобах [9].

За останніми даними головного бюро судово-медичної експертизи Росії, у різних її регіонах визначено випадки немедичного застосування препарату Нафтизин (Нафазолін) у суміші із наркотичними та психотропними засобами. У цьому випадку Д.Б. Федоров і Н.А. Новокшонова пропонують виконувати кількісне визначення аналізованої речовини методом УФ-спектрофотометрії, денситометрії та мас-спектрометрії. Визначення концентрації речовини здійснювали за попередньо побудованим калібрувальним графіком [2].

#### МЕТА РОБОТИ

Вивчити характер УФ-спектрів нафазоліну нітрату в розчинниках різної полярності (вода, 95% етанол, 0,1 М NaOH, 0,1 М HCl, 5 М H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), дослідити природу визначених смуг вбирання, встановити довжину хвилі аналітичного максимуму.

#### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Усі використані розчинники та реактиви мали кваліфікацію «х.ч.». Стандартний зразок нафазоліну нітрату отримали від ДП «Науково-експертний фармакопейний центр України». Для вивчення УФ-спектрів нафазоліну нітрату використали спектрофотометр SPECORD 200-222U214 (Німеччина).

Абсорбцію досліджуваних розчинів нафазоліну нітрату вимірювали у кварцевих кюветах із шаром 10 мм завтовшки. У зв'язку з тим, що аналізована речовина має в максимумі світлопоглинання високі значення молярного коефіцієнта екстинкції, її УФ-спектри вивчали в усіх випадках у концентрації 1 мг%. Електронні спектри вимірювали у межах від 200 до 400 нм, а графік спектрів будували у координатах  $A = f(\lambda)$ .

#### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

##### Експериментальна частина

УФ-спектр нафазоліну нітрату у воді та 95% етанолі характеризується двома максимумами при 270 та 280 нм.



Смуга поглинання нафазоліну нітрату у 0,1 М розчині натрій гідроксиду має два максимуми при 271 та 280 нм, а у 0,1 М розчині кислоти хлоридної та 5 М розчині кислоти сульфатної максимуми збігаються із максимумами препарату у воді та 95% етанолі (табл. 1).

Таблиця 1

**Спектральна характеристика нафазоліну нітрату**

Розчинник	$\lambda_{\max}$ , нм	I <sub>ге</sub>	$\lambda_{\max}$ , нм	I <sub>ге</sub>
Вода очищена	270	3,78	280	3,85
95% етанол	270	3,74	280	3,82
0,1 М розчин натрію гідроксиду	271	3,74	280	3,81
0,1 М розчин кислоти хлоридної	270	3,65	280	3,72
5 М розчин кислоти сульфатної	270	3,81	280	3,89

Оскільки у хімічному відношенні нафазоліну нітрату є імідазоліновим циклом, молекула якого зв'язана з 1-метилнафталіном, характер УФ-спектра цієї сполуки дає можливість зробити висновок, що світлопоглинання у спектрі препарату зумовлене ядром нафталіну [3]. Нафталін належить до біциклічних ароматичних вуглеводнів і характеризується складними спектрами смуг вбирання із яскраво виявленою коливальною структурою бензольного характеру, тому їхнє походження зумовлено  $\pi\pi^*$ -переходом електронів.

Вибір розчинників для розробки УФ-спектрофотометричного кількісного визначення нафазоліну нітрату субстанції та назальних краплях зумовлений ступенем його розчинності, можливістю використання розчинника для екстракції аналізованої сполуки з біоматеріалу протягом судово-хімічних досліджень.

Тому для розробки методики визначення нафазоліну нітрату використали воду і 95% етанол, а для аналітичних цілей – максимум при 280 нм, який в усіх розчинниках не змінював свого положення.

Щоб уникнути помилок, пов'язаних із калібруванням спектрофотометра, температурним фактором, фармакопейний аналіз вимагає досліджувати лікарські засоби із використанням стандартних зразків речовини.

Попередньо розрахували питомі показники поглинання нафазоліну нітрату у воді (245,60±20) та 95% етанолі (265,90±0,42) та визначили межі концентрацій, в яких абсорбція підпорядковувалась закону Бугера-Ламберта-Бера (відповідно 1,2–4,8 мг% та 1,6–4,4мг%) (табл. 2).

*Виготовлення стандартного розчину нафазоліну нітрату*

Точну наважку стандартного розчину нафазоліну нітрату ФСЗ ДФУ 0,0180 г для води; 0,1600 г для 95% етанолу вміщують у мірну колбу місткістю 100 мл, розчиняють при ретельному перемішуванні у 70 мл використаного розчинника, доводять об'єм розчину водою або 95% етанолом до мітки і перемішують. 5 мл отриманого розчину вміщують у мірну колбу місткістю 100 мл, доводять об'єм розчину обраним розчинником до мітки і перемішують. Концентрація розчину стандартного зразка нафазоліну у воді становить 1,8 мг%, у 95% етанолі – 1,6 мг%.

