

ВИРОБНИЦТВО, КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ, СТАНДАРТИЗАЦІЯ ЛІКІВ

УДК 543.422.3:[547.541.521+547.565]

М. Я. СМОЛІНСЬКА, канд. хім. наук, І. Я. КОЦЮМБАС, д-р вет. наук,

Г. Ю. ТЕСЛЯР, ст. наук. співроб., М. В. ЮРКЕВИЧ, М. Б. СМЕЙКО

Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок, м. Львів

ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ АМІДУ ТА ЕФІРІВ АМІНОБЕНЗОЙНОЇ КИСЛОТИ У СКЛАДІ ГОТОВИХ ЛІКАРСЬКИХ ФОРМ ІЗ ВИКОРИСТАННЯМ КИСЛОТНОГО МОНОАЗОБАРВНИКА ТРОПЕОЛІНУ О

Ключові слова: спектрофотометрія, місцеві анестетики, азосполучення, тропеолін О, готові лікарські форми

У клінічній практиці широко використовують лікарські засоби (ЛЗ), до складу яких входять похідні параамінобензойної кислоти (ПАБК). Так, складні ефіри ПАБК – бензокаїн, прокаїн, оксибупрокаїн, проксиметакаїн – відомі як ефективні місцеві анестетики, прокаїнамід – як протиаритмічний ЛЗ. Для лікування людей використовують прості однокомпонентні лікарські препарати цих біологічно активних речовин (БАР) [1, 2], водночас у ветеринарній медицині переважно використовують комбіновані ЛЗ, до складу яких можуть входити до чотирьох БАР, зокрема антибіотики [3].

Європейська фармакопея, Державна фармакопея України та Британська фармакопея, а також Фармакопея США прописують для визначення вмісту основної речовини у субстанціях прокаїну, прокаїнаміду та бензокаїну використовувати метод нітритометричного титрування, а в субстанціях оксибупрокаїну та проксиметакаїну – неводне титрування перхлоратною кислотою. Для аналізу ж вмісту вказаних БАР у ЛЗ Фармакопея США прописує виключно метод високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ). Особливістю таких ЛЗ, з точки зору аналітичної хімії, є низький вміст діючих речовин. Це потребує використання доволі чутливих методів для контролю якості ЛЗ, оскільки титриметричний метод у цих випадках є практично непридатним для визначення вмісту анестетиків. Альтернативою щодо хроматографічного визначення є спектрофотометричний метод – значно дешевший, доступніший та експресніший, до того ж може використовуватись як рутинний метод у аналітичних лабораторіях фармакопейного контролю. У періодичній науковій літературі для визначення вмісту анестетиків пропонують використовувати різні методики – хроматографічні [4, 5], електрохімічні [6, 7], але найчастіше – спектрофотометричні. Серед рекомендованих мають місце методики, що ґрунтуються на власному світлопоглинанні визначуваних речовин в УФ-ділянці спектра, однак такі методики є неселективними відносно багатьох органічних речовин, що входять до складу ЛЗ як наповнювачі, тому їх використання є також доволі обмеженим [8]. Найбільш ефективними є методики, що ґрунтуються на реакціях анестетиків з органічними реагентами з утворенням забарвлених сполук. Для визначення місцевих анестетиків використовують методики, які ґрунтуються на реакції діазотування ароматичного аміну та азосполучення з етилціаноацетатом [9], хромотроповою кислотою [10]; реакції окиснення анестетиків натрій перйодатом [11], ферумом (III) з наступним утворенням комплексної сполуки феруму (II) з 1,10-фенатроліном [12]; каталітичній дуже чутливій реакції з гемоглобіном [13]. Для більшості цих реакцій характерна низка недоліків, а саме: недостатньо висока чутливість, низька експресність, жорсткі умови реакції, важкодоступність та коштовність реагентів, а понад те, немає даних щодо селективності реакцій відносно інших БАР.

Тому пошук нових реагентів для селективного, чутливого та експресного визначення вмісту анестетиків у складі ЛЗ залишається актуальним завданням аналітичної хімії фармацевтичних препаратів.

Згідно з даними літератури, для визначення анестетиків не використовують барвників, хоча вони є поширеними аналітичними реагентами. Раніше нами розроблено методику спектрофотометричного визначення інших первинних ароматичних амінів – сульфаніламідів з використанням кислотного моноазобарвника тропеоліну О (ТрО) [14]. В основі методики лежить реакція взаємодії діазосолей сульфаніламідів з азо-реагентом з утворенням забарвленої діазосполуки. Методика характеризується високою чутливістю та високим рівнем толерантності стосовно багатьох класів БАР та допоміжних речовин, що можуть входити до складу ЛЗ.

