



С.Л. Загородній<sup>1,2</sup>, С.О. Васюк<sup>1</sup>

## Спектрофотометричне визначення димедролу в таблетках

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

<sup>2</sup>Науково-дослідний експертно-криміналістичний центр при ГУМВСУ в Запорізькій області

**Ключові слова:**  
спектрофотометрія, димедрол,  
бромтимоловий синій,  
кількісне визначення.

Розроблено нову спектрофотометричну методику кількісного визначення димедролу за реакцією його взаємодії з бромтимоловим синім у середовищі ацетону і вимірюванням абсорбції продукту реакції у видимій області спектра при довжині хвилі 400 нм. Запропоновану методику застосовано для кількісного визначення димедролу у двох лікарських формах (таблетках, вироблених різними українськими фармацевтичними підприємствами). Визначено основні валідаційні характеристики за Державною фармакопеею України. За отриманими експериментальними даними, методика може бути коректно відтворена та придатна для використання в лабораторіях Державної інспекції з контролю якості лікарських засобів, а також ВТК хіміко-фармацевтичних підприємств і криміналістичних лабораторіях.

### Спектрофотометрическое определение димедрола в таблетках

С.Л. Загородний, С.А. Васюк

Разработана новая спектрофотометрическая методика количественного определения димедрола по реакции его взаимодействия с бромтимоловым синим в среде ацетона и измерении абсорбции продукта реакции в видимой области спектра при длине волны 400 нм. Предложенная методика применена для количественного определения димедрола в двух лекарственных формах (таблетках, производимых различными украинскими фармацевтическими предприятиями). Определены основные валидационные характеристики по Государственной фармакопее Украины. Согласно полученным экспериментальным данным, методика может быть корректно воспроизведена и пригодна для использования в лабораториях Государственной инспекции по контролю качества лекарственных средств, а также ОТК химико-фармацевтических предприятий и криминалистических лабораториях.

**Ключевые слова:** спектрофотометрия, димедрол, бромтимоловый синий, количественное определение.

### Spectrophotometric determination of diphenhydramine in tablets

S.L. Zagorodniy, S.O. Vasyuk

A new spectrophotometric method of quantitative determination of dimedrol based on its interaction with bromthymol blue in acetone solution and measuring the absorption of the reaction product in the visible spectrum at a wavelength of 400 nm. The method was used for quantitation of dimedrol in two dosage forms - tablets produced by various Ukrainian pharmaceutical companies. The basic characteristics validated by the State Pharmacopoeia of Ukraine. According to the obtained experimental data, the technique can be correctly reproduced and is suitable for use in pharmaceutical and forensic analytical laboratories.

**Key words:** spectrophotometry, diphenhydramine, bromthymol blue, quantification.

Димедрол є одним із найпоширеніших представників антигістамінних препаратів, блокаторів H<sub>1</sub>-рецепторів. Він характеризується вираженою антигістамінною активністю, має місцевоанестезуючу, спазмолітичну дію. Важливою особливістю димедролу є його вплив на центральну нервову систему, що зумовлює седативну та протиблювотну дію [11]. Терапевтична активність димедролу та невисока ціна забезпечує його популярність серед хворих і виробників фармацевтичних препаратів. Крім цього, виражена дія на центральну нервову систему призвела до поширення випадків зловживання димедролом у немедичних цілях для потенціювання дії наркотичних засобів і психотропних речовин [9].

Зважаючи на наведені факти, забезпечення контролю якості лікарських форм, що містять димедрол, залишається актуальною проблемою для сучасного фармацевтичного аналізу [11, 12], а криміналістичний хімічний аналіз потребує простих і надійних методів кількісного аналізу димедролу у лікарських формах та інших матрицях. Вирішити це питання можливо шляхом розробки

нових доступних і високочутливих методик кількісного визначення даної речовини.