*Кількісне визначення нафазоліну у субстанції*

Точну наважку субстанції нафазоліну (близько 0,0180 г для розчину у воді, 0,0162 г для розчину у 95% етанолі) переносять до мірної колби місткістю 100 мл, додають 70 мл обраного розчинника та 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, водою або 95% етанолом доводять до мітки і ретельно перемішують (розчин Б).

Абсорбцію отриманого розчину вимірюють за допомогою спектрофотометра при 280 нм (вода та 95% етанол) у кюветі із шаром 10 мм завтовшки. Як розчинник порівняння використовують воду або 95% етанол.

Таблиця 2

**Визначення підпорядкованості абсорбції розчинників нафазоліну закону Бугера-Ламберта-Бера**

$\lambda_{\max}$ , нм	Розчинник	Концентрація нафазоліну мг%	Абсорбція	$A_{1\text{см}}^{1\%}$	Метрологічна характеристика
280	Вода	1,2	0,295	245,88	$\bar{X} = 245,60$ $S_{\bar{x}} = 0,45$ $\Delta\bar{X} = 0,55$ RSD = 4,9 % $\bar{X} \pm \Delta\bar{X} = 245,60 \pm 0,55$
		1,6	0,392	245,00	
		2,0	0,493	246,50	
		2,4	0,590	245,83	
		2,8	0,688	245,71	
		3,2	0,790	246,66	
		3,6	0,882	245,00	
		4,0	0,981	245,25	
		4,4	1,079	245,22	
		4,8	1,174	244,58	
280	95% етанол	1,6	0,429	268,12	$\bar{X} = 264,23$ $S_{\bar{x}} = 6,65$ $\Delta\bar{X} = 1,90$ RSD = 5,7 % $\bar{X} \pm \Delta\bar{X} = 264,23 \pm 1,90$
		2,0	0,530	265,00	
		2,4	0,636	265,00	
		2,8	0,746	260,42	
		3,2	0,859	265,62	
		3,6	0,960	260,60	
		4,0	1,060	265,00	
		4,4	1,160	264,09	

Результати кількісного визначення нафазоліну в субстанції та назальному розчині

Розчинник	Лікарська форма	$\lambda_{\max}$ , нм	Наважка нафазоліну, мг%	Знайдено		Метрологічна характеристика
				мг%	%	
Вода	Субстанція	280	1,40	1,39	99,28	$\bar{X} = 99,45$ $S_x = 0,77$ $\Delta\bar{X} = 0,76$ RSD = 3,1 % $\bar{X} \pm \Delta\bar{X} = 99,45 \pm 0,76$
			1,80	1,77	98,33	
			2,20	2,18	99,09	
			2,60	2,61	100,42	
			3,00	2,97	99,00	
			3,40	3,42	100,58	
95% спирт етиловий	Субстанція	280	1,80	1,78	98,88	$\bar{X} = 99,67$ $S_x = 0,99$ $\Delta\bar{X} = 0,72$ RSD = 3,9 % $\bar{X} \pm \Delta\bar{X} = 99,67 \pm 0,72$
			2,00	2,03	101,50	
			2,20	2,18	99,09	
			2,60	2,59	99,61	
			2,80	2,77	98,92	
			3,00	3,00	100,00	
Вода	0,1 % водний розчин	280	1,50	1,51	100,60	$\bar{X} = 99,66$ $S_x = 0,51$ $\Delta\bar{X} = 0,42$ RSD = 2,7 % $\bar{X} \pm \Delta\bar{X} = 99,66 \pm 0,42$
			2,00	1,99	99,50	
			2,50	2,48	99,20	
			3,00	2,97	99,00	
			3,50	3,50	100,00	
			4,00	3,98		

Паралельно за тієї ж довжини хвилі вимірюють абсорбцію розчину стандартного зразка нафазоліну в концентрації 0,0018 г в 100 мл (води), 0,00162 г в 100 мл (95% етанолі).

Вміст нафазоліну в субстанції розраховували за формулою:

$$C = \frac{A_1 m_1 100}{A_0 m_0}$$

де  $A_1$  – абсорбція випробуваного розчину нафазоліну при 280 нм;

$A_0$  – абсорбція розчину стандартного зразка нафазоліну 0,0018 г в 100 мл (у воді при 280 нм); 0,00162 в 100 мл (у 95% етанолі при 280 нм);

$m_0$  – маса наважки субстанції нафазоліну, г;

$m_1$  – маса наважки стандартного зразка нафазоліну, г;

Вміст нафазоліну в субстанції у перерахунку на суху речовину має бути в межах від 99,0% до 101,0%. Результат кількісного визначення нафазоліну в субстанції наведено в таблиці 3.

*Кількісне визначення нафазоліну в назальних 0,1% краплях*

Експериментально встановили: допоміжні речовини, що входять до складу 0,1% назальних крапель нафазоліну, не володіють вибіркоким світлопоглинанням у межах від 200 до 400 нм і тому не заважають кількісному визначенню нафазоліну у назальних краплях.

Для аналізу виготовили штучні 0,1% назальні краплі нафазоліну відповідно до вимог технологічного регламенту.