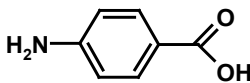
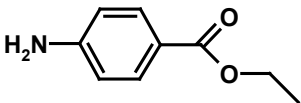
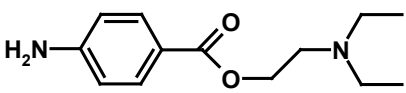
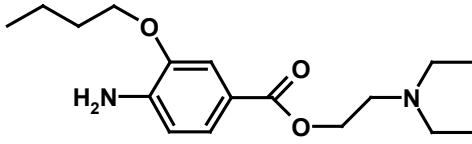
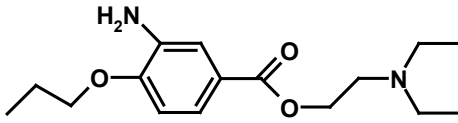
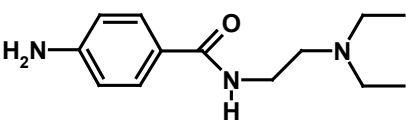
Метою цієї роботи було дослідження взаємодії ПАБК, її амід (прокаїнамід), трьох ефірів (бензокаїн, прокаїн, оксибупрокаїн) та одного ефіру *m*-амінобензойної кислоти (проксиметакаїну) з ТрО для розробки нової спектрофотометричної методики визначення цих первинних ароматичних амінів у готових лікарських формах зі задовільними метрологічними характеристиками.

Матеріали та методи дослідження

Об'єктом дослідження були ПАБК, її амід і три ефіри, а також один ефір *m*-амінобензойної кислоти (табл. 1). Усі використані субстанції виробництва фірми Sigma (вміст основної речовини не менше 99%). Розчини ПАБК і бензокаїну готували розчиненням субстанцій у 96%-му етанолі. Розчини прокаїну, прокаїнаміду, проксиметакаїну та оксибупрокаїну готували розчиненням у воді високоочищеній.

Т а б л и ц я 1

Структурні формули досліджуваних ефірів та амід ПАБК [15]

Лікарська речовина	Структурна формула	М, г/моль	CAS-номер
ПАБК		137,1	150-13-0
Бензокаїн (анестезин)		165,2	94-09-7
Прокаїн (новокаїн)		236,3	59-46-1
Оксибупрокаїн		308,4	99-43-4
Проксиметакаїн		294,4	499-67-2
Прокаїнамід (новокаїнамід)		235,3	51-06-9

Як реагент використовували розчин кислотного моноазобарвника – ТрО С.І. 14270, Merck, (вміст основної речовини не менше 88%), який готували розчиненням точної наважки реактиву у воді високоочищеній.

Розчин натрій нітриту та натрій тетраборату готували розчиненням точної наважки реактиву кваліфікації «ч. д. а.» у воді високоочищеній. Робочі розчини хлоридної кислоти готували розведенням концентрованої кислоти (Sigma), а розчини натрій гідроксиду готували розчиненням реактиву (Merck) у воді високоочищеній.

Спектрофотометричні вимірювання здійснювали на скануючому спектрофотометрі CARY.WIN – UV-VIS-50 (Varian, США) у кюветах з поглинаючим шаром завтовшки $l = 1$ см. Величину рН вимірювали рН-метром РВ 11 (Sartorius, Німеччина) з аргентум-хлоридним електродом порівняння. Необхідне значення кислотності середовища створювали додаванням розчинів хлоридної кислоти та натрій гідроксиду.

Результати дослідження та обговорення

У разі взаємодії діазосолей ефірів та амідів амінобензойної кислоти з азобарвником ТрО на електронних спектрах світлопоглинання продуктів (рис. 1) спостерігають, окрім максимуму світлопоглинання самого барвника при 420 нм, новий максимум при 590–600 нм, оптична густина якого пропорційна концентрації визначуваного аміну в розчині. Тому всі наступні дослідження здійснювали, вимірюючи аналітичний сигнал при 595 нм.

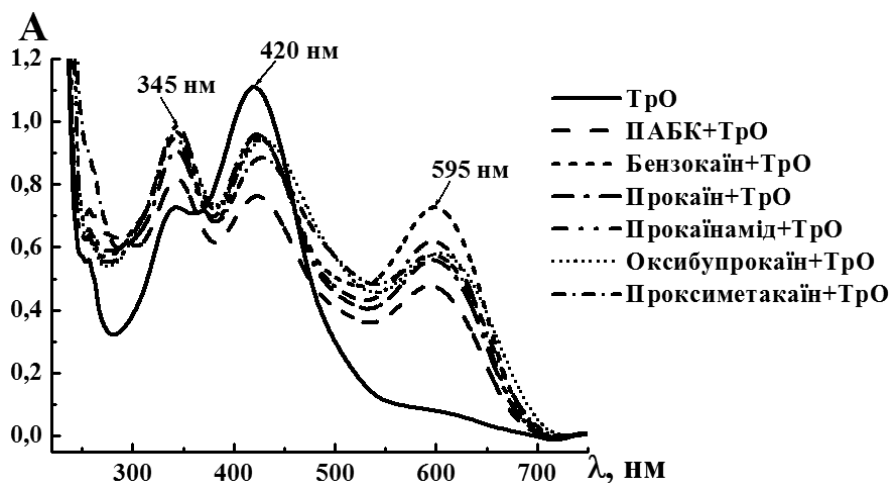


Рис. 1. Електронні спектри світлопоглинання розчину ТрО та продуктів його взаємодії з ефірами та амідами амінобензойної кислоти

$$C_{\text{HCl}} = 1,0 \text{ M}, C_{\text{аміну}} = 3,0 \cdot 10^{-5} \text{ M}, C_{\text{NaNO}_2} = 3,0 \cdot 10^{-3} \text{ M}, C_{\text{ТрО}} = 6,0 \cdot 10^{-5} \text{ M}, \\ C_{\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7} = 0,01 \text{ M}, \text{pH} = 10,5\text{--}11,0$$