У спеціалізованій літературі описано способи кількісного визначення димедролу, які ґрунтуються на використанні високоефективної рідинної хроматографії, що характеризуються високою селективністю та точністю, але потребують складного дорогого обладнання та дорогих розчинників високого ступеня чистоти [7]. Відомі методики аналізу димедролу за допомогою газової хроматографії, недоліком яких є тривалий час аналізу [2], а також капілярного електрофорезу [3] та атомно-емісійної спектроскопії [5], що вимагають використання приладів з дорогими витратними матеріалами. Також існують методики кількісного визначення димедролу, основані на титриметрії [8], що, попри простоту та доступність, не відзначаються високою селективністю і досить складні у виконанні. Відомі також кілька методик спектрометричного визначення димедролу. Одні з них базуються на вимірюванні оптичної густини розчину після екстракції продукту реакції димедролу з еріохромом чорним Т, метиловим оранжевим і бромкрезоловим пур-

пурним органічними розчинниками [6], інші базуються на вимірюванні оптичної густини розчину надлишку бромкрезолового зеленого після видалення продукту реакції з димедролом методом екстракції в органічний розчинник [4]. Такі методики характеризуються складною та тривалою пробопідготовкою, що є недоліком для рутинного аналізу.

#### Мета роботи

Розробка зручної, економічної, високочутливої спектрофотометричної методики кількісного визначення димедролу у лікарських формах на основі реакції з бромтимоловим синім і валідація опрацьованої методики.

#### Матеріали і методи дослідження

*Об'єкти дослідження, застосовані реагенти та обладнання*

Протягом дослідження використано робочий стандартний зразок димедролу гідрохлориду та лікарські засоби – таблетки «Димедрол» 0,05 г (ПАТ «Луганський хімфармзавод», Україна), таблетки «Димедрол» 0,05 г (ОВХФП «Біостимулятор», Україна) серії 381211 та 1731108 відповідно.

У якості реактиву та розчинника використовували бромтимоловий синій (БТС) та ацетон.

Аналітичне обладнання: спектрофотометр Specord 200, ваги електронні АВТ-120-5DM, мірний посуд класу А.

*Загальна методика кількісного визначення димедролу гідрохлориду*

Аліквотну частину (0,00028 г) ацетонового розчину димедролу вміщують у мірну колбу ємністю 10,00 мл, обробляють 2,00 мл 2,5% ацетонового розчину БТС і перемішують. Абсорбцію досліджуваного розчину вимірюють на фоні компенсаційного розчину, що не містить досліджуваної речовини, при 400 нм.

#### *Кількісне визначення димедролу у таблетках*

Точну наважку таблеткової маси (0,01463–0,02634 г для таблеток «Димедрол» 0,05 г виробництва ПАТ «Луганський хімфармзавод», Україна та 0,01458–0,02554 г для таблеток «Димедрол» 0,05 г виробництва ОВХФП «Біостимулятор», Україна) розчиняють протягом 3–5 хв у 3 мл ацетону в склянці на 25 мл, фільтрують отриманий розчин у мірну колбу ємністю 25,00 мл, склянку ополіскують двома порціями ацетону по 2 мл, які теж переносять на фільтр, фільтр додатково промивають 2 мл ацетону двічі, доводять отриманий розчин до позначки тим самим розчинником і перемішують. Отриманий розчин (1,00 мл) переносять у мірну колбу ємністю 10,00 мл і аналізують за загальною методикою. Розрахунок вмісту діючої речовини проводять за типовою формулою.

#### Результати та їх обговорення

Аналітичне застосування сульфоталеїнових барвників відоме для кількісного визначення препаратів різних фармакологічних і хімічних груп. Це зумовлено здатністю кислотних форм реагентів утворювати комплекси з переносом заряду з речовинами, що містять основний атом азоту.

На підготовчому етапі дослідження встановлено, що димедрол має основний центр у молекулі, що надає йому можливість утворювати забарвлений продукт за реакцією з сульфоталеїновими барвниками.

