

615.31(043.3)  
3-86

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ДЕРЖАВНИЙ НАУКОВИЙ ЦЕНТР ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

Для службового користування

Прям. № 000089

На правах рукопису

ЗОРЯ Борис Петрович

УДК 615.31.547(615.32).074:543.42.062

РОЗРОБКА СПОСОБІВ АНАЛІЗУ ДЛЯ ДЕЯКИХ ГРУП  
БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН З ВИКОРИСТАННЯМ  
ПОЛІКАРБОНІЛЬНИХ РЕАГЕНТІВ І СПЕКТРОФОТОМЕТРІЇ  
У ВИДИМІЙ ДІЛЯНЦІ

15.00.02 - фармацевтична хімія та фармакогнозія

А в т о р е ф е р а т

дисертації на здобуття наукового ступеня  
доктора фармацевтичних наук

ХАРКІВ - 1993

Закорізького державного інституту

Софія  
Офіційні документи: доктор хімічних наук  
А.І.Гризодуб

доктор фармацевтичних наук, професор  
В.І.Попова

доктор фармацевтичних наук, професор  
Г.П.Петронін

Провідна організація: Українська фармацевтична академія

Захист дисертації відбудеться " 11 " серпня 1993 р.  
о " 10<sup>00</sup> " годині на засіданні спеціалізованої ради Д 098.06.01  
при Державному науковому центрі лікарських засобів (ДНЦЛЗ)  
за адресою: 310085, м. Харків, вул. Астрономічна, 33

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотечі ДНЦЛЗ

Автореферат розіслано " 11 " серпня 1993 р.

Вчений секретар  
спеціалізованої ради Д 098.06.01  
доктор фармацевтичних наук  
числ.-кореспондент ІА України

М.О.Казарінов

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Підвищення ефективності наукових досліджень в галузі фармацевтичного аналізу невіддільно пов'язано з покращенням лікарського забезпечення нашої країни новими високоякісними лікарськими засобами.

Сучасний стан розвитку способів фармацевтичного аналізу характеризується їх фізико-хімічним спрямуванням. Найбільш вигідними серед них, в плані простоти і доступності, є способи, засновані на спектрофотометрії в УФ- та видимій ділянках. В зв'язку з цим, пошук селективних кольорореагентів на окремі функціональні групи в молекулах лікарських речовин, створення на цій основі простих способів аналізу, всебічне використання спектроскопії для кількісного визначення різних фармакологічно активних речовин - важливі задачі практичної фармації.

Крім того, актуальною є і розробка способів кількісного визначення біологічно активних речовин в продуктах природного походження з метою створення на їх основі нових лікарських засобів.

Дисертаційна робота присвячена цій проблемі - розробці простих високочутливих методик аналізу деяких біологічно активних речовин із класу амінів, 3-кетостероїдів, сульфамілідів, солей органічних основ і кислот в використанні кольорореагентів, похідних індану, індолу та піримідину, а також спектроскопії в видимій ділянці.

Дисертаційна робота виконана у відповідності з планом науково-дослідних робіт Запорізького медичного інституту МОЗ України, з фрагментом комплексної теми: "Розробити фотометричні способи якісного і кількісного аналізу деяких лікарських засобів на основі застосування карбонілемідуричних кольорореагентів",

затвердженої ДКНГ СРСР /реєстраційний номер 01.9.10.004791,  
шифр теми ВН 10.06.0000.91/.

Мета і задачі дослідження. Метою цієї роботи є розробка нових високочутливих спектрофотометричних способів аналізу досліджуваних біологічно активних речовин в субстанції і в лікарських формах з використанням карбонільвміщуючих реагентів - динітробіндону, динітробіндонкарбоненової кислоти, 2-нітроіндандіону-1,3; алоксану, алоксантину, нінгідрину, гідразону ізатину, які до нашого часу не знайшли достатнього застосування у фармацевтичному аналізі.

Для реалізації вказаної мети були поставлені такі основні задачі:

- розробити спектрофотометричні способи якісного і кількісного визначення біологічно активних речовин, які вивчаються, з застосуванням спектрофотометрії у видимій ділянці;
- розрахувати аналітичні показники чутливості реакції;
- виявити можливі закономірності між будовою реагентів і аналітичними характеристиками реакцій;
- на підставі даних елементного аналізу виділених продуктів реакцій реагентів із досліджуваними лікарськими речовинами, вивчення їх УФ-, ІЧ- і мас-спектрів, встановити їх склад і хімічну будову з метою подальшого прогнозування аналізу різних біологічно активних речовин.

Наукова новизна роботи. Приведено теоретичне обґрунтування застосування полікарбонільних сполук для якісного і кількісного визначення лікарських речовин, які відносяться до різних класів.

Вперше встановлені оптимальні умови реакції взаємодії ди-нітробіндону, динітробіндонкарбоненової кислоти, натрієвої солі карбетоксиіндандіон-1,3, алоксану, алоксантину, 5-нітробарбітурової кислоти, 2-нітроіндандіону-1,3, нінгідрину і гідразону

ізатину та деяких його заміщених з 63 лікарськими речовинами, які вміщують первинну аміногрупу, карбонільну групу, залишок гідразину і які є солями органічних основ та кислот. Розраховані аналітичні показники чутливості реакцій 21 лікарської речовини з динітробіндоном, динітробіндонкарбонною кислотою і натрієвою сіллю 2-карбетоксидандіону-1,3, 15 лікарських речовин - з гідразоном ізатину і деякими його похідними; 18 речовин - з алоксаном, алоксантином та нінгідрином; 20 речовин - з 2-нітроінданціоном-1,3 і 5-нітробарбітуровою кислотою. Був виявлений ряд закономірностей між чутливістю реакції і хімічною будовою досліджуваних речовин.

На підставі вивчення фотометруючих продуктів реакцій розроблено науковий підхід до пошуку кольорореагентів для уніфікації способів фармацевтичного аналізу.

В результаті виконаних досліджень запропоновані обґрунтовані, уніфіковані спектрофотометричні способи аналізу у видимій ділянці для 63 лікарських речовин у субстанції і 102 прописах лікарських форми за реакціями з вивченими реагентами, що має важливе науково-практичне значення.

Способи визначення лікарських речовин захищені 16 авторськими свідоцтвами СРСР, за двома із яких одержані позитивні рішення на видачу патентів.

Еперше по реакціях з алоксаном і нінгідрином розроблені способи кількісного визначення суми амінокислот в густому екстракті мумію, обніжжі, настоящі валеріани, по реакції з гідразоном ізатину - спосіб кількісного визначення 3-кетостероїдів у густому екстракті мумію. Дані реакції можуть бути визначаючими в оцінці якості вказаних продуктів природного походження.

Практичне значення роботи. Розширення асортименту кольорореагентів для кількісного спектрофотометричного аналізу і

розробка способів якісного і кількісного визначення 68 біологічно активних речовин із класу амінів, сульфаміламідів, 3-кетостероїдів, солей слабких кислот і основ в індивідуальному вигляді, лікарських формах і деяких продуктах природного походження.

На основі матеріалів дисертаційної роботи видані "Методичні рекомендації по кількісному визначенню деяких інгредієнтів екстемпоральних лікарських форм" /Москва, 1991/; 4 інформаційних листи, які впроваджені в практику контрольно-аналітичних лабораторій Черкаського і Запорізького обласних БО "Фармація". Нові методики кількісного визначення включені в проекти ТБС "Екстракт мумію густий", "Гель з екстрактом мумію", які були подані в Фармакологічний комітет Міністерства охорони здоров'я України (протокол № 13 від 06.07.91 р.).

Типові методики спектрофотометричного визначення лікарських засобів із застосуванням динітробіндону, як кольорореагента, експонувались на ВДНГ СРСР у павільйоні "Охорона здоров'я" /Москва, 1985/.

Результати досліджень знайшли застосування в учбовому процесі при викладанні курсу фармацевтичної хімії на відповідних кафедрах Львівського, Рязанського, Запорізького медичних інститутів і Українській фармацевтичній академії.

Основні положення, які виносяться на захист:

Розроблені нові способи кількісного та якісного визначення 68 біологічно активних речовин деяких класів /лікарських і фармакологічно активних/ в індивідуальному вигляді, складних лікарських форм, деяких продуктах природного походження на основі використання реакцій забарвлення з похідними індану, індолу, пірмідину і спектрофотометрії в видимій ділянці;

встановлення складу продуктів реакцій методами безперервних змін, відношення нахилів, молярних відношень, прямої лінії Асмуса та ін.;

виділення продуктів реакцій і доказу їх індивідуальності методами препаративної і тонкошарової хроматографії, будову виділених продуктів - методами УФ-, ІЧ-спектроскопії і мас-спектрометрії;

результати досліджень, які вказують на доцільність і перспективність широкого застосування вказаних вище кольорореагентів у практиці фармацевтичного аналізу.

Об'єм і структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 313 сторінках машинопису, містить 80 таблиць, 22 малюнки, складається із вступу, 6 розділів власних досліджень і висновків. Бібліографічний покажчик включає 336 літературних джерел, з них 143 на іноземних мовах. Викладенню власних досліджень передую огляд літератури, присвячений застосуванню кольорореагентів у фармацевтичному аналізі. Крім того, критично розглянуті відомі спектрофотометричні методи визначення досліджуваних лікарських речовин.

Апробація роботи. Матеріали досліджень викладені на Всесоюзній науково-практичній конференції "Основні напрямки роботи по покращенню якості лікарських засобів" /Харків, 1983/, на ІУ з'їзді фармацевтів УРСР /Запоріжжя, 1984/, на У Всесоюзній конференції по аналітичній хімії органічних сполук /Москва, 1981/, на I, III і IV Міжінститутських обласних конференціях молодих вчених /Запоріжжя, 1985, 1988, 1990/, на VI Всесоюзній конференції по хімії дикарбонільних сполук /Рига, 1986/, на Всесоюзній науково-практичній конференції "Оптимізація лікарського забезпечення та шляхи підвищення ефективності фармацевтичної науки" /Харків, 1985/, на IV Всесоюзному з'їзді фарма-

цвтів СРСР /Мазань, 1986/, на науково-практичних конференціях "Сучасні проблеми наукової і практичної дерматовенерології" /Дніпропетровськ, 1990/ і "Актуальні питання фармацевтичної науки і практики" /Курськ, 1991/.

