

ТВЕРДОФАЗНЕ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ НІКОТИНОВОЇ КИСЛОТИ

Одним з найважливіших завдань аналітичної хімії є надійний і експресний контроль якості лікарських препаратів, зокрема тих, які містять вітаміни. Цю проблему неможливо вирішити без використання сучасних аналітичних методів контролю.

Серед багатьох таким комбінованим методом, що дозволяє поєднувати сорбційне концентрування і наступне фотометричне визначення у твердій фазі, є твердофазна спектрофотометрія (ТФС).

В літературі відсутні відомості щодо ТФС визначення такого важливого для людини вітаміну, як нікотинова кислота (НК). Серед інших описані складні методики фотометричного визначення з використанням токсичних речовин для аналізу харчових об'єктів [1-3] і лікарських препаратів [4-6], а також методика титриметричного визначення [6]. З даних табл. 1 слідує, що деякі методики характеризуються невисокою чутливістю. Тому представляло інтерес застосувати метод ТФС для створення нової ефективної методики визначення НК.

Таблиця 1

Метрологічні характеристики методик визначення НК у розчинах

Реагенти	λ_{opt}	М.В., мкг/см ³	Об'єкт аналізу	Література
Роданобромідний розчин+метол	400-425	~0.50	Харчові продукти	[1]
Визначення за Іосіковою: Роданобромідний розчин+спиртовий розчин аніліну	440	~0.44	Харчові продукти	[2]
Визначення за Кьонігом: Фосфатний буфер Соренсена (рН,2)+бромціан+спиртовий розчин аніліну	450	~50.00	Харчові продукти, Лікарські препарати	[3]
НС1+NH ₄ SCN+хлорамін Б+етанол+фосфатний буфер (рН 6,75-7,0)+барбітурова кислота+NaOH	530	~0.80	Аснїтин Нігексин Ніковерин Нікошпан Ксантинол Нікопінат Полвітаміни	[4]
Роданбромідний розчин+метол	440	~5.00	Лікарські препарати	[5]
Титрування NaOH за фенолфталеїном	-	~600.0	Нікотинова кислота	[6]

В роботі використовували вихідні 0.1 М розчини НК, який готували розчиненням точної наважки фармацевтично чистого препарату в гарячій воді і водний розчин NaOH, який стандартизували за щавлевою кислотою. Робочі розчини НК і NaOH різних концентрацій готували розведенням вихідних водою. Розчин діамантового зеленого (ДЗ), готували розчиненням точної наважки барвника кваліфікації "х.ч." в ацетоні. Катіонообмінник КУ-2x8 з розмірами гранул 0.5 мм готували до роботи за стандартною методикою [7]: 10 г КУ-2x8 замочували у п'ятикратному об'ємі насиченого розчину NaCl і залишали на добу для набування, потім розчин декантували. Катіоніт переносили у ділільну лійку, у якій його промивали 5 раз 5%-ним розчином HCl. Об'єм цього розчину в 30 раз перевищував об'єм катіоніту. Потім катіоніт промивали дистильованою водою до нейтральної реакції за метиловим оранжевим. Підготовлений КУ-2x8-Н модифікували ацетоновим розчином ДЗ з розрахунку ~ 0.01 г реагенту на 1 г полімерного катіоніту перемішуючи 30 хв. на магнітній мішалці. Модифікований сорбент відфільтровували, промивали водою і висушували до повітряно сухого стану перед роботою. Отриманий твердофазний барвник представляє собою прозорі світло коричневі гранули, які добре пропускають світло і тривалий час зберігається під водою в щільно закритій темній склянці.

Сорбцію ДЗ катіонообмінником і НК модифікованим сорбентом вивчали в статичних умовах, використовуючи наважки по 0.3 г. Вміст ДЗ в сорбенті визначали фотометрично за змінами оптичної густини рідкої фази при 640 нм. Концентрації НК у рівноважних розчинах визначали титриметрично за допомогою NaOH.

Оптичну густину твердих концентратів вимірювали на КФК-3 ($\ell = 0.1$ см) при $\lambda_{\text{опт}}$ відносно КУ-2x8-N з використанням лавсанової кальки [8], оптичну густину розчинів вимірювали при $\ell = 1$ см, кислотність контролювали за допомогою йонміра И-160.