Виходячи з даних про розчинність димедролу та сульфоталеїнових барвників, проведено підбір розчинника для даної реакції. Експериментально встановлено, що найдоцільнішим є використання ацетону в якості розчинника, а бромтимолового синього – у якості реагента.

Імовірно, в результаті реакції між димедролом, що має надлишок електронної густини на атомі азоту, та БТС, що виступає донором протонів, утворюється комплекс з переносом заряду. Про це свідчить поява нової смуги поглинання при 400 нм, що відсутня на спектрі реагента (рис. 1).

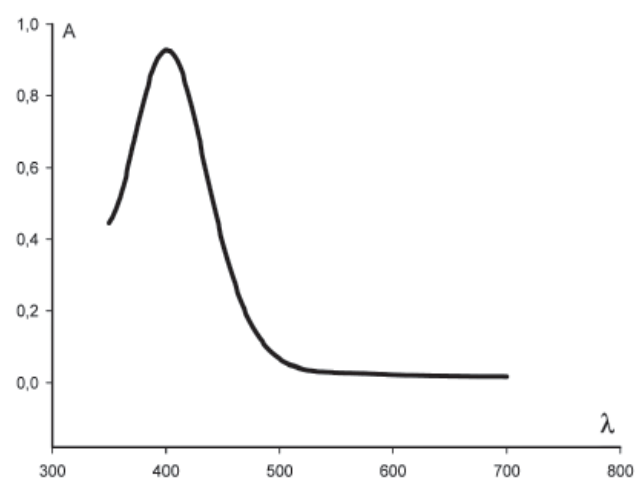


Рис. 1. Спектр поглинання продукту реакції бромтимолового синього з димедролом.

Отже, БТС реагує з димедролом у ацетоновому середовищі з утворенням забарвленого продукту жовтого кольору з максимумом світлопоглинання при 400 нм.

Оптимальну кількість реагента обрано, виходячи з максимального виходу продукту реакції. Температурний і часовий режими у цьому випадку не потребували корекції – реакція перебігає швидко і при кімнатній температурі.

Розраховані значення межі виявлення та молярного коефіцієнта (0,709 мкг/мл та  $2,056 \cdot 10^{-4}$  відповідно) свідчать про високу чутливість реакції.

#### *Валідація аналітичної методики*

За вимогами ДФУ проведено процедуру валідації для розробленої методики. Основні валідаційні характеристики, зокрема лінійність, прецизійність, правильність і робастність, встановлено за стандартизованою процедурою валідації методом стандарту [10].

*Лінійна залежність.* Лінійність визначали у межах концентрацій, що відповідають 80–120% від номінального вмісту таблеток.

Основні показники лінійної залежності наведено у таблиці 1, з якої видно, що лінійність методики підтверджується у всьому діапазоні зазначених концентрацій.

Таблиця 1

## Основні параметри лінійної залежності

| Величина   | Значення              | Критерії  | Висновок   |
|--|-----------------------|---|------------|
| Таблетки «Димедрол» 0,05 г виробництва ПАТ «Луганський хімфармзавод» |                       |   |            |
| $b \pm (s_b)$  | 0,3910 $\pm$ (0,0004) | –   | –          |
| $a \pm (s_a)$  | 0,0012 $\pm$ (0,0006) | $a \leq \Delta a = t(95\%; 3) \cdot S_a = 0,0014$ | відповідає |
| $s_{x,0}(\%)$  | 0,0365                | $\leq \Delta_{As}(\%) / t(95\%; 3) = 1,360$       | відповідає |
| $r$  | 1,0000                | $\geq 0,9963$                                     | відповідає |
| Таблетки «Димедрол» 0,05 г виробництва ОВХФП «Біостимулятор»         |                       |   |            |
| $b \pm (s_b)$  | 2,4666 $\pm$ (0,0365) | –   | –          |
| $a \pm (s_a)$  | 0,0294 $\pm$ (0,0422) | $a \leq \Delta a = t(95\%; 3) \cdot S_a = 0,0993$ | відповідає |
| $s_{x,0}(\%)$  | 0,190                 | $\leq \Delta_{As}(\%) / t(95\%; 3) = 1,360$       | відповідає |
| $r$  | 0,9997                | $\geq 0,9963$                                     | відповідає |