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 58 наукових робіт, в тому числі отримано 16 авторських свідоцтв СРСР.

## ЗМІСТ РОБОТИ

### 1. Застосування похідних індандіону-І,3 для створення уніфікованих способів контролю якості деяких лікарських речовин

Вивчена реакція динітробіндону і динітробіндонкарбонової кислоти з лікарськими речовинами, які є солями органічних основ та кислот, з гексаметилентетраміном, цинаризином, визначені умови, які забезпечують кількісне утворення продуктів реакції. Встановлено, що максимальне значення величини оптичної густини спостерігається при взаємодії 10-20-кратного надлишку реагенту в середовищі діоксану /кваліфікація ч.д.а./ при кімнатній температурі або температурі киплячого водяного огрієвника. Величина оптичної густини залишається незмінною або змінюється незначно протягом 40 хвилин.

Для проведення експерименту використовували діоксанові розчини лікарських речовин певної молярності, приготовлені за точною наважкою, і 0,5% розчини реагентів у діоксані. Субстанції цих речовин відповідали вимогам Ді Х або іншій нормативно-технічній документації /НГД/.

Результати досліджень даної реакції з різними лікарськими речовинами свідчать про те, що динітробіндон і динітробіндонкарбонова кислота реагують з солями органічних основ, органічних кислот, гексаметилентетраміном, цинаризином. В процесі



реакції, в більшості випадків, утворюються сполуки з максимумом поглинання в області 475-500 нм, що дає змогу передбачити близьку хімічну будову утворених продуктів. В реакціях динітробіндону із пахікарпину гідройодидом, диколіном і кодеїну фосфатом максимума світлопоглинання утворених сполук зміщені батохромно і знаходяться в області 510-520 нм. Реакція проходить при нагріванні на киплячому водяному огрівнику протягом 5-15 хвилин.

Чутливість даних реакцій була охарактеризована молярним коефіцієнтом поглинання  $\epsilon$  макс./, питомим поглинанням  $a$ / і величиною межі визначення  $S$ мін., мкг/мл/.

Таблиця I

Аналітичні показники чутливості реакцій  
реагент - речовина /розчинник - діоксан/

Лікарська речовина	Аналітичні показники			
	$\lambda$ макс, нм	$\epsilon$ макс $\cdot 10^{-4}$	$a \cdot 10^2$	$S$ мін., мкг/мл
I	2	3	4	5
Динітробіндон				
Пахікарпину гідройодид	518	0,38	1,04	4,81
Платифіліну гідротартрат	488	0,68	1,39	3,61
Атропіну сульфат	483	1,00	1,44	3,47
Фізостигміну салцилат	490	0,51	1,24	4,03
Сферофізіну бензоат	492	1,96	4,42	1,12
Хініну сульфат	495	0,28	0,36	13,74
Диколін	520	1,41	2,61	1,91
Теонікс	440	1,26	2,90	1,72

## Продовження таблиці I

I	2	3	4	5
Гексенал	500	0,23	1,09	4,61
Сульфацил-натрій	490	0,16	0,63	7,95
Натрію бензоат	498	0,65	0,45	1,12
Кодеїну фосфат	510	0,29	0,68	7,33
Нафтизин	498	0,14	0,50	9,97
Барбаміл	494	0,16	0,67	7,52
Барбітал натрій	494	0,13	0,63	7,92
Тіопентал-натрій	500	0,23	0,85	5,89
Гексаметилентетра-амін	492	0,11	0,78	6,43

## Динітробіңцонкарбонова кислота

Сферофізину бензоат	490	2,90	6,55	0,73
Хініну сульфат	475	0,73	0,94	5,33
Нафтизин	492	1,07	3,92	1,28
Кодеїну фосфат	475	0,81	1,91	2,61
Гексаметилен-тетрамін	485	1,10	7,85	0,64
цинаризин	480	1,55	4,20	1,19

## Натрієва сіль 2-карбетоксіндандіону I,3

Цілокарпину гідрохлорид	466	0,062	0,26	19,58
Мефолін	454	0,072	0,34	14,74
Хінозол	448	0,250	0,64	7,77
Норадреналіну гідротартрат	455	0,085	0,25	19,84

Аналіз даних табл. I показує, що при взаємодії динітробіндону з лікарськими речовинами з групи солей органічних основ, наприклад, з атропіну сульфатом, диколіном, теоніколом та ін., межа вивчення складає I,13-13,74 мкг/мл; натрієвих солей органічних кислот - гексеналом, барбамілом, натрія бензоатом та ін., а також гексаметилентетраміном - I,12-7,96 мкг/мл. Чутливість реакції лікарських речовин, які є солями органічних основ, гексаметилентетраміну та цинаризіну з динітробіндонкарбоною кислотою більш висока і знаходиться в межах 0,64-5,33 мкг/мл. Цей факт можна пояснити, напевне тим, що в процесі реакції динітробіндонкарбонова кислота утворюється з динітробіндону, що підтверджується необхідністю створення більш жорстких умов при взаємодії лікарських речовин з динітробіндоном.

Німецькі вчені Wislicenus W. та Schlichenmaier H. в 1928 році вперше одержали динітробіндон і динітробіндонкарбонову кислоту, запропонувавши їх будову. Однак до цього часу структура цих реагентів не була досліджена сучасними фізико-хімічними методами /УФ-, ІЧ-, ПМР-спектроскопії і мас-спектрометрії/, що викликало певні сумніви. Тому перед тим, як встановити хімічну будову утворених в процесі реакцій сполук, нами була додатково вивчена структура динітробіндону та динітробіндонкарбонової кислоти. В ІЧ-спектрі динітробіндону відстежігарться змуги поглинання трьох нееквівалентних СО при 1775 і 1745  $\text{cm}^{-1}$  /дві СО групи в дикетоіндановому фрагменті молекули/, 1700  $\text{cm}^{-1}$  /монкетоіндановий цикл/.

В мас-спектрі реагенту фіксуютьсся пік молекулярного іону  $\text{M}^+$  з  $m/z$  364, а кількість двох нітрогруп в ополуці підтверджується первинним фрагментом в  $m/z$  318 -  $[\text{M}-\text{NO}_2]^+$  і вторинним з  $m/z$  288.

Доказом двох нітрогруп в  $\alpha$  положенні інданового циклу

є наявність в ІНФ-спектрі динітробіндону / $D_{12}CO-d_6$ / сигналів тільки для восьми ароматичних протонів в області 7,70-8,25 м.ч.

В мас-спектрі динітробіндонкарбонової кислоти реєструється пік молекулярного іону  $M^+$  з  $m/z$  332. В ІЧ-спектрі присутні смуги поглинання трьох карбонільних груп  $CO$ , положення яких децю видозмінено: 1750 і 1720  $cm^{-1}$  /дві  $CO$ -групи в дикетоіндановому фрагменті/ і 1695  $cm^{-1}$ , яка відноситься до карбоксильної групи, тобто молекулярна маса сполуки, за даними мас-спектроскопії, відрізняється від динітробіндону на 18 а.о.м. Крім того, в ІЧ-спектрі видно смугу вбирання  $OH$  при 3500  $cm^{-1}$ .

Таким чином, можна передбачити, що структура динітробіндонкарбонової кислоти знаходиться у вигляді аци- і нітро-таутомерів такої будови:



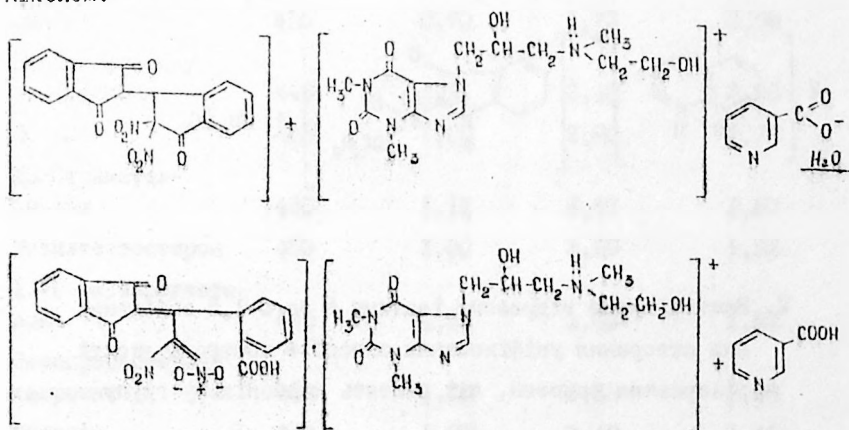
Для встановлення хімічної будови утворених сполук були проведені досліді по препаративному синтезу на прикладі реакції динітробіндону з теоніолом, гексеналом, сульфацил натрієм, динітробіндонкарбонової кислоти - з теоніолом. Попередньо, оптичними методами ізомоларних серій, насичення, Асмуса було встановлено, що обидва реагенти взаємодіють з лікарськими речовинами в еквімоларних співвідношеннях 1:1.

Синтез цільових продуктів був здійснений в умовах, аналогічних кількісному визначенню субстанцій даних лікарських речовин, а їх індивідуальність доведена ТІХ в деяких системах розчинників.