Підготовка твердої фази до фотометрування полягала в отриманні світлопоглинаючого шару концентрата, рівномірно розташованого в кюветі. Для вимірювань використовували кварцові кювети з паралельними стінками, які заповнювали водою. Концентрат переносили в кювету за допомогою шпетки, іншу кювету аналогічно заповнювали набуклим модифікованим або стандартним йонообмінником такого ж зернення. Світлопоглинання аналізованих проб вимірювали після досягнення максимально можливої щільності укладки гранул у кюветах. Для зменшення розсіювання світла матрицею сорбенту кювету ставили близько до віконця детектора, а між зразком і детектором встановлювали лавсанову кальку.

Спочатку вивчали умови сорбції ДЗ катіонітом, що полягало в контакті ацетонових розчинів ДЗ певних концентрацій об'ємом 50 см^3 з катіонітом ($m_c=0.3$ г) протягом різних проміжків часу.

Дослідження кінетики сорбції ДЗ свідчить, що сорбційна рівновага встановлюється за 30 хв. контакту фаз з ацетонового розчину (рис. 1). Ізотерма сорбції ДЗ представлена на рис. 2. L-форма її може свідчити про міцне закріплення барвника на поверхні катіоніту. Максимальна величина ємності його за ДЗ складає $1.55 \cdot 10^{-5}$ моль/г.

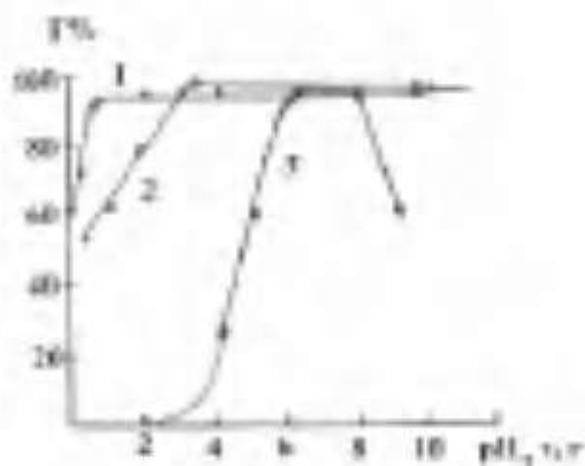


Рис. 1. Залежність Г % від терміну контакту фаз (1,2) і рН (3)

- 1 – ДЗ ($V = 150 \text{ см}^3$, $m_c = 1$ г, $\tau = 20$ хв., ацетон);
- 2 – НК ($V = 50 \text{ см}^3$, $m_c = 0.3$ г, рН-7);
- 3 – НК ($V = 50 \text{ см}^3$, $m_c = 0.3$ г, $\tau = 3$ год.)

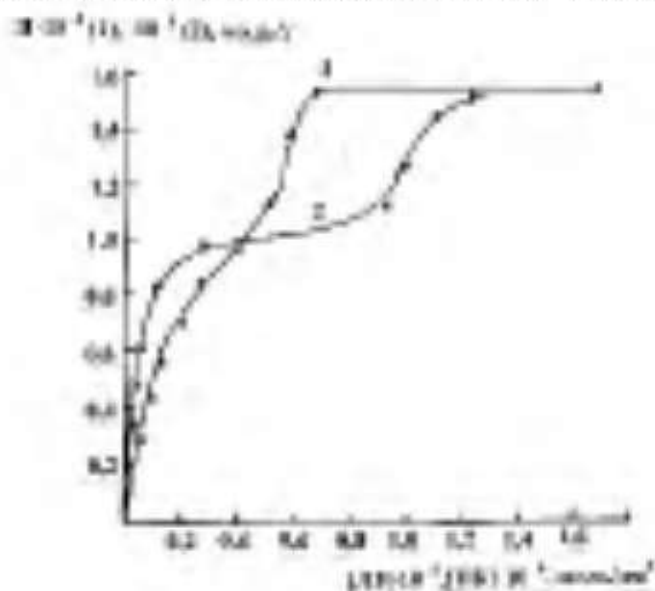
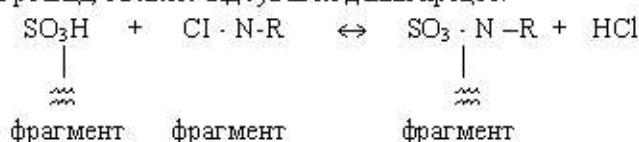