*Методика визначення*

2,0 мл 0,1% водного розчину нафазоліну нітрату вносять до мірної колби місткістю 100 мл, водою доводять до мітки і ретельно перемішують. Абсорбцію отриманого розчину та розчину стандартного зразка речовини, що аналізується, визначають при 280 нм, використовуючи воду як еталон порівняння.

Вміст нафазоліну нітрату в назальних краплях обчислю-

ють за формулою:

$$C = \frac{A_1 m_0 b \cdot p}{A_0 m_1 100}$$

де  $A_1$  – абсорбція густини випробуваного розчину нафазоліну нітрату;

$A_0$  – абсорбція густини стандартного розчину нафазоліну нітрату;

$m_1$  – вміст аналізованої речовини нафазоліну нітрату у наважці;

$m_0$  – вміст стандартного зразка нафазоліну нафазоліну нітрату у розчині порівняння;

$b$  – середнє значення вмісту нафазоліну нітрату в назальних краплях;

$p$  – вміст нафазоліну нітрату у стандартному зразку, %.

Вміст нафазоліну нітрату в назальних краплях має бути в межах від 0,09% до 0,11%. Результати кількісного визначення нафазоліну нітрату в 0,1% назальних краплях наведено в таблиці 3, вони є середніми з 6 паралельних досліджень.

## ВИСНОВКИ

Вивчили УФ-спектри нафазоліну нітрату у воді, 95% етанолі, 0,1 М розчині кислоти хлоридної, 0,1 М розчині натрій гідроксиду та 5 М розчині кислоти сульфатної.

Встановили, що УФ-спектри нафазоліну нітрату в зазначених розчинниках характеризуються однією смугою поглинання із двома максимумами в межах 270–280 нм.

Розробили та запропонували методики кількісного визначення нафазоліну нітрату у субстанції та 0,1% назальних краплях.

Похибка визначення нафазоліну нітрату в субстанції не перевищує 3,1%, а в 0,1% розчині назальних крапель – 2,7%.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Машковський М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковський – М.: Новая волна. – С. 210–216.
2. Федоров Д.Б. Химико-токсикологические исследования препарата «Нафтизин» в вещественных доказательствах и биологических жидкостях / Д.Б. Федоров, Н.А. Новокшопова



- // Тезисы докладов Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего» (г. Санкт-Петербург, 18–19 апреля 2012 г.). – Ч. 2. – СПб.: изд-во СПбХФА, 2012. – С. 37–38.
3. Штерн Э. Электронная абсорбционная спектроскопия в органической химии / Э. Штерн, К. Тиммонс – М.: Мир, 1974. – С. 296.
  4. Bauer J. High-performance liquid-chromatographic stability – indicating assay for naphazoline and tetrahydrozoline in ophthalmic preparations / J. Bauer, S. Krogh // J. Pharm. Sci. – 1983. – № 72. – P. 1347–1349.
  5. Chabenat C. Determination of naphazoline in rat plasma using column liquid chromatography with ultraviolet detection / C. Chabenat, P. Boucly // Biomed. Chromatogr. – 1992. – № 6. – P. 241–243.
  6. European Pharmacopeia – Strasbourg: European Department for Quality of Medicines, 2007. – P. 2727–2724.
  7. Kelani K. Simultaneous determination of naphazoline hydrochloride and chlorpheniramine maleate by derivative spectrophotometry and by densitometry / K. Kellani // AOAC Int. – 1998. – № 81. – P. 1128–1130.
  8. Lemus Gallego J.M. Determination of prednisolone, naphazoline and phenilphrine in local pharmaceutical preparations by micellae elektrokinetic chromatography / J.M. Lemus Callego, J. Perez Arroyo // J. Sep. Sci. – 2003. – № 6. – P. 947–952.
  9. Massaccesi M. Gas-chromatographic determination of some imidazolines in pharmaceutical preparations by using FFAP as stationary phase / M. Massaccesi // Pharm. Acta. Helv. – 1987. – № 62. – P. 302–305.

**Відомості про авторів:**

- Панасенко О.І., д. фарм. н., професор, зав. каф. токсикологічної та неорганічної хімії ЗДМУ.  
Донченко Н.В., к. фарм. н., зав. каф. фармакогнозії, медичної ботаніки та технології ДонНМУ ім. М. Горького.  
Сафонов А.А., асистент каф. токсикологічної та неорганічної хімії ЗДМУ.  
Гоцуля А.С., к. фарм. н., асистент каф. токсикологічної та неорганічної хімії ЗДМУ.  
Юрченко І.О., к. фарм. н., асистент каф. фізіологічної хімії ЗДМУ.  
Постол Н.А., к. фарм. н., ст. викладач каф. токсикологічної та неорганічної хімії ЗДМУ.  
Буряк В.П., д. фарм. н., професор каф. токсикологічної та неорганічної хімії ЗДМУ.  
Кейтлін І.М., к. фарм. н., зав. лаб. з контролю якості лікарських засобів та медичної продукції Державної служби з лікарських засобів у Запорізькій області.  
Кочура Н.М., студентка V курсу фармацевтичного факультету ЗДМУ.

Поступила в редакцію 06.06.2013 г.