В УФ та ІЧ-спектрах одержаних речовин зберігаються смуги

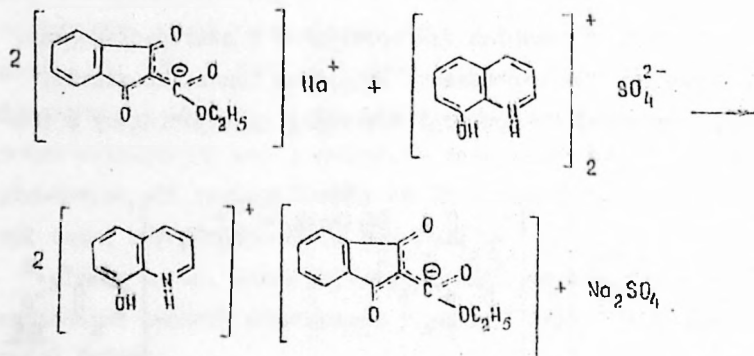
вбирання, характерні як для реагентів, так і для лікарських речовин. Крім того, в ІЧ-спектрах одержаних речовин спостерігаються нові характеристичні смуги, які відповідають валентним коливанням вільних /близько 3500 см<sup>-1</sup>/ OH-груп і близько 1600 см<sup>-1</sup> групи C=N.

Таким чином, в реакціях динітробіндону і динітробіндонкарбонової кислоти можна передбачити утворення іонних асоціатів, що показано на схемі на прикладі взаємодії динітробіндону з теоніколом:



На підставі проведених досліджень було встановлено, що натрієва сіль 2-карбетоксиіндантіону-1,3 є кольорореагентом для лікарських речовин, які вміщують в своїй молекулі катіон органічної основи. Максимальне значення оптичної густини забарвлених продуктів реакції спостерігається в області 430-470 нм при використанні диметилформаміду /ДМФА/ як розчинника і нагріванні реакційної суміші до температури близько 100°C. Чутливість реакції знаходиться в межах від 3,7 до 23,5 мкг/мл. Методами насичення ізомлярних серій, відношення нахилів доведено /на прикладі реакції натрієвої солі 2-карбетоксиіндантіону-1,3 з

пілокарпіну гідрохлоридом, хінозолом/, що реагент і препарат взаємодіють між собою в еквімолярних кількостях. Напевно, хімізм реакції з лікарською речовиною /на прикладі хінозолу/ можна показати як обмін іонами без подовження ланцюга кон'югації:



## 2. Застосування гідразону ізатину і його 1,5-заміщених для створення уніфікованих способів контролю якості лікарських речовин, які містять карбонільну групу

Вивчена реакція гідразону ізатину з лікарськими речовинами, які містять кето- або альдегідну групу. Максимальний вихід забарленого продукту досягається при температурі киплячого водяного огрівника /5-10 хвилин/, використанні як розчинника діоксану /кваліфікація ч.д.а./ і 25-70-кратного надлишку реагенту у вигляді 1% діоксанового розчину. Для кожної пари реагент - карбонільна сполука було визначено оптимальне значення рН реакційного середовища, яке досягається додаванням мінеральних кислот, переважно HCl. В цих умовах були одержані продукти реакції гідразону ізатину з досліджуваними лікарськими речовинами, зняті їх спектри поглинання, встановлені максимуми поглинання і

розраховані аналітичні величини, які характеризують чутливість реакції /табл. 2/.

Таблиця 2

Аналітичні показники чутливості реакції  
гідразон ізатину - лікарська речовина

Речовина	$\lambda$ макс, нм	$\epsilon \cdot 10^{-4}$	$a \cdot 10^2$	$C$ мін, мкг/мл
Гідрокортизону ацетат	450	0,70	1,73	2,89
Гідрокортизону гемісукцинат	445	1,11	2,40	2,08
ДОКСА	445	1,08	2,90	1,72
ДОКСтриметил- ацетат	450	1,11	2,67	1,87
Метилтестостерон	450	1,00	3,29	1,52
17- $\beta$ -оксипрогесте- рон	445	0,99	3,00	1,67
Оксипрогестерону капронат	450	1,08	2,52	1,98
Прегнін	440	1,07	3,42	1,46
Преднізолон	432	2,20	6,10	0,82
Прогестерон	445	1,28	4,06	1,23
Тестостерону пропіонат	455	1,80	5,23	0,96
Грізеофульвін	433	1,20	3,39	1,48
Бікасол	432	0,41	1,25	4,00
Сантонін	425	0,58	2,35	2,13
циміналь	425	1,30	6,78	0,74

При вивченні реакції лікарських речовин із групи 3-кетостероїдів з гідразонами деяких похідних ізатину /3-бром-, 5-нітро-,

Н-бензилізатини/, встановлено, що межа визначення лікарських речовин за реакціями гідразонів 5-бромізатину складає 1,05-3,61, 5-нітроізатину - 1,72-3,71, Н-бензилізатину - 1,10-2,36 мкг/мл, що вказує на підвищення хімічної активності гідразонів ізатину, як реагентів, при введенні в молекулу ізатину електронно-донорних замісників /бензильного радикалу/.

Таким чином, шляхом введення різних замісників в молекулу ізатину, можна регулювати аналітичні властивості відповідних гідразонів по відношенню не тільки до 3-кетостероїдів, а і до інших карбонільвміщуючих лікарських речовин.

Вказане припущення було підтверджено шляхом вивчення реакції прогестерону з різними гідразонами похідних ізатину. При цьому найбільша чутливість реакції спостерігалась у випадку використання як реагента гідразону ізатину, який має електронно-донорні замісники в 1 і 5 положеннях.

В подальшому, шляхом статистичної обробки результатів була знайдена залежність між характером УФ-спектрів похідних гідразонів ізатину і їх аналітичними властивостями, на основі чого було виведено кореляційне рівняння знаходження величини межі визначення /Смін, мкг/мл/ досліджуваних сполук.

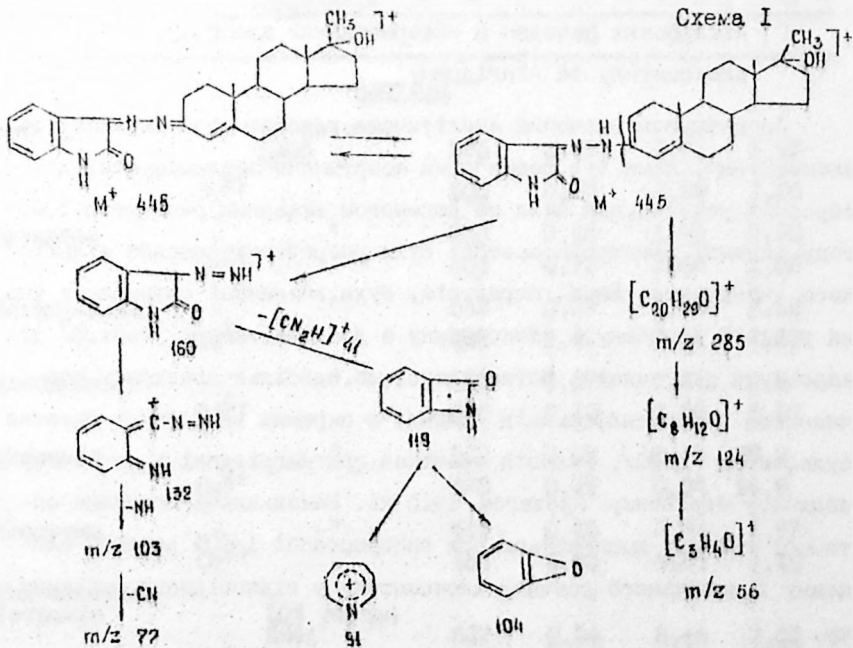
Склад продуктів реакції гідразону ізатину з досліджуваними лікарськими речовинами був встановлений на прикладі метилтестостерону, оксипрогестерону калорнату, гідрокортизону ацетату, з застосуванням оптичних методів прямої лінії Асмуса, відносного виходу і обмежено-логіфічного.

Одержані експериментальні дані показують, що гідразон ізатину вступає в реакцію з 3-кетостероїдами в еквімолярних співвідношеннях 1:1; утворюючи забарвлені продукти з максимумом поглинання в області 440-455 нм. Наявність в молекулі преднізолону 2-х подвійних зв'язків веде до гіпсохромного зміщення



максимуму смуги абсорбції до 43% нм.

Для встановлення будови продуктів реакції гідразон ізатину з 3-кетостероїд був здійснений препаративний синтез і виділені продукти реакції з гідрокортизону ацетатом, метилтестостероном, преднізолоном, індивідуальність яких була доведена ТЛХ. Для одержаних сполук були вимірені УФ-, мас-спектри, встановлений елементний склад, що дало можливість довести їх хімічну будову. Для прикладу приводимо схему мас-спектрального розпаду продукту реакції гідразону ізатину з метилтестостероном /схема 1/.



В мас-спектрі передбаченого нами азіну метилтестостерону зареєстровані піки молекулярного іону  $M^+$  з  $m/z$  445, що відповідає складу виділених сполук, а також піки, які відповідають складовим частинам молекули. Для залишку гідразону ізатину характерні ула. корі іони з  $m/z$  160, 146, 132, 103, 91, 77, 55.

ВАПОРИВЬКИЙ  
УНІВЕРСИТЕТ  
БІБЛІОТЕКА

Утворений азотропілієвий іон з  $m/z$  91 підтверджує літературні дані про мас-спектральний розпад молекули гідразону ізатину.

Залишок метилтестостерону підтверджується уламковими іонами з  $m/z$  285, 124, 122, 56, що ідентично мас-спектру субстанції метилтестостерону.

Результати проведених досліджень були використані для кількісного визначення досліджуваних лікарських речовин в лікарських формах заводського та екстериторального приготування.

### 3. Розробка уніфікованих способів контролю якості лікарських речовин з використанням алоксану, алоксантину та нінгідрину

Продовжуючи вивчення аналітичних властивостей алоксану та алоксантину, нами був розширений асортимент азотмішуючих лікарських речовин, для яких за допомогою вказаних реагентів і методу видимої спектрофотометрії були розроблені способи кількісного визначення. Нами, передусім, були вивчені оптимальні умови реакції алоксану і алоксантину з досліджуваними /таб.3/ лікарськими речовинами. Встановлено, що найбільш придатним розчинником є диметилформамід /ДМФА/, в окремих випадках - диметилсульфоксид /ДМСО/. Реакція протікає при нагріванні в киплячому водному ограднику протягом 12-15 хв. Максимальна величина оптичної густини досягається при використанні 1-10% розчину алоксану і насиченого розчину алоксантину у відповідному розчиннику.