Рис. 2. Ізотерми сорбції ДЗ (1) і НК (2)

- 1 – $V = 150 \text{ см}^3$, $m_c = 1$ г, $\tau = 20$ хв., ацетон, тв. фаза – КУ-2x8-N;
- 2 – $V = 50 \text{ см}^3$, $m_c = 0.3$ г, $\tau = 3$ год., рН-7, тв. фаза – ДЗ-КУ-2x8

Відомо, що здатність основних барвників до утворення і вилучення забарвлених йонних асоціатів (ІА) багато в чому залежить від кислотно-основних властивостей барвників у розчині. Вони можуть утворювати одно-, дво- або тризарядні катіони. Найбільше практичне значення має однозарядна форма (R^+) барвників і інтервал кислотності, у якому ця форма домінує. Крім того, в залежності від кислотності розчину можуть існувати також протонувана (HR^{2+}) і гідролізована (ROH) форми барвників, які не утворюють забарвлених ІА [9]. Для ДЗ⁺ характерна смуга поглинання з $\lambda_{\text{max}}=537$ нм, а протонувана форми ДЗ поглинають при 420-440 нм [10,11]. Але при створенні твердофазного ДЗ перевагу віддали сорбції не з водних, а з ацетонових розчинів, оскільки було встановлено, що в останньому випадку закріплення ДЗ на поверхні міцніше, втрати при промиванні водою практично відсутні.

Нижче наведена схема реакції, за якою відбувався даний процес.



Таким чином, приєднання барвника до підготовленого катіону відбувається за іонообмінним механізмом.

З метою дослідження взаємодії НК з ДЗ у фазі сорбенту спочатку вивчали оптимальні умови утворення такого асоціату.

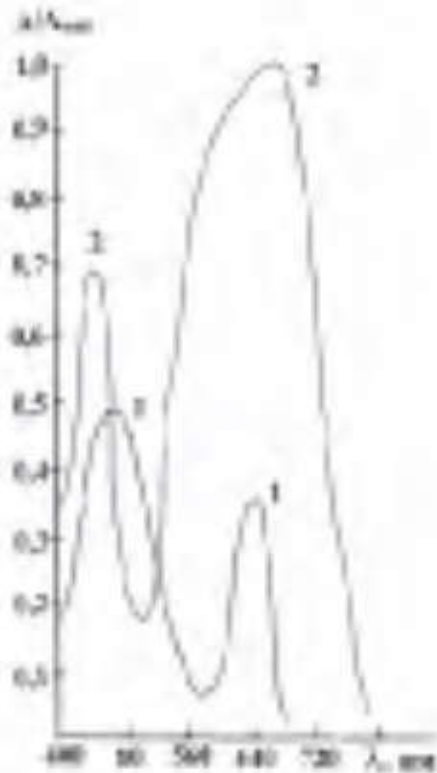


Рис.3. Спектри світлопоглинання модифікованого сорбенту (1) і його асоціату з НК (2)

$V = 50 \text{ см}^3$, $m_c = 0.3 \text{ г}$, $\tau = 3 \text{ год.}$, $\text{pH} = 7$, $\ell = 0.1 \text{ см}$,
відносно КУ-2x8-N і ДЗ-КУ-2x8

На рис. 1 і 2 представлені результати вивчення оптимальних умов утворення твёрдофазної сполуки: $\text{pH} = 6.5-7.8$ термін контакту фаз для досягнення рівноваги – 3 г, комплекс стійкий дві доби. Закон Бера виконується в широкому інтервалі концентрацій НК від $0.1 \cdot 10^{-2}$ до $1.0 \cdot 10^{-2} \text{ М}$, що описується рівнянням: $\Delta A = 0.013 + 0.0125 \cdot m_{\text{НК}}$, мг ; $\lambda_{\text{опт}} = 640 \text{ нм}$. Межа виявлення препарату становить 6.35 мкг/см^3 . В оптимальних умовах гранули модифікованого сорбенту забарвлені у коричневий колір, а бінарних твёрдофазних асоціатів – у зелений різних відтінків та інтенсивності в залежності від концентрації препарату. Цей факт дозволяє запропонувати тест-методи визначення досліджуваного лікарського препарату.