Оскільки реакції діазотування та азосполучення відбуваються одна за другою, але в одному реакційному об'ємі, тому було перевірено вплив різних чинників на величину аналітичного сигналу. Згідно з даними літератури, максимальний аналітичний сигнал у разі взаємодії перинних ароматичних амінів з ТрО спостерігають при проведенні реакції діазотування у середовищі 0,5–1 М хлоридної кислоти. Оскільки умови діазотування залежать від природи ароматичних амінів, перевіряли вплив концентрації діазотуючого реагенту натрій нітриту на величину оптичної густини забарвленого продукту реакції. Із рис. 2 випливає, що для одержання стабільного аналітичного сигналу необхідно використовувати для діазотування ефірів та амідів амінобензойної кислоти понад 100-кратний надлишок нітрит-іонів.

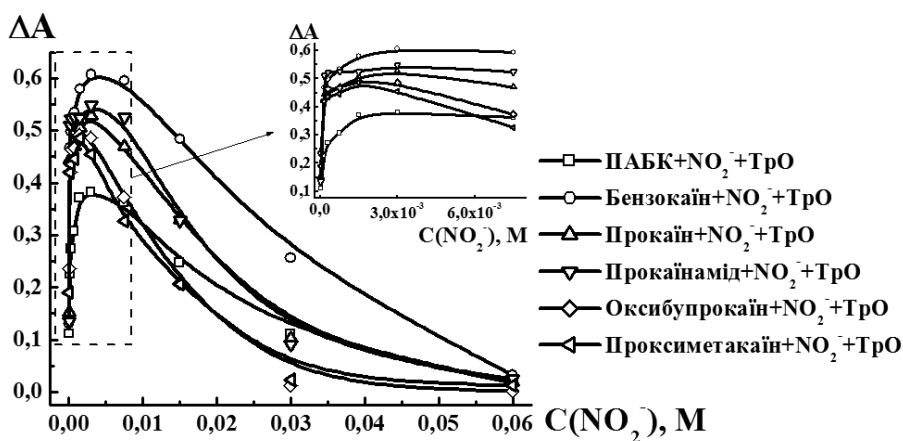


Рис. 2. Вплив концентрації натрій нітриту на взаємодію ефірів та амідів амінобензойної кислоти з TrO

$C_{\text{HCl}} = 1,0 \text{ M}$, $C_{\text{аміну}} = 3,0 \cdot 10^{-5} \text{ M}$, $C_{\text{TrO}} = 6,0 \cdot 10^{-5} \text{ M}$, $C_{\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7} = 0,01 \text{ M}$, $\text{pH} = 10,5\text{--}11,0$, $\lambda = 595 \text{ нм}$

Перевіряли вплив температури на реакцію діазотування, оскільки в усіх класичних підручниках з органічної хімії реакції діазотування пропонують виконувати з використанням льодяної бані. Було встановлено, що у разі проведення реакції діазотування за температури від 0°C до 20°C оптична густина забарвленого продукту реакції зменшується в межах 8–9% (рис. 3), чим можна знехтувати при встановленні оптимальних умов взаємодії амінів з TrO. Тому всі дослідження робили за температури $20\text{--}23^\circ\text{C}$ і тривалості реакції 20 хв.

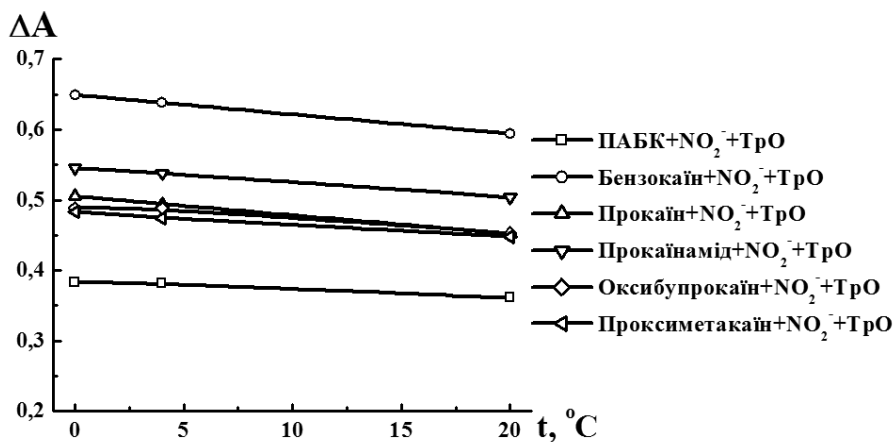


Рис. 3. Вплив температури на взаємодію ефірів та амідів амінобензойної кислоти з TrO

$C_{\text{HCl}} = 1,0 \text{ M}$, $C_{\text{аміну}} = 3,0 \cdot 10^{-5} \text{ M}$, $C_{\text{TrO}} = 6,0 \cdot 10^{-5} \text{ M}$, $C_{\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7} = 0,01 \text{ M}$, $\text{pH} = 10,5\text{--}11,0$, $\lambda = 595 \text{ нм}$