Використовуючи літературні дані відносно підвищення чутливості і стійкості продуктів реакції, нами з цієї метою вводились в реакційну суміш катіони деяких металів / $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ / у вигляді 5% водних розчинів /1мл/.

В оптимальних умовах були одержані продукти реакції алоксану і алоксантину з досліджуваними лікарськими речовинами,

зняті їх спектри поглинання, встановлені максимуми поглинання і розраховані аналітичні величини, які характеризують чутливість реакції. В табл.3 приведені катіони металів, в присутності яких оптична густина, яка досягається, максимальна.

Таблиця 3

Аналітичні показники реакцій алоксану, алоксантину і цінгідрину з лікарськими речовинами

Лікарська речовина	Me <sup>2+</sup>	Концентрація: реагенту, розчинник	λ <sub>макс</sub> , нм	ε · 10 <sup>-4</sup>	a · 10 <sup>2</sup>	Сміч. мкг/мл
1	2	3	4	5	6	7
<u>Алоксан</u>						
Бутамід	-	5% розчин, ДМФА	526	0,46	1,71	2,93
	Ca <sup>2+</sup>		530	0,73	2,69	1,86
Букарбан	-	" "	530	0,46	1,70	2,93
	Ca <sup>2+</sup>		480	0,72	2,66	1,88
Хлорпропамід	-	" "	532	0,37	1,35	3,69
	Ca <sup>2+</sup>		482	0,91	3,31	1,51
Хлоцикламід	-	" "	520	0,076	0,24	20,5
	Ca <sup>2+</sup>		475	0,18	0,68	8,57
Цикламід	-	" "	522	0,03	0,13	39,0
	Ca <sup>2+</sup>		478	0,99	0,34	14,8
Кватерин	-	" "	515	0,46	2,54	1,97
	Co <sup>2+</sup>		484	0,83	4,54	1,10
Гексаметилен-тетраміні	-	10% розчин ДМФА	522	0,34	2,46	2,03
	Ca <sup>2+</sup>		485	0,60	4,28	1,17
Леводопа	-	1% розчин, 50% ДМФА	587	0,34	1,71	2,93
	Ca <sup>2+</sup>		482	0,54	2,72	1,84
L-аргінін	-	1% розчин, ДМФА	530	0,55	2,62	1,91
	Ca <sup>2+</sup>		485	0,71	3,36	1,49

## Продовження таблиці 3

I	: 2 :	3	: 4 :	5	: 6 :	7
Метіонін	-	1% розчин,	528	0,56	0,74	1,34
	Cd <sup>2+</sup>	ДМФА	482	1,06	7,07	0,71
Амбен	-	5% розчин,	514	0,27	1,80	2,77
	Cd <sup>2+</sup>	50% ДМФА	475	0,56	3,67	1,36
Гліцирам	-	" - "	530	1,41	1,68	2,91
	Ca <sup>2+</sup>		488	2,12	2,53	1,98
<u>Алксантин</u>						
Бутамід	-	ДМФА	495	0,049	0,18	27,7
	Cu <sup>2+</sup>		469	0,14	0,51	9,74
Букарбан	-	ДМФА	500	0,16	0,59	8,51
	Cd <sup>2+</sup>		478	0,22	0,81	6,15
Хлорпропамід	-	" - "	497	0,043	0,16	32,0
	Cd <sup>2+</sup>		477	0,10	0,37	13,6
Хлоцикламід	-	" - "	498	0,027	0,088	13,6
	Co <sup>2+</sup>	" - "	477	0,077	0,25	20,4
цикламід	-	" - "	494	0,038	0,13	39,0
	Mn <sup>2+</sup>		474	0,069	0,24	21,1
Кватерин	-	" - "	505	0,16	0,90	5,56
	Ca <sup>2+</sup>		478	0,13	0,70	7,14
Амбен	-	50% ДМФА	511	0,036	0,23	21,3
	Cd <sup>2+</sup>		478	0,10	0,67	7,45
Гексаметилен-тетрамін	-	80% ДМСО	530	0,43	3,04	1,65
	Co <sup>2+</sup>		470	0,69	4,93	1,01
<u>Нішгідонн</u>						
Ремантадін	-	2% розчин,	420	0,26	1,19	4,20
		ДМФА	590	0,18	0,84	6,00
Дофанін	-	2% розчин,	425	0,48	3,10	2,47
		ДМФА	565	0,66	4,30	1,16
Кислота аскорбі- нова	-	8% розчин,	415	1,11	6,32	0,79
		80% ДМФА	490	0,92	5,25	0,95

Продовження таблиці 9

I	: 2	: 3	: 4	: 5	: 6	:
Трисамін	3% розчин,	420	0,99	9,09	0,55	
	80% ДМФА	585	0,69	6,33	0,79	
Кислота глутамі- нова	2% розчин,	420	1,30	8,84	0,57	
	ДМФА	602	0,85	5,75	0,87	

Аналіз даних табл.3 свідчить, передусім, про те, що реакція з досліджуваними лікарськими речовинами чутливіша при використанні як реагенту алоксану, ніж алоксантину, в 2,7-9,5 рази. Цей факт побічно може підтверджувати літературні дані утворення алоксану з алоксантину в реакції одержання мурексиду.

При використанні катіонів металів чутливість реакцій зростає в 1,2-3 рази як у випадку використання алоксану, так і алоксантину.

Максимуми поглинання продуктів реакції з алоксаном без додавання катіонів знаходяться в інтервалі 520-532 нм, що відповідає спектральній характеристиці мурексиду, а в реакціях з алоксантином - в області 494-530 нм. При додаванні катіонів металів спостерігається гіпсохромне зміщення на 45 нм і 34-62 нм відповідно.

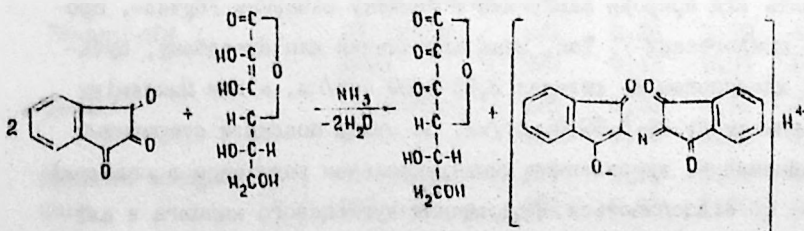
Порівняння чутливості реакції лікарських речовин, похідних бензолсульфосечовини з алоксаном, вказує на те, що вона належить від природи замісника в залишку сечовини /бутил-, пропіл-, циклогексил-/. Так, межа визначення для бумарбану, бутаміду, хлорпропаміду складає 2,93-3,69 мкг/мл, а для цикламіду і клоцикламіду 20,5-39,0 мкг/мл. Це можна пояснити сторичними ускладненнями, зумовленими циклогексильним радикалом в молекулі аміну, що відщеплюється. Подовження вуглецевого ланцюга в аліфатичному радикалі сприяє збільшенню чутливості реакції.

Відомо, що алоксан і алоксантин в реакціях з амінокислотами та іншими азотвміщуючими лікарськими речовинами утворюють амонійну /амінну/ сіль пурпурової кислоти, що підтверджується даними мас-спектру продукту реакції алоксану з бикарбонатом. Однак, окрім основного компоненту /вихід 75-80%/ вдалося зареєструвати при випарюванні /250°C/ домішок іншого продукту /вихід 15-25%/ з піком  $M^+$  з  $m/z$  367.

Продовжуючи вивчення нінгідрину як кольорореагенту в фармацевтичному аналізі, було встановлено, що максимальна оптична густина досягається в середовищі ДМФА при температурі киплячого водяного огрівника.

Спектри поглинання продуктів реакції характеризуються наявністю двох максимумів поглинання в областях 415-425 нм і 565-602 нм. При обраних аналітичних довжинах хвиль нами були розраховані показники чутливості реакції /табл. 3/. При цьому межа визначення лікарських речовин складає 0,55-6,20 мкг/мл.

Хімічна будова утворених забарвлених продуктів нінгідрину з лікарськими речовинами, які вивчаються, напевно, ідентична /близькі  $\lambda_{\text{макс}}$ /. Тому, так як структура утворених продуктів реакції реагенту з аміновміщуючими сполуками відома - це пурпур Руеману, то в реакції між аскорбіновою кислотою і нінгідрином в присутності аміаку можна запропонувати утворення подібного продукту. Цю реакцію можна подати такою схемою:



#### 4. Застосування 2-нітроіндантіона-1,3 і 5-нітробарбітурової кислоти для контролю якості азотвміщуючих лікарських речовин

Попередніми дослідженнями встановлено, що 5-нітробарбітурова /дилітурова/ кислота взаємодіє з утвореними забарвлених продуктів реакції з лікарськими речовинами, похідними первинних ароматичних амінів; 2-нітроіндантіон-1,3 - з сульфаніламідними речовинами, похідними гідразину.

В процесі встановлення найбільш сприятливих умов утворення забарвлених сполук вивчався вплив на величину світлопоглинання природи розчинника, температури, кількості реагенту, рН реакційної суміші і додавання поверхньо-активних речовин.

Оптимальними умовами проведення реакції при використанні як реагенту дилітурової кислоти є: розчинник ДМФА, нагрівання на киплячому водяному огрівнику 3-7 хвилин, застосування 1 мл 1% розчину реагенту; 2-нітроіндантіону-1,3 - розчинник ДМФА, нагрівання 1-10 хвилин, застосування 1-5% розчину реагенту.

Для лікарських речовин близької хімічної структури оптимальні умови приблизно однакові. Величина оптичної густини продуктів реакції практично стабільна протягом 1-3 годин.

Аналітичні показники чутливості реакцій, що вивчаються, представлені в табл. 4.

Аналіз даних табл.4 показує, що дані реакції є достатньо чутливими: межа визначення складає 0,68-2,61 мкг/мл. Встановлено, що додавання твіну-80 підвищує чутливість визначення приблизно в 2 рази.