Таблиця 2

## Визначення збіжності результатів кількісного визначення досліджуваних лікарських препаратів (n=9, p=0,95)

| Вміст  | Метрологічні характеристики |                               |       |                                     |
|--|-----------------------------|-------------------------------|-------|-------------------------------------|
|  | $\bar{X}$                   | S                             | RSD   | $\Delta_{x,r} \leq \Delta_{As}(\%)$ |
| Таблетки «Димедрол» 0,05 г виробництва ПАТ «Луганський хімфармзавод» |                             |                               |       |                                     |
| 0,05 г   | 0,0499                      | 4,58 $\cdot$ 10 <sup>-4</sup> | 0,918 | 1,70 < 3,20                         |
| Таблетки «Димедрол» 0,05 г виробництва ОВХФП «Біостимулятор»         |                             |                               |       |                                     |
| 0,05 г   | 0,0500                      | 2,74 $\cdot$ 10 <sup>-4</sup> | 0,548 | 1,02 < 3,20                         |

Таблиця 3

## Визначення правильності методики із застосуванням методу добавок

| $\bar{Z}$  | RSD   | $\Delta_z$ | $ \bar{Z}-100  \leq \Delta_x / \sqrt{n}$ | $ \bar{Z}-100  \leq 0,32 \cdot \Delta_{As}$ |
|--|-------|------------|--|---|
| Таблетки «Димедрол» 0,05 г виробництва ПАТ «Луганський хімфармзавод» |       |            |  |   |
| 100,1  | 1,025 | 1,90       | 0,070 < 0,635                            | 0,070 < 1,024                               |
| Таблетки «Димедрол» 0,05 г виробництва ОВХФП «Біостимулятор»         |       |            |  |   |
| 99,79  | 1,130 | 2,10       | 0,210 < 0,700                            | 0,210 < 1,024                               |

Прецизійність методики визначали для кожної лікарської форми на рівні збіжності. Для цього в кожному випадку проводили дев'ять паралельних визначень (три наважки, три повтори), а за результатами розраховували валідаційні характеристики (табл. 2). Встановлено, що у всіх випадках однобічний довірчий інтервал  $\Delta x$  не перевищує максимально допустиму невизначеність аналізу, тому методика є точною на рівні збіжності.

Правильність в обох випадках визначали методом добавок. Для цього до розчину мінімальної наважки лікарських засобів тричі додавали три різні порції розчину робочого стандартного зразка димедролу. У такий спосіб отримували по три розчини трьох концентрацій димедролу, що лежать у межах підпорядкування основному закону Бера. Далі вимірювали оптичну густину отриманих розчинів. Результати визначень можна вважати правильними, оскільки систематична похибка статистично не відрізняється від нуля, тобто справжнє значення величини не виходить за межі встановленого довірчого інтервалу (табл. 3).

Визначення *робасності* цієї методики виконано на стадії розробки. Для цього визначали стабільність аналітичних розчинів у часі та вплив кількості доданих реагентів на результати визначення. Встановлено, що досліджувані забарвлені розчини стійкі не менше 30 хв, а коливання кількості доданого реагента в межах  $\pm 10\%$  не впливають на величину оптичної густини.

## Висновки

Вивчено умови фотометричних реакцій сульфогалеїнових барвників з димедролом, обрано БТС в ацетоновому середовищі як оптимальний реагент для кількісного визначення димедролу і розраховано аналітичні показники чутливості реакції.