На рис. 2 представлена ізотерма сорбції НК на твёрдофазному ДЗ. Ізотерму сорбції НК можна віднести до L 3 типу, що вказує на хімічну взаємодію НК з твёрдофазним ДЗ і паралельне розташування молекул НК на модифікованому сорбенті. Відсутність насичення свідчить про наявність полімолекулярної адсорбції [12]. Ємність модифікованого сорбенту за НК складає $1.1 \cdot 10^{-3} \text{ моль/г}$.

Далі, враховуючи, що на комплексоутворення ДЗ з НК впливає полімерна матриця сорбенту, розраховувати константу стійкості, мабуть, некоректно. Тому були зроблені певні припущення [13] для розрахунку величин умовних констант стійкості. При цьому використовували початкову ланку ізотерми сорбції (рис. 2) препарату, що відповідає утворенню сполуки із співвідношенням компонентів 1:1.

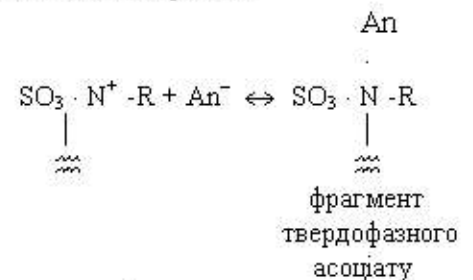
Знаходили умовні константи стійкості за схемою, описаною в роботах [14,15]:

$$\beta_{\text{ум}} = [\text{An-NR-KY-2x8}] / [\text{An}^-] \cdot [^+\text{NR-KY-2x8}]$$

Позначимо рівноважну концентрацію досліджуваного препарату $[\text{An}^-]$ як $C_{\text{тп}}$, рівноважну концентрацію ДЗ на КУ-2x8 – $[^+\text{NR-KY-2x8}]$ як C_L і рівноважну концентрацію твёрдофазного асоціату $[\text{An-NR-KY-2x8}]$ як $C_{\text{ас}}$. Тоді $C_{\text{тп}} = (C_{\text{тп}}^0 - C_{\text{тп}}) \cdot V / m_c$ – концентрація сорбованого препарату, моль/г; $C_{\text{тп}}^0$ – вихідна концентрація досліджуваного препарату, М; $C_{\text{тп}}$ – концентрація препарату у рідкій фазі після сорбції, М; V – об'єм, з якого проводили концентрування (50 см^3), m_c – наважка сорбенту (0.3 г); $C_{\text{тп}}^0 / m_c$ – загальна концентрація барвника в

У відповідності з експериментальними даними у нейтральному середовищі ($\text{pH} = 6.5-7.8$ - рис.1) спостерігається найбільша сорбція НК модифікованим сорбентом, що узгоджується з літературними даними про взаємодію ДЗ^+ в розчині. НК в цих умовах знаходиться у вигляді аніону НК^- ($\text{pK}_a = 4.81$). Відповідні зміни в спектрах поглинання показані на рис.3. Твёрдофазний ДЗ максимально поглинає світло при 480 і 640 нм. йонний асоціат також має два максимуми – при 440 і 660 нм. Зміщення максимумів спектру 1А відносно спектра твёрдофазного ДЗ підтверджує утворення сполуки НК з ДЗ у фазі сорбенту.

Взаємодію НК з ДЗ у фазі сорбенту можна описати наступною схемою реакції:



Імовірно, що асоціат утворюється за рахунок компенсації позитивного заряду на нітрогені ДЗ негативним зарядом карбоксильної групи НК.