Склад продуктів реакції дилітурової кислоти, 2-нітроіндантіону-1,3 з даними лікарськими речовинами був встановлений на прикладі анестезину, стрептоциду, ізоніазиду із застосуванням оптичних методів. Одержані експериментальні дані показують, що

кольорореагенти вступають в реакцію з даними речовинами в екві-молярних співвідношеннях 1:1, що, поряд з літературними даними, дає можливість передбачити утворення іонних асоціатів.

Таблиця 4

Аналітичні показники чутливості реакцій  
реагент - лікарська речовина

Лікарська речовина	$\lambda_{\text{макс}}$ , нм	$\epsilon \cdot 10^{-4}$	$a \cdot 10^2$	Смін, мкг/мл
1	2	3	4	5

2 нітроіндандіон-1.3

Стрептоцид	418	0,62	3,59	1,39
Норсульфазол	415	1,10	4,31	1,16
Сульфадимезин	415	0,54	1,95	2,56
Сульфадиметоксин	410	0,60	1,92	2,61
Анестезин	414	0,51	3,12	1,65
Ізоніазид	480	0,61	4,47	1,12
Фтівазид	461	0,69	2,54	1,97
Салюзид	482	1,18	3,60	1,39
Апресин	459	0,62	3,17	1,58
Апресин*	450	1,45	7,34	0,88
Сульфадиметоксин <sup>x</sup>	434	1,47	4,73	1,06

Дилітурова кислота

Стрептоцид	400	1,08	6,24	0,80
Сультгін	402	0,78	3,36	1,48
Уросульфан	400	1,09	4,68	1,07
Сульфацил-натріє	399	1,20	4,72	1,06
Норсульфазол	400	1,44	5,63	0,89
Новокаїнамід	401	1,30	4,78	1,05

\* В присутності твіну-80



Продовження таблиці 4

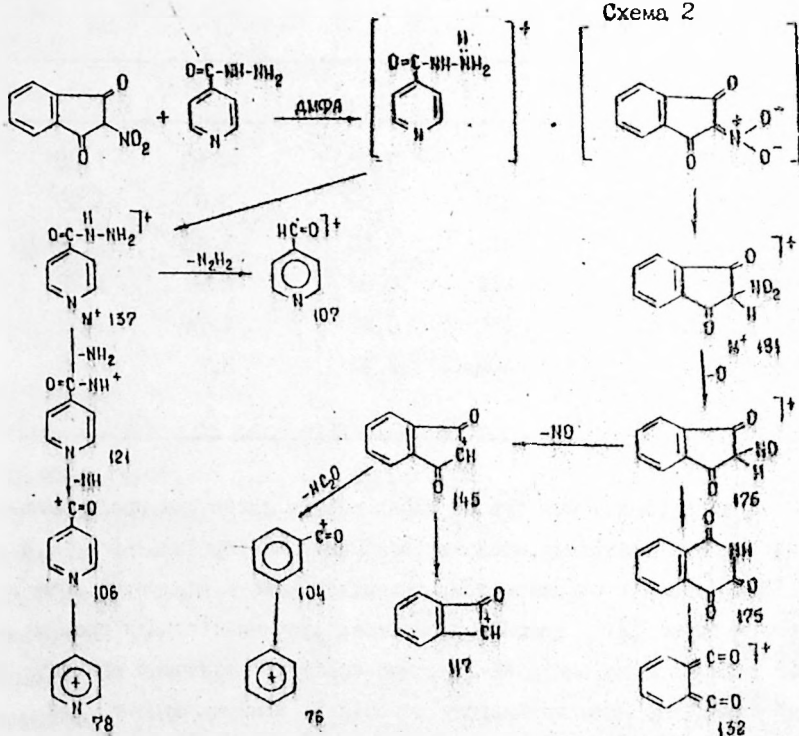
I	:	2	:	3	:	4	:	5
Новокаїн		401		1,26		4,63		1,08
Сульфапїридазин		401		1,09		3,9		1,28
Сульфален		400		1,00		3,58		1,39
Етазол		400		0,82		2,9		1,72
СульфамонOMETOKCИH		399		0,85		2,74		1,83
Норсульфазол-натрїй		402		1,42		3,7		1,35

Для встановлення будови даних сполук здійснили препаративний синтез і виділили продукти взаємодії 2-нітроїндандіону-1,3 з ізонїазидом і стрептоцидом, індивідуальність яких було доведено методом ТШХ в декількох системах розчинників. Для продуктів реакції були виміряні УФ-, мас-спектри, визначено елементний склад, що дало можливість довести їх хімічну будову. Для прикладу наводимо схему мас-спектрального розпаду продукту реакції 2-нітроїндандіону-1,3 з ізонїазидом /схема 2/.

В мас-спектрі присутні іони, характерні для реагенту з  $m/z$  191  $[M^+]$ , 175, 145, 104, 76 та інші крім того, характерна фіксація іонів, властивих ізонїазиду -  $M^+$  з  $m/z$  137, піридиновою частиною молекули з  $m/z$  78, іон  $Ru-CO^+$  з  $m/z$  106, інтенсивний іон з  $m/z$  107 структури 4-піридинальдегіду. Відсутність піку молекулярного іона для іонного асоціату узгоджується з даними літератури.

Приклад реакції 2-нітроїндандіону-1,3 з ізонїазидом можна

подати схемов:



### 5. Розробка уніфікованих способів кількісного визначення біологічно активних речовин з використанням полікарбонільних реагентів, похідних індану, індолу та піримідину

Результати проведених досліджень стали основою для створення уніфікованих способів кількісного визначення даних лікарських речовин як в індивідуальному вигляді, так і в їх лікарських формах.

Спочатку в оптимально визначених умовах проходження реакції були знайдені величини питомих показників поглинання для

лікарських речовин, що вивчаються, і встановити інтервали концентрацій, в межах яких існують підпорядкування світлоблання закону Бера. Розроблені опособи кількісного визначення мали на увазі обробку аналізуючих зразків відповідним реагентом в середовищі необхідного розчинника /діоксан, ДМФА, ДМАА, ДМСО/. Реакції проводились при кімнатній температурі /з динітробіндоном та динітробіндонкарбоновою кислотою/ чи температурі киплячого водного середовища. Оптичну гуштину забарвлених сполук вимірювали при відповідних довжинах хвиль за допомогою спектрофотометрів СФ-21 і СФ-46 в кюветах в товщині робочого шару 1 см.

Для вивчення можливостей використання розроблених методик в НГД при дослідженні якості лікарських препаратів, що вивчаються, було проведено їх кількісне визначення офіційними методами і дана порівняльна метрологічна оцінка одержаних результатів /табл. 5/.

Порівняльний аналіз показав, що:

- результати кількісного визначення пропонованими спектрофотометричними опособами і методами, прийнятими НГД, не несуть систематичної помилки і розраховані значення критеріїв Стюдента не перевищують табличної величини /2,57/;

- розраховані значення коефіцієнта Фішера дозволяють зробити висновок про те, що запропоновані методики не поступаються по якості методикам, прийнятим НГД, розроблені способи в більшості відрізняються від методів, описаних в НГД, простотою виконання, експресністю і високою чутливістю.

Розроблені опособи кількісного визначення були використані для аналізу лікарських форм заводського і екстемпорального виготовлення, котрі вміщують досліджувані інгредієнти. Кількісному визначенню не заважають наповнювачі, стабілізатори, розчинники та різні лікарські речовини, що не містять у своїй

Таблиця 5

Дані порівняльної характеристики оцінки методів кількісного визначення лікарських речовин /n=6, P=95%, Fтабл.=10.97/

Лікарська речовина	Офіційні методи						Розроблені методи					
	$\bar{X}$	$S^2$	$\Delta\bar{X}$	$\epsilon$	tрозр.	Грозр.	$\bar{X}$	$S^2$	$\Delta\bar{X}$	$\epsilon$	tрозр.	
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
Сферозіну бензоат	100,2	0,83	0,96	2,34	0,54	3,59	100,3	0,23	0,51	1,23	1,53	
Сульфацил-натрій	100,9	0,81	0,95	3,30	2,44	2,85	99,73	0,29	0,56	1,39	1,2	
Натрiв-бензоат	100,1	1,96	1,47	3,60	0,17	4,85	99,82	0,40	0,67	1,64	0,69	
Гексаметилен-тетрамін	100,1	1,13	1,11	2,72	0,23	5,45	101,1	0,21	0,48	1,17	0,60	
Нілокарпину гідрокорид	99,77	0,17	0,44	1,07	1,35	5,15	99,73	0,03	0,19	0,47	3,61	
Метолін	99,76	0,74	0,90	0,85	0,69	3,48	99,77	0,21	0,48	1,18	1,23	
Хімосол	99,98	0,67	0,85	2,10	0,06	2,42	100,1	0,28	0,55	1,35	0,47	
Норадреноліну гідротартрат	99,71	1,34	1,21	2,98	0,61	9,37	99,65	0,14	0,40	0,97	0,97	
Гідрокортизону ацетат	99,63	1,40	1,24	3,06	0,76	7,00	99,93	0,2	0,47	1,15	0,36	
ДОКСА	99,55	3,46	1,95	4,80	0,59	4,40	99,93	0,79	0,93	2,28	0,19	
Метилтестостерон	99,93	2,75	1,74	4,26	0,10	7,90	100,0	0,35	0,62	1,52	0,01	
Преднізолон	99,80	3,82	2,05	5,04	0,25	4,20	99,81	0,91	1,00	2,46	0,48	
Прогестерон	99,17	2,72	1,73	4,28	1,23	7,31	100,2	0,37	0,64	1,57	0,80	