Запропоновано точну, економічну та швидку спектрофотометричну методику кількісного визначення димедролу за реакцією з БТС.

Доведено, що розроблена методика кількісного визначення димедролу, застосована на двох досліджуваних лікарських формах, за такими характеристиками, як лінійність, прецизійність, правильність і робасність є валідною і може використовуватись у фармацевтичних і криміналістичних аналітичних лабораторіях.

**Список літератури**

1. *Sevgi T.U.* Spectrophotometric method for the determination, validation, spectroscopic and thermal analysis of diphenhydramine in pharmaceutical preparation / *Sevgi T.U., Fikriye T.E.* // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy.* – 2010. – Vol. 77. – P. 324–329.
2. *Raj S.V.* Simultaneous determination of pseudoephedrine hydrochloride and diphenhydramine hydrochloride in cough syrup by gas chromatography (GC) / *Raj S.V., Kapadia S.U., Argekar A.P.* // *Talanta.* – 1998. – Vol. 46. – P. 222–225.
3. *Gomez M.R.* Development and validation of a capillary electrophoresis method for the determination of codeine, diphenhydramine, ephedrine and noscapine in pharmaceuticals / *Gomez M.R., Sombra L., Olsina R.A.* // *Il Farmaco.* – 2005. – Vol. 60. – P. 85–90.
4. *Tipparat P.* Determination of diphenhydramine hydrochloride in some single tertiary alkylamine pharmaceutical preparations by flow injection spectrophotometry / *Tipparat P., Lapanantnoppakhun S., Grudpan K.* at al. // *J. of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* – 2002. – Vol. 30. – P. 105–112.
5. *Sabry K.* Atomic emission spectrometric determination of ephedrine, cinchonine, chlorpheniramine, atropine and diphenhydramine based on formation of ion associates with ammonium reineckate / *Sabry K.* // *J. of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* – 1999. – Vol. 22. – P. 697–702.
6. *Akram M. El-D.* Spectrophotometric determination of diphenhydramine hydrochloride in pharmaceutical preparations and biological fluids via ion-pair formation / *Akram M. El-D., Moftah A.M.* // *Arabian Journal of Chemistry.* – 2010. – Vol. 3. – P. 265–270.
7. Optimization and validation of a method for the determination of caffeine, 8-chlorotheophylline and diphenhydramine by isocratic high-performance liquid chromatography: Stress test for stability evaluation / *Barbas C., Garcia A., Saavedra L.* at al. // *J. of Chromatography A.* – 2000. – Vol. 870. – P. 97–103.
8. *Basavaiah K.* Titrimetric and spectrophotometric assay of some antihistamines through the determination of the chloride of their hydrochlorides / *Basavaiah K., Charan V.S.* // *Il Farmaco.* – 2002. – Vol. 57. – P. 9–17.
9. *Шайдукова Л.К.* Классическая наркология / Шайдукова Л.К. – Казань: Институт истории им. Ш. Марджани АН РТ, 2008. – 260 с.
10. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр» – 1-е вид. – Харків: РІРЕГ, 2008. – Доповнення 2. – 2008. – 620 с.
11. *Харкевич Д.А.* Фармакология: учебник для студентов высших учебных заведений / Харкевич Д.А. – М.: ГЭОТАР МЕДИЦИНА, 1999. – 661 с.
12. Компендиум 2008 – Лекарственные препараты / Под ред. В.Н. Коваленко, А.П. Викторова. – К.: МОРИОН, 2008. – 2250 с.

**Відомості про авторів:**

Загородній С.Л., заочний аспірант каф. аналітичної хімії ЗДМУ, експерт науково-дослідного експертно-криміналістичного центру при ГУМВСУ в Запорізькій області.

Васюк С.О., к. фарм. н., професор каф. аналітичної хімії ЗДМУ

Надійшла в редакцію 22.04.2013 р.