перерахунку на масу сорбенту; C_L^0 – const; C_{np}^x – кількість приєднаного препарату, ммоль/л ммоль ліганда – знаходили графічною інтерполяцією за ізотермою сорбції в координатах $C_{np}^x/C_L - C_{np}^0/C_L$, враховуючи, що співвідношення компонентів $C_{np}^0: C_L = 1:1$, тоді $C_{np}^{e_{max}} = 1 - C_{np}^x$.

Отримана умовна константа стійкості асоціату дорівнює $\lg\beta_{ум} = 4.19 \pm 0.05$.

Видно, що досліджуваний препарат утворює в твердій фазі асоціат середньої міцності, що добре корелюється з міцністю закріплення ІА на поверхні.

Результати досліджень були використані для розробки методики ТФС-визначення НК у “Нікошпані”.

Склад препарату: одна пігулка містить дротаверину гідрохлориду – 78 мг; нікотинової кислоти – 22 мг; допоміжних речовин: стеарату магнію, полівідоноу, тальку, крохмалю, лактози $\ll 1$ мг.

Визначення проводили методом добавок: одну пігулку препарату розтирають у фарфоровій ступці, розчиняють у гарячій дистильованій воді, фільтрують крізь фільтр з синьою стрічкою у мірну склянку, охолоджують до кімнатної температури, створюють рН-7, доводять загальний об’єм до 50 см³, вносять 0.3 г твердофазного ДЗ і перемішують протягом 20 хв. і залишають на 3 год. Гранули відбирають піпеткою і вносять в кювету ($l = 0.1$ см), що заповнена дистильованою водою. Оптичну густину гранул вимірюють відносно КУ-2х8 при $\lambda_{opt} = 640$ нм. Аналогічним чином готують ще три проби препарату, які містять крім “Нікошпану” стандартні добавки НК, вносять по 0.3 г твердофазного ДЗ і вимірюють оптичну густину у вищеприписаних умовах.

Вміст нікотинової кислоти визначають, користуючись графічним способом методу добавок. До початку експерименту повинна бути синтезована необхідна партія модифікованого сорбенту, яка зберігатиметься так, як це вказано вище, протягом 6 місяців.

Визначенню НК у препараті “Нікошпан” в оптимальних умовах не заважають: нікотинамід, дротаверин та допоміжні речовини, оскільки не утворюють сполук з твердофазним ДЗ. Правильність отриманих даних визначали методом “внесено-знайдено”. Збіжність результатів, отриманих за допомогою нової методики і стандартної, підтверджує їх достовірність.

Результати представлені в табл. 2. Похибка визначення знаходиться в межах 0.23%.

Таблиця 2

Результати визначення нікотинової кислоти у “Нікошпані” (n = 5, P = 0,95)

Внесено НК, мг	Знайдено НК за (А), мг	S _x	Знайдено НК за (Б), мг	S _x
0	22.05 ± 0.14	0.005	21.94 ± 0.26	0.009
5.0	27.05 ± 0.11	0.003	27.07 ± 0.34	0.010
10.0	31.95 ± 0.17	0.004	32.02 ± 0.26	0.007
20.0	42.02 ± 0.15	0.003	41.93 ± 0.30	0.006

(А) – запропонована методика ТФС-визначення з використанням твердофазного ДЗ; (Б) – стандартна методика фотометричного визначення [5].

Висновки: вивчено комплексоутворення НК з твердофазним реагентом ДЗ. Міцність утворюваного ІА при еквімолярному співвідношенні компонентів характеризується наступною величиною умовної константи рівноваги - $\lg\beta_{ум} = 4.19 \pm 0.05$.

Отримані дані використані для розробки методики ТФС-визначення НК в лікарському препараті “Нікошпан”. Методика характеризується високою чутливістю і за цим показником не поступається кращим фотометричним методикам визначення НК в розчині; простотою експерименту – зокрема не потребує спеціальної пробопідготовки при аналізі різних лікарських препаратів; є екологічно безпечною; не потребує складного коштовного обладнання; на відміну від стандартного титриметричного визначення [6] дає надійні результати не тільки при аналізі препарату НК, а і для композицій, до складу яких вона входить. Методика характеризується задовільною правильністю і відтворюваністю результатів. Похибка визначення становить 0.23%.