Однією з важливих умов реакції азосполучення є кислотність середовища. Результати досліджень свідчать (рис. 4), що максимальний аналітичний сигнал спостерігають при pH середовища $10,5\text{--}11,0$ у разі взаємодії TrO з ПАБК, бензокаїном, прокаїном, прокаїнамідом та $11,0\text{--}11,5$ у разі взаємодії з оксибупрокаїном та проксиметакаїном. Очевидно, що будова ароматичного аміну впливає на умови взаємодії його діазосолі з азоскладовою,

оскільки оксибупрокаїн та проксиметакаїн відрізняються від інших наявністю в ароматичному кільці разом з аміногрупою бутокси- та пропіокси-груп відповідно.

Що стосується азоскладової, то в межах рН 10–12 ТрО у водних розчинах знаходиться у формі однократно дисоційованого іона, причому в умовах взаємодії зі солями діазонію азо-форма барвника переважає над гідразо-формою [16]. У кислому середовищі взаємодія між діазотованими ароматичними амінами та азобарвником не відбувається, оскільки фенольні та нафтолові сполуки здатні до азосполучення саме в лужному середовищі [17]. Наступні дослідження здійснювали при рН середовища рівного 10,5–11,0 залежно від ароматичного аміну.

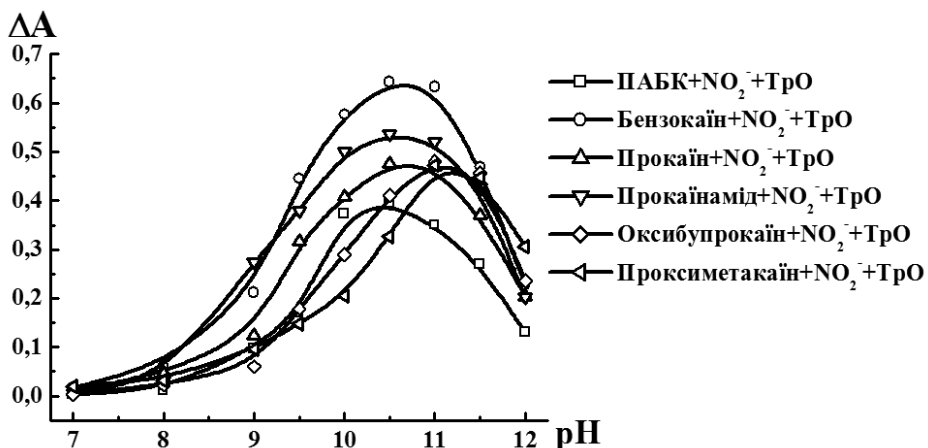


Рис. 4. Вплив кислотності середовища на взаємодію ефірів та амідів амінобензойної кислоти з ТрО

$$C_{\text{HCl}} = 1,0 \text{ M}, C_{\text{аміну}} = 3,0 \cdot 10^{-5} \text{ M}, C_{\text{NaNO}_2} = 3,0 \cdot 10^{-3} \text{ M}, C_{\text{ТрО}} = 6,0 \cdot 10^{-5} \text{ M}, \\ C_{\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7} = 0,01 \text{ M}, \lambda = 595 \text{ нм}$$

Вихід забарвленого продукту реакції сильно залежить від кислотності середовища. Це потребує проведення реакції в середовищі буферного розчину. У межах рН 10–11,5 велику буферну ємність виявляє натрій тетраборат, який було використано у подальших дослідженнях.

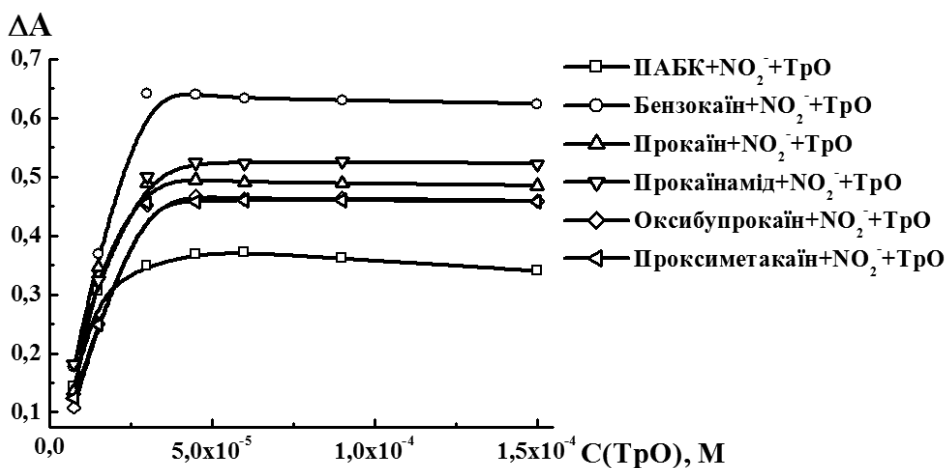


Рис. 5. Залежність виходу продукту взаємодії ефірів та амідів амінобензойної кислоти з ТрО від концентрації азобарвника

$$C_{\text{HCl}} = 1,0 \text{ M}, C_{\text{аміну}} = 3,0 \cdot 10^{-5} \text{ M}, C_{\text{NaNO}_2} = 3,0 \cdot 10^{-3} \text{ M}, C_{\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7} = 0,01 \text{ M}, \text{pH} = 10,5\text{--}11,0, \lambda = 595 \text{ нм}$$