## Продовження таблиці 5

I	: 2	: 3	: 4	: 5	: 6	: 7	: 8	: 9	: 10	: 11	: 12
Тестостерону пропіонат	99,75	1,76	1,39	3,41	4,56	1,65	100,1	1,06	1,08	2,65	0,19
Грісеофульвін	99,67	0,98	1,04	2,55	0,82	2,21	100,0	0,44	0,70	1,71	0,06
Бумарбан	100,3	1,09	1,10	2,63	0,47	5,79	100,1	0,19	0,46	1,11	0,50
Бутамід	99,94	0,64	0,84	2,06	0,18	4,21	100,0	0,15	0,41	1,00	0,01
Хлорпропамід	100,1	0,99	1,04	2,55	0,25	2,52	99,86	0,39	0,66	1,61	0,55
Метмонін	100,2	0,91	1,00	2,45	0,51	3,08	100,2	0,30	0,57	1,39	0,90
Трисамін	100,2	0,95	1,02	2,5	0,50	2,30	99,81	0,41	0,64	1,66	0,72
Кислота аскорбінова	100,3	0,63	0,83	2,03	0,93	1,83	100,4	0,34	0,61	1,50	1,68
Стрептоцид	100,6	0,85	0,97	2,34	1,70	6,47	100,1	0,31	0,38	0,98	0,46
Сульфін	100,0	0,98	1,04	2,55	0,02	9,35	99,66	0,11	0,34	0,84	2,56
Уросульфам	100,0	1,22	1,16	2,83	1,07	1,83	99,93	0,67	0,85	2,09	0,22
Норсульфазол	100,0	0,46	0,71	2,74	0,10	0,61	100,0	0,75	0,91	2,22	0,08
Новокаїнамід	100,4	0,98	1,04	2,53	1,04	3,47	99,96	0,28	0,56	1,36	0,21
Новокаїн	99,57	0,66	0,85	2,08	0,11	9,59	99,94	0,07	0,28	0,87	0,58
Сульфадіридазин	99,69	0,74	0,90	2,21	0,88	6,99	100,0	0,11	0,34	0,83	0,15
Сульфален	99,93	0,80	0,94	2,29	0,17	8,61	99,99	0,09	0,32	0,78	0,32
Сульфамонетоксин	99,78	0,61	0,66	2,01	0,68	5,29	99,72	0,12	0,36	0,87	2,02
Етазол	99,77	0,39	0,65	1,61	0,91	2,94	100,0	0,13	0,38	0,94	0,32
Норсульфазол-натрій	100,3	0,68	0,87	0,12	1,86	3,22	99,92	0,21	0,48	1,19	0,45
Анестезин	100,2	0,90	1,00	2,44	0,45	7,92	99,98	0,11	0,35	0,87	0,12

Продовження таблиці 5

I	: 2	: 3	: 4	: 5	: 6	: 7	: 8	: 9	: 10	: 11	: 12
Сульфадіметезин	100,2	0,87	0,98	2,40	0,57	8,62	99,67	0,10	0,33	0,82	0,55
Ізоніазид	99,13	0,37	0,62	1,53	3,59	4,86	99,77	0,07	0,28	0,69	2,14
Етиказид	100,0	0,52	0,75	1,85	0,14	1,47	99,92	0,35	0,62	1,52	0,33
Салюзид	99,91	0,52	0,76	1,86	0,30	2,88	99,68	0,18	0,45	1,10	0,69
Амідопірин	100,5	0,66	0,85	2,07	1,57	2,27	99,72	0,29	0,21	1,39	1,28
Апресин	99,99	0,44	0,82	1,71	0,06	2,27	99,72	0,26	0,53	1,31	1,37
Сульфадиметоксин	100,6	0,77	0,92	2,23	0,92	7,09	99,88	0,11	0,34	0,85	0,87

структурі названі раніше функціональні аналітичні групи, які забезпечують позитивну реакцію.

Загалом розроблені способи кількісного визначення для 63 лікарських речовин в субстанції, в 50 прописах складних лікарських форм, приготовлених штучно, 58 - заводського виготовлення, 44 - екстемпорального.

Розроблені нами способи були використані для кількісної характеристики деяких амінокислот і 3-кетостероїдів, в деяких продуктах природного походження. Так, були розроблені методики кількісного визначення амінокислот в густому екстракті мумію, 3% гелі з екстрактом мумію, бджолиному пилку /обніжжі/, настійці валеріани і методики визначення 3-кетостероїдів в екстракті мумію і 5% гелі.

В кількісному визначенні сумарного складу амінокислот в густому екстракті мумію користувались 1% розчином алоксану тригідрату в ДМФА. Реакцію здійснювали при температурі киплячого водиноного сирівника /5-7 хв./ Як робочий стандартний зразок використовувався гліцин /ТУ - 6 09-07-942-77/, який становить 51,8% від загального вмісту амінокислот /табл. 6/. Цей факт було встановлено шляхом дослідження складу мумію з допомогою амінокислотного аналізатора.

Таблиця 6

Амінокислотний склад мумію / г/100 г речовини /

Амінокислоти	: Зразок № 1, : 1 повтор.	: Зразок № 2, : 2 повтор.	: Зразок № 3
1	: 2	: 3	: 4
Лізин	0,08	0,08	0,09
Гістидін	сліди	сліди	сліди
Аргінін	сліди	сліди	0,07
Аспарагінова кислота	0,22	0,23	0,23

Продовження таблиці 6

1	:	2	:	3	:	4
Треонін		0,14		0,15		0,15
Серін		0,12		0,13		0,12
Глутамінова кислота		0,33		0,35		0,34
Пролін		0,14		0,16		0,17
Гліцин		2,1		2,03		2,05
Аланін		0,08		0,09		0,1
Цистін		сліди		сліди		сліди
Валін		0,12		0,12		0,12
Метіонін		0,02		0,02		0,02
Ізолейцин		0,07		0,07		0,07
Лейцин		0,13		0,13		0,13
Тирозин		0,09		0,09		0,1
Фенілаланін		0,08		0,09		0,07
Сума:		3,72		3,74		3,82

В кількісному визначенні 3 кетостероїдів в екстракті мумію як реагент використовувався гідразон ізатину, 1% розчин. Реакція проходила в присутності хлороводневої кислоти при температурі киплячого водного ґривника /10 хв./.

Робочим стандартом зразком був прогестерон, знаходження якого в екстракті мумію було в'ясовано хроматографічно.

Дані методики увійшли в проекти ТФС "Екстракт мумію густий" і "Гель з екстрактом мумію, 5%".

Для кількісного визначення амінокислот в настійці валеріани був розроблений хромато-спектрофотометричний метод, в якому як реагент також використовувався 1% розчин алоксану в ДМФА, а як стандартний зразок речовини свідка - аргініну гідрохлорид.

Визначаючи кількісний вміст амінокислот в обніжці /квітковому пілку/, ми використовували 5% розчин нінгідрину як реагент



і глутамінову кислоту, як робочим стандартним зразком.

Результати кількісного визначення амінокислот і 3-кетостероїдів приведені в таблиці 7.

Таблиця 7

Результати кількісного визначення фармакологічно активних речовин в продуктах природного походження

Об'єкт дослідження	Визначений інгредієнт	Наважка : г/мл	Знайдено : % /г/мл	Метрологічні характеристики
1	2	3	4	5
Екстракт мумію густий	Амінокислотин	0,0276	2,657	$\bar{X}=2,598$
		0,2899	2,604	$S^2=0,2312 \cdot 10^{-2}$
		0,0293	2,526	$s=0,4808 \cdot 10^{-1}$
		0,0304	2,652	$\Delta\bar{X}=0,5044 \cdot 10^{-1}$
		0,0315	2,638	
		0,0321	2,610	
Екстракт мумію густий	3-кетостероїди	0,0892	4,604	$\bar{X}=4,890$
		0,0947	4,808	$S^2=0,03179$
		0,0984	4,990	$s=0,1865$
		0,1008	5,100	$\Delta\bar{X}=0,1956$
		0,1063	5,040	
		0,1117	4,796	
Гель з екстрактом мумію, 5%	Амінокислотин	4,830	0,1228	$\bar{X}=0,1246$
		4,912	0,1231	$S^2=0,8138 \cdot 10^{-5}$
		4,942	0,1212	$s=0,2905 \cdot 10^{-2}$
		5,016	0,1239	$\Delta\bar{X}=0,3017 \cdot 10^{-2}$
		5,124	0,1279	
		5,238	0,1284	
Обніжжя /квітковий пилок/	Амінокислотин	0,0516	32,45	$\bar{X}=32,46$
		0,0532	32,61	$S^2=0,3065$
		0,0551	31,58	$s=0,5536$
		0,0576	33,15	$\Delta\bar{X}=0,5807$
		0,0602	32,11	
		0,0619	32,83	
Настойка валеріани	Амінокислотин	0,04	$7,305 \cdot 10^{-4}$	$\bar{X}=8,070 \cdot 10^{-4}$
		0,04	$7,962 \cdot 10^{-4}$	$S^2=0,2136 \cdot 10^{-8}$
		0,04	$8,519 \cdot 10^{-4}$	$s=0,4622 \cdot 10^{-4}$
		0,04	$8,092 \cdot 10^{-4}$	$\Delta\bar{X}=0,4848 \cdot 10^{-4}$
		0,04	$8,519 \cdot 10^{-4}$	
		0,04	$7,962 \cdot 10^{-4}$	

## ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

1. Вперше використані в практиці фармацевтичного аналізу, як аналітичні реагенти, карбонільміщуючі сполуки - динітробіндон- /2,2-динітро-1,2-ангідро-біс-індандіон-1,3/, динітробіндонкарбонова кислота, /2/1-орто-карбоксіфеніл-2,2-динітрсетиліден/-індандіону-1,3, гідразон ізатину, алоксантин, дилітурова/5-нітробарбітурова/ кислота. Продовжено вивчення аналітичних властивостей таких реагентів, як натрієва сіль 2-карбетоксиіндандіону-1,3, нінгідрин, алоксан, 2-нітроіндандіон-1,3.