РЕЗЮМЕ

Вивчено хімізм взаємодії нікотинової кислоти з діамантовим зеленим у фазі сорбенту, обчислена умовна константа стійкості твердофазного асоціату. Отримані дані використані для розробки нової чутливої і селективної методики твердофазного спектрофотометричного визначення нікотинової кислоти у "Нікошпані".

РЕЗЮМЕ

Изучен химизм взаимодействия никотиновой кислоты с бриллиантовым зеленым в фазе сорбента, рассчитана условная константа устойчивости твердофазного ассоциата. Полученные результаты использованы для разработки новой чувствительной и селективной методики твердофазного спектрофотометрического определения никотиновой кислоты в "Никошпане".

SUMMARY

The interaction of nicotinic acid with brilliant green in the solid-phase was studied the conditional stability constant solid-phase associate was calculated. The receive data was used for creation the new sensitive and selection method of solid-phase definition nicotinic acid in the "Nicosphan".

ЛІТЕРАТУРА

1. Скурихин И.М., Тутельян В.А. Руководство по методам анализа качества и безопасности пищевых продуктов. М.: Брандес-Медицина, 1998. - С.162-167.
2. Шапиро Д.К. Практикум по биологической химии. Минск.: Высш. шк., 1972. - С.97-99.
3. Поллодек-Фабини Р., Бейрих Т. Органический анализ. Л.: Химия, 1981. - С. 487-489.
4. Бейсенбеков А.С., Адибаев Б.М. Методические указания по качественному и количественному анализу никотиновой кислоты и ее амида в лекарственных формах. Алма-Ата.: Изд. мед. ин-та, 1982.- С.3-8.
5. Государственная фармакопея СССР. М.: Медицина, 1990.- Вып.2. - С.52-53.
6. Державна фармакопея України. Харків.: Науково-експертний фармакопейний центр, 2001. - С.396-397.
7. Айвазов Б.В. Практическое руководство по хроматографии. - М.: Высш. шк., 1968. - С.81-88.
8. Николаева Т.М., Лазарев А.И. Определение железа методом твердофазной спектрофотометрии // Заводская лаборатория. - 1992. - Т. 58. - № 10. - С.10-13.
9. Балог Й.С. Образование, свойства, экстракция и аналитическое применение ионных ассоциатов элементов с участием цианиновых и других основных красителей. Автореф. дис... докт. хим. наук: 02.00.02 / ФХИ АН Украины. – Одесса, 1994. - 37 с.
10. Киш П.П., Балог Й.С. Основные трифенил(триарил)метановые и родаминовые красители как реагенты для экстракционно - фотометрического определения кадмия // Журн. аналит. химии. - 1977. - Т. 32. - № 3. - С. 482-489.
11. Запорожець О.А., Жукова К.М., Боряк А.К., Табенська Т.В., Іщенко В.Б., Сухан В.В. Сорбція кадмію (II) та цинку (II) з галогенідних та тиоціанатних розчинів на силікагелі, немодифікованих та модифікованих основними барвниками // Укр. хім. журнал. - 1998. - Т. 64. - № 10. - С.114-118.
12. Парфит Г., Рочестер К. Адсорбция из растворов на поверхностях твердых тел. М.: Мир, 1986. - 475 с.
13. Тертых В.А., Янишпольский В.В. Равновесия комплексобразования и адсорбции на поверхности исходных и модифицированных кремнеземов// Теор. и exper. химия. - 1991. - №3. - С.361-370.
14. Скопенко В.В., Трофимчук А.К., Зайцев В.Н. Исследование взаимодействия неводных растворов меди (II) и кобальта (II) с γ -(2(8)-метилхинолинаминопропилазросилом // Журн. неорг. химии. - 1982. - Т. 27. - № 10. - С.2579-2582.
15. Холин Ю.В., Зайцев В.Н., Донская Н.Д. Выбор модели описания равновесий комплексобразования $CoCl_2$ с аминопропилкремнеземами в диметилформамиде // Журн. неорг. химии. - 1990. - Т. 35, № 6. - С. 1569-1574.

Поступило до редакції 22.10.2006 р.