Хоча реакції азосполучення характеризуються співвідношенням реагентів 1:1, однак незначний надлишок одного з компонентів зміщує рівновагу в бік утворення продукту реакції. Тому було досліджено вплив концентрації ТрО на аналітичний сигнал при його взаємодії з діазосіллю ароматичного аміну. Результати досліджень (рис. 5) свідчать про те, що для одержання максимального і стабільного аналітичного сигналу необхідно використовувати еквівалентну та вищу кількості азобарвника. У наступних дослідженнях використовували 2-кратний надлишок ТрО.

Виконані дослідження дали змогу встановити умови взаємодії ПАБК, її трьох ефірів та аміду, а також ефіру *m*-амінобензойної кислоти і розробити нову методику спектрофотометричного визначення. На рис. 6 наведено залежність величини аналітичного сигналу від концентрації аналіту і, як видно з рисунку, ця залежність є лінійною. У табл. 2 подано метрологічні характеристики спектрофотометричного визначення амінів з ТрО.

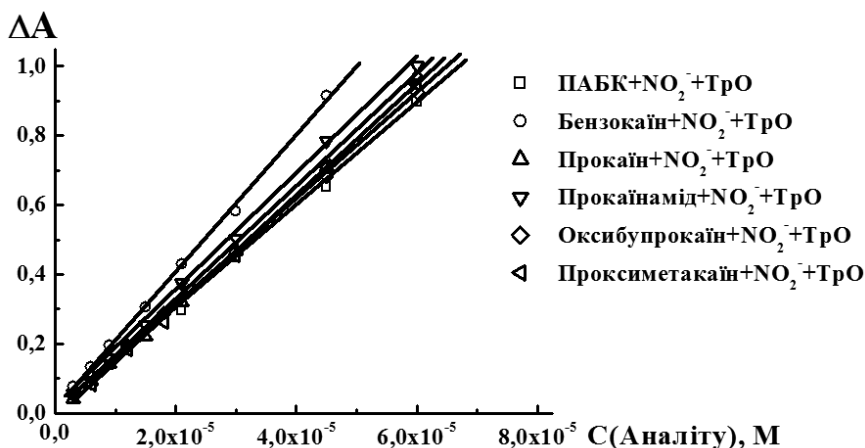


Рис. 6. Залежність величини аналітичного сигналу від концентрації аналіту у разі взаємодії ефірів та амідів амінобензойної кислоти з ТрО
 $C_{\text{HCl}} = 1,0 \text{ M}$, $C_{\text{NaNO}_2} = 9,0 \cdot 10^{-3} \text{ M}$, $C_{\text{ТрО}} = 1,5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, $C_{\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7} = 0,01 \text{ M}$, $\text{pH} = 10,5\text{--}11,0$,
 $\lambda = 595 \text{ нм}$

Таблиця 2

Метрологічні характеристики методики спектрофотометричного визначення ефірів та амідів амінобензойної кислоти з використанням ТрО

Назва субстанції	Лінійність, моль/л (мкг/мл)	Рівняння графіка, C, моль/л (мкг/мл)	$C_{\text{мін}}$, моль/л (мкг/мл)	$C_{\text{цр}}$, моль/л (мкг/мл)	R, моль/л (мкг/мл)
ПАБК	$3,3 \cdot 10^{-6}$ – $6,8 \cdot 10^{-5}$ (0,5–10,3)	$\Delta A = 0,001 + 1,47 \cdot 10^4 \cdot C$ ($\Delta A = -0,007 + 0,117 \cdot C$)	$1,1 \cdot 10^{-7}$ (0,16)	$3,3 \cdot 10^{-7}$ (0,48)	0,9996 (0,9993)
Бензокаїн	$2,5 \cdot 10^{-6}$ – $5,0 \cdot 10^{-5}$ (0,4–8,0)	$\Delta A = 0,003 + 1,97 \cdot 10^4 \cdot C$ ($\Delta A = 0,013 + 0,120 \cdot C$)	$0,9 \cdot 10^{-7}$ (0,14)	$2,7 \cdot 10^{-7}$ (0,42)	0,9993 (0,9993)
Прокаїн	$3,5 \cdot 10^{-6}$ – $6,2 \cdot 10^{-5}$ (0,8–14,2)	$\Delta A = -0,007 + 1,61 \cdot 10^4 \cdot C$ ($\Delta A = 0,001 + 0,062 \cdot C$)	$1,0 \cdot 10^{-7}$ (0,25)	$3,0 \cdot 10^{-7}$ (0,75)	0,9993 (0,9996)
Прокаїнамід	$2,7 \cdot 10^{-6}$ – $6,0 \cdot 10^{-5}$ (0,6–13,3)	$\Delta A = 0,005 + 1,69 \cdot 10^4 \cdot C$ ($\Delta A = 0,005 + 0,072 \cdot C$)	$1,0 \cdot 10^{-7}$ (0,23)	$3,0 \cdot 10^{-7}$ (0,69)	0,9993 (0,9993)
Оксипрокаїн	$3,0 \cdot 10^{-6}$ – $6,5 \cdot 10^{-5}$ (0,9–19,5)	$\Delta A = 0,004 + 1,53 \cdot 10^4 \cdot C$ ($\Delta A = -0,015 + 0,070 \cdot C$)	$1,1 \cdot 10^{-7}$ (0,32)	$3,3 \cdot 10^{-7}$ (0,96)	0,9996 (0,9994)
Проксиметакаїн	$4,0 \cdot 10^{-6}$ – $6,5 \cdot 10^{-5}$ (1,2–19,5)	$\Delta A = -0,008 + 1,61 \cdot 10^4 \cdot C$ ($\Delta A = -0,013 + 0,077 \cdot C$)	$1,0 \cdot 10^{-7}$ (0,32)	$3,0 \cdot 10^{-7}$ (0,96)	0,9997 (0,9991)