2. Науково обґрунтовано і експериментально підтверджено, що динітробіндон, динітробіндонкарбонова кислота і натрієва сіль 2-карбетоксиіндандіону-1,3 є селективними реагентами на лікарські речовини, які є солями органічних основ, органічних кислот, на гексаметилентетрамін і цинаризин; гідразон ізатину і його 1,5-заміщені - для лікарських речовин, які містять в своїй структурі карбонільну групу; алоксан, алоксантин і нінгідрин - на лікарські речовини, які містять аміногрупу або залишок сульфонілсечовини, на гексаметилентетрамін; дилітурова кислота і 2-нітроіндандіон-1,3 є високочутливими реагентами для лікарських речовин, які містять первинну аміногрупу, залишок гідразину, а також амідопірин.

3. Вивчені умови фотометричних реакцій реагентів, похідних індану, індолу та піримідину з лікарськими речовинами різних груп. Встановлено, що оптимальними умовами є:

при використанні динітробіндонкарбоненової кислоти - розчинник діоксан, кімнатна температура;

динітробіндону, гідразону ізатину і його похідних - розчинник діоксан, температура 20-25°C або 98-100°C;

натрієвої солі 2-карбетоксиіндандіону-1,3, нінгідрину,

2-нітроіндандіону-1,3 і дилітурової кислоти – розчинник диметил-формамід /ДМФА/, температура 98-100°C;

алоксану і алоксантину – розчинник ДМФА або диметилсульфоксид /при визначенні гексаметилентетраміну по реакції з алоксантином/, температура 98-100°C, використання катіонів двохвалентних металів, в основному кальцію і кадмію.

4. При вивченні аналітичних показників чутливості /молярний коефіцієнт поглинання, питома поглинання, межа виявлення/ реакції динітробіндоу, динітробіндонкарбонової кислоти і натрієвої солі 2-карбетоксиіндандіону-1,3 з 2I лікарською речовиною, гідразону ізатину і його похідних – з Ib, алоксану, алоксантину та нінгідрину – з Ib, 2-нітроіндандіону-1,3 і дилітурової кислоти з 29 лікарськими речовинами встановлені деякі закономірності між величиною граничного визначення і хімічною будовою реагентів, які вивчаються.

5. На основі вивчення УФ-, ІЧ- і мас-спектрів, даних елементного аналізу продуктів реакції реагентів з лікарськими речовинами, оптичних методів встановлення будови /методи насичення, ізомоларних серій, прямої лінії Асмуса, обмежено логарифмічний, відносного виходу, відношення нахилів/ встановлені склад і хімічна будова утворених сполук. Показано, що в реакціях з динітробіндоном, динітробіндонкарбоновою кислотою, натрієвою сіллю 2-карбетоксиіндандіону-1,3, 2-нітроіндандіоном-1,3, дилітуровою кислотою утворюються іонні асоціати, з гідразоном ізатину – основа Шиффа, з алоксаном і алоксантином амонійні солі пурпуринової кислоти, з нінгідринном – пурпур Фуемана.

6. Вперше розроблені високочутливі опособи ідентифікації і кількісного визначення 19 лікарських речовин в субстанції і 38 прописах лікарських форм по реакціях з динітробіндоном,

динітробіндонкарбоною кислотою і натрівою сіллю 2-карбоксиіндантіону-1,3; 11 субстанцій і, відповідно, 45 прописів лікарських форм – по реакціях з гідразоном ізатину; 12 субстанцій і 26 прописів лікарських форм – по реакціях з алоксаном, алоксантином і нінгідрином, 23 субстанції і 43 прописи лікарських форм по реакціях з 2-нітроіндантіоном-1,3 і дилітуровою кислотою.

Нові запропоновані способи захищено 16 авторськими свідоцтвами СРСР.

7. Порівняльна оцінка результатів визначення проаналізованих лікарських засобів способами, запропонованими нами і затвердженими нормативно технічною документацією показала, що розроблені методи точніші і економічні офіційних приблизно в 1,5-2,5 рази.

8. Розроблені способи спектрофотометричного кількісного визначення в видимій ділянці спектру лікарських речовин, які є солями органічних основ або кислот, вміщуючих первинну аміногрупу, залишок гідразину, залишок сульфонілсечовини, карбонільну групу, відрізняються своєю ефективністю і є актуальними.

9. Розроблені нами способи кількісного визначення можуть бути використанні для характеристики якості лікарських речовин природного походження, що було нами вперше показано при визначенні суми амінокислот в настояці валеріани, екстракті мумію, обніжжі та 3-кетостероїдів в екстракті мумію.

10. Результати експериментальних досліджень розширюють можливості дальшого прогнозування високочутливих, уніфікованих способів аналізу лікарських засобів по функціональним групам із впровадженням нових кольорореагентів і методик фотометричного контролю якості ліків.

Основний зміст роботи викладено в наступних публікаціях:

1. А.с. 976779 СССР, МКИ G 01 N 21/78. Способ определения п-/аминометил/-бензойной кислоты /В.В.Петренко, Б.П.Зоря /СССР/. N 3276310/23-04; Заяв.10.04.81; Для служебного пользования. - 4с.
2. А.с. 101211 СССР, МКИ G 01 N 21/78. Способ определения пахи-карпина гидройодида /Б.П.Зоря, В.В.Петренко, А.Е.Копя /СССР/.- N 3376008/23-04; Заяв.06.01.82; Опубл.15.04.83; Бюл. П 14.- 2с.
3. А.с. 1016735 СССР, МКИ G 01 N 21/78. Способ определения пла-тифиллина гидротартрата /Б.П.Зоря, В.В.Петренко /СССР/. - N 3382650/23-04; Заяв.28.01.82; Опубл.07.05.83; Бюл. K 17.- 3с.
4. А.с. 1018403 СССР, МКИ G 01 N 31/16. Способ определения хино-зола /В.В.Петренко, Б.Т.Ротберг, Б.П.Зоря /СССР/.- F3440626/ 23-04; Заяв.24.05.82; Опубл.15.10.83; Бюл. № 38. - 3с.
5. А.с. 1113719 СССР, МКИ G 01 N 21/78. Способ определения ксан-тинола никотината /Б.П.Зоря, Р.В.Петренко, С.Г.Соломонова /СССР/. N 3682219/23-04; Заяв.14.03.83; Опубл.15.09.84; Бюл. Y 34. - 3с.
6. А.с. 1121608 СССР, МКИ G 01 N 21/78. Способ определения сфе-рофизина /Б.П.Зоря, В.В.Петренко, С.Г.Соломонова /СССР/. N 3613688/23-04; Заяв.30.05.83; Опубл.30.10.84; Бюл.№ 40.-3с.
7. А.с. 1121609 СССР, МКИ G 01 N 21/78. Способ определения на-фтизина /Б.П.Зоря, В.В.Петренко, С.Г.Соломонова /СССР/. N 3616852/23 03; Заяв.08.07.83; Опубл.30.10.84; Бюл. № 40. 3с.
8. А.с. 1239010 СССР, МКИ G 01 N 21/78. Способ определения ди-колина /Б.П.Зоря, В.В.Петренко, С.Г.Соломонова, О.П.Иванова. /СССР/. - N 3688721/23 04; Заяв.22.03.85; Опубл.07.11.86; Бюл. K 41.- 3с.
9. А.с. 1330552 СССР, МКИ G 01 N 21/78. Способ определения ге-ксаметилентетрамина /В.Д.Янчук, В.В.Петренко, Б.П.Зоря, Л.И.Дерюгина /СССР/.- N 4005151/28 04; Заяв.07.01.86; Опубл. 15.08.87; Бюл. K 30.- 4с.
10. А.с. 1411918 СССР, МКИ G 01 N 21/78. Способ количественного

- определения андрогенов /Д.И.Дочинец, В.В.Петренко, Б.П.Зоря /СССР/. - № 4220134/28-04; Заяв.30.03.87; Для служебного пользования. - 4с.
11. А.с. 1484079 СССР, МКИ G 01 N 21/78. Способ количественного определения производных прегнана /Д.И.Дочинец, В.В.Петренко, Б.П.Зоря /СССР/. - № 4306151/28-04; Заяв.14.09.87; Для служебного пользования. - 3с.
12. А.с. 1545754 СССР, МКИ G 01 N 21/78. Способ количественного определения глюкокортикостероидов /Д.И.Дочинец, В.В.Петренко, Б.П.Зоря /СССР/. - № 4389223/30-04; Заяв.09.03.83; Для служебного пользования. - 3с.
13. А.с. 1696977 СССР, МКИ G 01 N 21/78. Способ количественного определения сульфамонотетоксина /В.М.Садивский, В.П.Зоря, В.В.Петренко /СССР/. - № 4780734/04; Заяв.09.01.90; Оpubл. 07.12.91; Бюл. № 45. - 2с.
14. А.с. 1721481 СССР, МКИ G 01 N 21/78. Способ количественного определения ремантадина /И.А.Вирж, В.В.Петренко, В.П.Зоря /СССР/. - № 4793470/04; Заяв.20.02.90; Оpubл. 23.03.92; Бюл. № 11. - 3с.
15. Біржк І.А., Петренко В.В., Зоря Б.П. Спектрофотометричне визначення дофаміну за реакцією з нітгідроксим //Фармац. журн. - 1992. - № 2. - С. 57-58.
16. Валуева Н.В. Корниевский Р.И., Зоря Б.П. Способ определения аргинина в растительных объектах на примере *Valeriana officinalis* L. // "Пути повышения эффективности фармацевтической науки и практики": Науч. тр. /Запорожск. мед. ин-т. - Запорожье, 1991. - С. 385-387.
17. Высокочувствительные реагенты - производные инданциона-1,3 /В.В.Петренко, Б.П.Зоря, Э.В.Моряк и др. //Тез. докл. IV Все союз. конф. по химии дикарбонильных соединений. - Рига, 1986. - С. 161.
18. Динитробиндон - новый реагент для идентификации лекарственных средств - солей, содержащих органических оснований /Б.П.Зоря, В.В.Петренко, Н.А.Кливер, И.Г.Зинченко //Укр. хим. журн. - 1986. - Т. 53, № 4. - С. 421-424.
19. Дочинец Д.И., Зоря Б.П., Петренко В.В. Спектрофотометрическое