Дані табл. 2 свідчать, що розроблена методика характеризується широкими межами лінійності – до 1,5 порядку концентрацій аналітів, достатньо високою чутливістю, співмірною з відомими спектрофотометричними методиками визначання цих БАР.

Т а б л и ц я 3

Результати спектрофотометричного визначання ефірів та амідів амінобензойної кислоти з використанням ТрО у модельних розчинах

Назва субстанції	Введено, мкг	Знайдено	
		$\bar{x} \pm \frac{S \cdot t_{\alpha}}{\sqrt{n}}$, мкг	S_r
ПАБК	100	100 ± 2	0,025
Бензокаїн		101 ± 2	0,031
Прокаїн		101 ± 2	0,027
Прокаїнамід		100 ± 2	0,029
Оксибупрокаїн		100 ± 2	0,034
Проксиметакаїн		101 ± 2	0,032

Правильність розроблених методик перевіряли на модельних розчинах методом «введено–знайдено» способом порівняння. Результати, наведені в табл. 3, свідчать про те, що методики характеризуються високою відтворюваністю, похибка визначення амінів не перевищує похибки спектрофотометричного методу. Тому розроблені методики можуть бути використані для аналізу лікарських форм (ЛФ) ветеринарних та медичних ЛЗ.

Т а б л и ц я 4

Результати спектрофотометричного визначання ефірів та амідів амінобензойної кислоти з використанням ТрО в однокомпонентних ЛЗ

Визначувана речовина (регламентований вміст у препараті)	Встановлені вміст $\bar{x} \pm \Delta x$ (мг/мл) та відносне стандартне відхилення (S_r)	
	методом нітритометричного титрування	спектрофотометричним методом із ТрО
<i>Новокаїн, розчин для ін'єкцій, ЗАТ «Фармацевтична фірма "Дарниця"», м. Київ (допоміжні речовини – натрій хлорид, вода)</i>		
Прокаїн (новокаїн) (20,0 ± 2,0 мг/мл)	20,0 ± 1,0 (0,024)	19,8 ± 1,1 (0,025)
<i>Новокаїнамід-Дарниця, розчин для ін'єкцій, ЗАТ «Фармацевтична фірма "Дарниця"», м. Київ (допоміжні речовини – натрій метабісульфіт, вода)</i>		
Новокаїнамід (100 ± 10 мг/мл)	98 ± 3 (0,025)	100 ± 2 (0,027)
<i>Інокаїн, очні краплі «Promed exports PVT. LTD.» Індія (допоміжні речовини – бензалконій хлорид, борна кислота, ЕДТА, натрій хлорид, натрій гідроксид, вода)</i>		
Оксибупрокаїн (4,0 ± 0,4 мг/мл)	4,1 ± 0,1 (0,028)	4,0 ± 0,1 (0,031)
<i>Алкаїн, очні краплі, «Alcon-Souverein» Бельгія (допоміжні речовини – бензалконій хлорид, гліцерин, хлоридна кислота та/або натрій гідроксид, вода)</i>		
Проксиметакаїн (0,50 ± 0,05 мг/мл)	0,50 ± 0,03 (0,026)	0,49 ± 0,02 (0,024)

Розроблені методики використано для визначення ароматичних амінів у ЛФ – розчинах для ін'єкцій та очних краплях (табл. 4). Пробопідготовку розчинів виконували розведенням відповідної аліквоти препарату етанолом або водою високоочищеною для одержання робочого розчину з концентрацією $7,5 \cdot 10^{-4}$ М. Після цього, до мірної колби ємністю 25,0 мл вносили 5,0 мл 1,0 М хлоридної кислоти, 1,0 мл робочого розчину досліджуваного препарату, додавали 0,5 мл 0,15 М розчину натрій нітриту. Після перемішування суміш витримували впродовж 20 хв за кімнатної температури, вносили 0,5 мл $3,0 \cdot 10^{-3}$ М розчину TrO , 2,5 мл 0,1 М розчину натрій тетраборату, нейтралізували розчином натрій гідроксиду до $\text{pH} = 10,5$ або до $\text{pH} = 11,0$ у разі визначення оксибупрокаїну та проксиметакаїну. Вимірювання інтенсивності світлопоглинання досліджуваного розчину відносно «холостого» розчину (розчин, що містить усі реагенти, окрім аналіту, та пройшов усі стадії реакції) здійснювали при $\lambda = 595$ нм, $l = 1$ см. Концентрацію амінів знаходили способом порівняння.