- определение дезоксикортикостерона ацетата //Химия природн. соединений. - 1988. - № 2. - С.305-306.
20. Дочинец Д.І., Петренко В.В., Зоря В.П. Кількісне визначення преднізолону в лікарських формах //Фармац. журн. - 1988. № 4. - С.42-46.
21. Дочинец Д.І., Петренко В.В., Зоря В.П. Количественное определение гидрокортизона ацетата в лекарственных формах //Фармация. - 1988. - Т. 37, № 6. - С.52-54.
22. Дочинец Д.І., Артемченко С.С., Зоря В.П. Применение цветореагентов для анализа кислородсодержащих лекарственных средств //III Межинститутская областная конф. молодых ученых и специалистов-медиков по актуальным вопросам теоретич. и практич. медицины: Тез.докл. - Запорожье, -1988. - С.40-41.
23. Дочинец Д.І., Петренко В.В., Зоря В.П. Гидразон изатина - новый реагент для определения 3-кетостероидов //Журн. аналит. химии. - 1989. - Т. 44, № 3. - С.510-513.
24. Зоря В.П., Петренко В.В., Копа А.Е. Специфічний метод якісного та кількісного визначення натрієвих солей похідних барбітурової кислоти //Фармац.журн. - 1982. - № 4. - С.45-47.
25. Зоря В.П. Спектрофотометрическое определение сферофизина бензоата по реакции с динитробиндоном //Химия природн. соедин. - 1983. - № 2. - С.206-207.
26. Зоря В.П., Копа А.Е., Петренко В.В. Спектрофотометрическое определение сульфацила-натрия //Фармация. - 1983. - Т. 32, № 3. - С. 47-48.
27. Зоря В.П., Бурляк В.П., Соломонова С.Г. Применение динитробиндона и динитробиндонкарбоновой кислоты для анализа лекарственных средств //У Всесоюз. конф. по аналитической химии органических соединений: Тез.докл. - Москва, 1984. - С.63.
28. Зоря В.П., Петренко В.В., Кулик И.А. Спектрофотометрическое определение некоторых лекарственных веществ гипогликемического действия //Фармация. - 1989. - Т. 38, № 6. - С.69-71.
29. Зоря В.П., Петренко В.В., Садивокій В.М. Применение динитробиндона для фотометрического определения лекарственных средств //Журн.аналит.химии. - 1991. - Т.46, № 10. - С.2088-2090

30. Зоря В.П., Садивський В.М., Петренко В.В. Использование 2-нитроиндацхиона-1,3 для анализа некоторых противотуберкулезных лекарственных средств //Хим.-фарм.журн. - 1990. - Деп. в БИНИТИ 07.09.90. - № 4928-В 90.
31. Зоря В.П., Соломонова С.Г. Спектрофотометричне визначення стугерону //Фармац.журн. - 1991. - № 6. - С.69-70.
32. Зоря В.П., Постригань И.Г. Применение динитробиндонкарбоновой кислоты для спектрофотометрического определения некоторых лекарственных средств //Пути повышения эффективности фармацевтической науки и практики: Науч.тр. /Запорожск.мед.ин-т. - Запорожье, 1991. - С.369-370.
33. Количественное определение суммы аминокислот в экстракте муки /Р.А.Тронь, В.П.Зоря, В.В.Петренко, Б.А.Головкин //Деп. в НПО "Союзмединформ" 22.01.90. - № 19096.
34. Метод якісного та кількісного визначення деяких холінолітичних і антихолінестеразних лікарських препаратів за реакцією з динітробіндоном /В.П.Зоря, В.В.Петренко, С.Г.Соломонова, Н.Г.Федіна //Фармац.журн. - 1989. - № 3. - С.40-42.
35. Новые аналитические реагенты для 3-кетостероидов /Д.И.Дочинец, В.П.Зоря, В.В.Петренко, Н.А.Кишев //Укр.хим.журн. - 1989. - Т.55, № 4. - С.389-392.
36. Новые хромогенные реагенты на прикладные сульфаниловой и п-аминобензойной кислот //В.М.Садивський, В.В.Петренко, В.П.Зоря и др. //Латв.хим.журн. - 1991. - № 2. - С.240-243.
37. Петренко В.В., Соломонова С.Г., Зоря В.П. Нові методи кількісного визначення букарбанду //Фармац.журн. - 1981. - № 6. - С.37-39.
38. Петренко В.В., Соломонова С.Г., Зоря В.П. Сравнительное изучение взаимодействия препаратов гипогликемического действия с аллоксаном //фармация. - 1982. - Т. 31, № 2. - С.60-61.
39. Повышение эффективности труда провизора аналитика путем использования унифицированных способов анализа //С.С.Артемченко, В.В.Петренко, В.П.Зоря и др. //Оптимизация лекарственного обеспечения и пути повышения эффективности фармацевтической науки: Тез.докл. - Харьков, 1986. - С.192.



40. Положительное решение ВНИИПЭ на выдачу патента по заявке № 4924112/04 028174 от 26.09.91. Способ количественного определения аскорбиновой кислоты /И.А.Биряк, Б.П.Зоря, В.В.Петренко, С.Б.Бут. - Заяв. 03.04.91.
41. Положительное решение ВНИИПЭ на выдачу патента по заявке № 4911014/04 015172 от 30.09.91. Способ количественного определения трисамина /В.В.Афанасьев, И.А.Биряк, В.В.Петренко, Б.П.Зоря. - Заяв. 18.02.91.
42. Применение электронной спектроскопии и цветореагентов для разработки унифицированных методов контроля качества лекарственных средств /В.В.Петренко, Б.П.Буряк, Б.П.Зоря и др. //Основные направления работы по улучшению качества лекарственных средств: Тез.докл. - Харьков, 1983. - С.76.
43. Применение карбонильных реагентов в практике фармацевтического анализа /В.В.Петренко, Б.П.Зоря, З.Б.Моряк и др. //IV съезд фармацевтов УССР: Тез.докл. - Запорожье, 1984. - С. 232.
44. Применение производных изатина, нафтохинона, инданциона I,3 для количественного определения некоторых лекарственных средств /Д.И.Доцинец, С.А.Ласяк, Б.П.Зоря и др. //Актуальные проблемы фармации Западной Сибири и Урала. - Свердловск, 1989. - С.81-84.
45. Садивский В.М., Петренко В.В., Зоря В.П. Спектрофотометрическое определение новокаинамида //Фармация. - 1990. Т. 39, № 3. - С.61-62.
46. Садивский В.М., Петренко В.В., Зоря В.П. Спектрофотометрическое определение сульфаниламидов по реакции с 5-нитробарбитуровой кислотой //Журн.аналит.химии. - 1990. - Т.45, № 3. - С.609-611.
47. Создание унифицированных методик контроля качества лекарственных средств с применением спектрофотометрии на основе реакции с псликарбонильными реагентами/В.В.Петренко, И.А.Мазур, В.П.Зоря и др. //Физико химические методы анализа лекарств: Науч. тр./ВНИИФ. - Москва, 1984. - Т.ХП. - С.108-116.

48. Соловьёва В.П., Зоря Б.П., Шуляк И.В. Разработка состава и биофармацевтические исследования суппозиторий с гризеофульвином //Современные проблемы научной и практической дерматовенерологии: Тез.докл. - Днепропетровск, 1990. - С.121.
49. Соловьёва В.П., Зоря Б.П., Шуляк И.В. Разработка и исследование суппозиторий с гризеофульвином //Пути повышения эффективности фармацевтической науки и практики: Науч. тр. /Запорожск. мед. ин-т, - Запорожье, 1991. - С.138-140.
50. Садивский В.М., Зоря Б.П. Спектрофотометрическое определение амидопирин в лекарственных формах //Там же. - С.378-381.
51. Спектрофотометрическое определение изониазида с помощью 2-нитроинданциона-1,3 /В.В.Петренко, Б.П.Зоря, И.В.Пастухова, Ю.Т.Ротберг //Латв.хим.журн. - 1987. - № 6. - С.724-726.
52. Спектрофотометричне визначення гризеофульвіну за реакцією з гідразоном ізатину /Б.П.Зоря, В.В.Петренко, В.П.Соловйова, І.В.Шуляк //Фармац. журн. - 1991. - № 1. - С.70-71.
53. Спектрофотометричне визначення деяких амінокислот за реакцією з алоксаном /Б.П.Зоря, В.В.Петренко, В.М.Садівський, Е.М.Васма //Фармац.журн. - 1992. - № 5-6. - С.67-68.
54. Способ экстрагирования и характеристика экстракта мумие /Р.А.Тронь, Б.П.Зоря, Б.В.Курмаз, Б.Н.Шматуха //ІУ областна конференція молодих учених і спеціалістів медиків по актуальним вопросам теоретической и практической медицины: Тез.докл. - Запорожье, 1990. - С.60.
55. Способ количественного определения аминокислот в некоторых объектах природного происхождения /В.П.Зоря, Ю.И.Корниевский, Р.А.Тронь, В.С.Доля //Актуальные вопросы фармацевтической науки и практики: Тез.докл. - Курск, 1991. - С. 69-70.
56. Урифіцирована спектрофотометрическая методика количественного определения некоторых первичных ароматических аминов в таблетках /В.М.Садивский, Б.П.Зоря, Н.А.Садивская, Е.Г.Стрижун //Оптимизация промышленного производства и анализа таблетированных лекарственных препаратов. - Львов,

1992. - С.116-118.

57. Фотометрическое определение некоторых лекарственных средств на основе их реакций с динитробиндоном и динитробиндонкарбоновой кислотой /Б.П.Зоря, Н.Г.Федина, П.П.Луцко, В.А.Щумейко //IV Всесоюзн. съезда фармацевтов: Тез.докл. - Казань, 1986. - С.329-330.
58. Ялчук В.Д., Постренко В.В., Зоря В.П. Спектрофотометричне визначення гексаметилентетраміну за реакцією з алоксантином //Фармац. журн. - 1987. - № 5. - С.43-46.