Результати аналізів, що їх наведено в табл. 4, одержані розробленою методикою з використанням TrO та узгоджуються зі вмістом амінів, заявленим виробником, а також з результатами, одержаними методом нітритометричного титрування. Значення відносного стандартного відхилення S_r не перевищують типових значень похибок у спектрофотометрії.

В и с н о в к и

1. Для розроблення методики досліджено умови взаємодії ПАБК, бензокаїну, прокаїну, прокаїнамід, оксибупрокаїну та проксиметакаїну з моноазобарвником TrO та встановлено умови одержання максимальної кількості забарвлених аналітичних форм.

2. Розроблено експрес-методику спектрофотометричного визначення зазначених ароматичних амінів з використанням барвника TrO зі задовільними метрологічними характеристиками.

3. Доведено придатність використання розробленої методики для аналізу ЛЗ місцевої анестезії, до складу яких входить бензокаїн, прокаїн, оксибупрокаїну або проксиметакаїн, а також ЛЗ протиаритмічної дії на основі прокаїнамід.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. *Беликов В. Г.* Фармацевтическая химия. В 2 ч. Уч. пособие. Ч. 2 – 4-е изд., перераб. и доп. – М.: МЕДпресс-информ, 2007. – 624 с.
2. *Глуценко Н. Н., Плетенева Т. В., Попков В. А.* Фармацевтическая химия: Уч. для студ. сред. проф. учеб. заведений – М.: Изд. центр «Академия», 2004. – 384 с.
3. *Ятусевич А. И., Толкач Н. Г., Ятусевич И. А. и др.* Лекарственные средства в ветеринарии. Справочник. – Минск, 2006. – 410 с.
4. *Kuhlmann O., Stoldt G., Struck H. G. et al.* Simultaneous determination of diclofenac and oxybuprocaine in human aqueous humor with HPLC and electrochemical detection // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 1998. – V. 17, N 8. – P. 1351–1357.
5. *Saini N., Saini K., Nagori B. P. et al.* Determination of benzocaine, chlorbutol, p-dichlorobenzene and a-pinene in pharmaceutical preparation by gas chromatography with flame ionization detector // *Int. J. Pharm. Biol. Arch.* – 2011. – V. 2, N 5. – P. 1529–1533.
6. *Shoukry A. F., Issa Y. M., El-shiekh R. et al.* New ion-selective electrodes for determination of bupivacaine and oxybuprocaine // *Anal. Lett.* – 1991. – V. 24, N 9. – P. 1581–1590.
7. *Reddy T. M., Balaji K., Reddy S. R. J.* Differential pulse adsorptive stripping voltammetric determination of benzocaine and butacaine with nafion modified glassy carbon electrode // *Croat. Chem. Acta.* – 2006. – V. 79, N 2. – P. 253–259.
8. Пат. на корисну модель № у 12831. Спосіб спектрофотометричного визначення концентрації прокаїну гідрохлориду у лікарських формах аптечного приготування / *Світфеева О. А., Георгіяни В. А., Бисага Є. І., Савченко Л. П., Бондарєва Л. В.* – Заявл. 10.12.2009; Опубл. 12.07.2010, Бюл. № 13.
9. *Mohammeda D. H., Sarsamb L. A.* Spectrophotometric determination of benzocaine by azo-dye formation reaction // *J. University of Anbar Pure Sci.* – 2011. – V. 5, N 1. – P. 24–30.
10. *Al-Abachi M. Q., Al-Uzri W. A.* Batch and flow-injection spectrophotometric determination of procaine HCl in pharmaceutical preparations via using diazotization and coupling reaction // *J. Baghdad Sci.* – 2012. – V. 9, N 3. – P. 521–531.

11. *Al-Tamrah S., Al-Abbad S.* Spectrophotometric determination of procainamide hydrochloride using sodium periodate // *Arabian J. Chem.* – 2013. – V. 19, N 10. – P. 1457–1459.
12. *Al-Abdaly Z. Z.* Indirect spectrophotometric determination of benzocaine in pharmaceutical preparations // *J. Raf. Sci.* – 2009. – V. 20, N 1. – P. 38–46.
13. *Chen Y.-H., Tian F.-S., Song M.-P.* Spectrophotometric determination of procaine hydrochloride with hemoglobin as catalyst // *J. Anal. Chem.* – 2009. – V. 64, N 4. – P. 366–370.
14. *Boiko M., Vrublevska T., Korkuna O. et al.* Application of sulphanilamides disazo dyes with Tropaeolin O for simple, rapid and sensitive spectrophotometric assay of medicines // *Spectrochim. Acta A.* – 2011. – V. 79A, N 2. – P. 325–331.
15. *The Merck Index.* / 11-th Ed. *Ranway N. J.* – USA: Merck&Co., Inc., 1989.
16. *Karukstis K. K., Litz J. P., Garber M. B. et al.* A spectral approach to determine location and orientation of azo dyes within surfactant aggregates // *Spectrochim. Acta A.* – 2010. – V. 75, N 4. – P. 1354–1361.
17. *Цоллингер Г.* Химия азокрасителей. Пер. с нем. *Порай-Кошиц Б. А.* – Ленинград: Госхимиздат, 1960. – С. 160–169.

Надійшла до редакції 13. 01. 2015.

М. Я. Смолинская, И. Я. Коцюмбас, Г. Ю. Тесляр, М. В. Юркевич, М. Б. Смейко
Государственный научно-исследовательский контрольный институт ветеринарных препаратов и кормовых добавок, г. Львов

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ АМИДА И ЭФИРОВ АМИНОБЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТЫ В СОСТАВЕ ГОТОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КИСЛОТНОГО МОНОАЗОКРАСИТЕЛЯ ТРОПЕОЛИНА О

Ключевые слова: спектрофотометрия, местные анестетики, азосочетание, тропеолин О, лекарственные формы

АННОТАЦИЯ

Эфиры аминобензойной кислоты широко используют во врачебной практике как эффективные обезболивающие средства местного действия, а ее амид – как противоритмическое лекарственное средство. Особенностью этих лекарственных средств, с точки зрения аналитического контроля, является довольно низкое содержание действующих веществ, что требует использования весьма чувствительных методов контроля их качества. В таких случаях для анализа обычно используют метод высокоэффективной жидкостной хроматографии, который является относительно дорогостоящим и требует достаточно высокой квалификации их исполнителей. В то же время спектрофотометрический метод – значительно дешевле, доступнее и экспресснее, к тому же может использоваться в качестве рутинного метода в аналитических лабораториях.

Целью настоящей работы было исследование взаимодействия *n*-аминобензойной кислоты, ее амида (прокаинамида), трех эфиров (бензокаина, прокаина, оксибупрокаина) и одного эфира *m*-аминобензойной кислоты (проксиметакаина) с азокрасителем тропеолином О для разработки новой спектрофотометрической методики их определения в разных лекарственных формах с удовлетворительными метрологическими характеристиками.

Установлено, что диазосоли аминов взаимодействуют с тропеолином О, образуя окрашенный продукт реакции с максимумом светопоглощения при 595 нм, тогда как сам краситель при этой длине волны свет не поглощает. Исследованы условия взаимодействия диазосолей аминов с азокрасителем – реакция происходит в среде 0,01 М тетрабората натрия при рН 10–11 под действием 2-кратного избытка тропеолина О, а также разработана методика их спектрофотометрического определения. Эта методика характеризуется широкими пределами линейности от 0,4 до 20,0 мкг/мл, в зависимости от определяемого амина.

Проведено определение содержания прокаина, прокаинамида, оксибупрокаина и проксиметакаина в зарегистрированных лекарственных средствах. Полученные результаты согласуются с содержанием аминов, заявленным производителями, а также с результатами, полученными методом нитритометрического титрования.

DETERMINATION OF AMID AND ESTERS OF AMINOBENZOIC ACID IN THE COMPOSITION OF FINISHED DOSAGE FORMS WITH ACIDIC MONOAZO-DYE TROPAEOLIN O

Key words: spectrophotometry, local anesthetics, azocoupling, Tropaeolin O, finished dosage forms

ABSTRACT

Esters of aminobenzoic acid are widely used in medical practice as effective painkillers of local action, and its amide as is an antiarrhythmic drug. The peculiarity of these drugs, in terms of analytical control, is a low content of active ingredients. It requires sufficiently sensitive methods for their quality control. Usually in these cases the HPLC method are used, which are relatively expensive and demand quite high qualification of an operator; while the spectrophotometric method is much cheaper, more accessible, more rapid, and moreover, it can be used as a routine method in analytical laboratories.

The aim of this work was to study the interaction of *p*-aminobenzoic acid and its amide (procainamide), three esters (benzocaine, procaine, oxybuprocaine) and one ester of *m*-aminobenzoic acid (proxymetacaine) with azo-dye tropaeoline O to develop new spectrophotometric method of their determination in various dosage forms with satisfactory validation parameters.

It was established that diazo salts of primary aromatic amines react with tropaeoline O to form the coloured product with the maximum absorbance at 595 nm, while the dye does not absorb the light at this wavelength. The conditions of diazo salts amines interaction with azo dye are as follows: the reaction takes place in the medium of 0,01 M sodium tetraborate at pH 10–11 at 2-fold excess of tropaeoline O. Also the method of these amines spectrophotometric determination has been elaborated. The method possesses a wide linearity range, viz. from 0,4 to 20,0 mg/ml depending on the detectable amine.

The content of procaine, procainamide, oxybuprocaine and proxymetacaine in pharmaceutical medicines was determined. The results are consistent with the content of amines by the manufacturer, as well as with the results obtained by nitritometric titration.

Електронна адреса для листування з авторами: boiko_maria@ukr.net