

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

КРИСЬКІВ ЛЮБОМИР СТЕПАНОВИЧ

УДК 54.062:543.426:542.938:543.42.062:615.074

**РЕАКЦІЇ ПЕРГІДРОЛІЗУ ТА ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ У
ФАРМАЦЕВТИЧНОМУ АНАЛІЗІ**

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

**Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук**

Харків – 2016

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі фізичної та колоїдної хімії Національного фармацевтичного університету Міністерства охорони здоров'я України

Науковий керівник: доктор хімічних наук, професор
БЛАЖЕЄВСЬКИЙ МИКОЛА ЄВСТАХІЙОВИЧ
Національний фармацевтичний університет,
професор кафедри фізичної та колоїдної хімії

Офіційні опоненти: доктор хімічних наук, професор
Гризодуб Олександр Іванович
Державне підприємство "Український науковий
фармакопейний центр якості лікарських засобів"
МОЗ України, м. Харків, в.о. директора, головний
науковий співробітник Відділу Державної Фармакопеї
України

кандидат фармацевтичних наук

Назарова Олена Сергіївна
Державне підприємство «Державний науковий центр
лікарських засобів і медичної продукції»
(ДП «ДНЦЛЗ»), м. Харків, Державна служба України
з лікарських засобів, завідувач лабораторії аналізу
якості і стандартизації лікарських препаратів

Захист відбудеться «31» березня 2016 р. о 10⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.01 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4).

Автореферат розісланий "29" лютого 2016 року.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради,
професор

В.А. Георгіянц

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Незважаючи на порівняно високу чутливість кінетичних методів аналізу та можливість їх легкої автоматизації, застосування цих методів для кількісного визначення функціональних похідних карбонових кислот (естерів, діацилпероксидів, амідів), та нітрилів у субстанціях та лікарських препаратах описане ще дуже мало. Зокрема, до теперішнього часу систематичні хіміко-аналітичні дослідження реакції пергідролізу (за участю гідроген пероксиду та його похідних в лужному середовищі) з використанням кінетичних методів здійснені лише для деяких галогенангідридів та естерів кислот п'ятивалентного фосфору, які належать переважно до отруйних речовин. Що стосується функціональних похідних карбонових кислот та нітрилів, то в літературі присутні лише окремі згадування про застосування реакцій пергідролізу в кінетичних методиках визначення, зокрема, деяких діацилпероксидів (D. Martin Davies, 1989), β -лактамів (Блажеєвський М.Є., 2006, Карпова С.П., 2013, Лабузова Ю.Ю., 2014), ацетилсаліцилової кислоти (Блажеєвський М.Є., 2006), а також ацетонітрилу (Milovanovic G., 1982).

Відомим спектрофотометричним методикам кількісного визначення естерів карбонових кислот та нітрилів, заснованих на утворенні гідроксамових кислот в реакції гідроксиламінолізу, притаманна низка загальних недоліків, а саме: багатостадійність процедури, необхідність нагрівання (нітрили) а відтак довготривалість, порівняно низькі чутливість та вибірковість. Цих недоліків можна легко уникнути, використавши реакцію пергідролізу названих сполук для безпосереднього їх визначення кінетичним методом. Тому з'ясування загальних закономірностей поведінки естерного угруповання, пероксидів ацилів, а також динітрилів в реакції гідролізу за участю H_2O_2 та його похідних, з метою опрацювання кінетичних методик аналізу названих типів речовин, в тому числі в субстанціях та готових лікарських препаратах, має важливе практичне значення і є актуальним завданням.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана згідно з планом науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету за темою «Хімічний синтез і аналіз біологічно-активних речовин, створення лікарських засобів синтетичного походження» (номер державної реєстрації 0103U000475) та «Органічний синтез та аналіз БАР, розробка лікарських засобів на основі синтетичних та напівсинтетичних субстанцій» (номер державної реєстрації 0114U000943) і проблемної комісії МОЗ та АМН України з напрямку «Фармація» (протокол №69 від 22 червня 2011 р.).

Мета і задачі дослідження. Метою дослідження є з'ясування кінетичних закономірностей реакцій пергідролізу естерів карбонових кислот, нітрилів та пероксидів ацилів, а також спряженого окиснення індикаторних речовин з метою удосконалення існуючих, а відтак опрацювання нових методик кінетичного визначення названих сполук в субстанціях та лікарських препаратах.

Для досягнення поставленої мети необхідно було розв'язати такі задачі:

– проаналізувати дані літератури стосовно методик кількісного визначення естерів карбонових кислот, нітрилів та діацилпероксидів кінетичним методом за

реакцією пергідролізу;

– здійснити оцінювання хіміко-аналітичних властивостей лікарських засобів, функціональних похідних карбонових кислот (естерів, пероксидів ацилів) та нітрилів як в цілому, так і окремих їх фрагментів як реакційно-аналітичних центрів з гідрогенпероксид-йоном у реакції пергідролізу;

– опрацювати теоретичні та практичні засади кінетичного визначення естерів карбонових кислот, діацилпероксидів та нітрилів за реакціями пергідролізу в лікарських препаратах;

– вивчити можливості застосування реакцій пергідролізу естерів карбонових кислот та нітрилів у поєднанні з реакціями спряженого окиснення індикаторних речовин *n*-фенетидину, та 3,3',5,5'-тетраметилбензидину для кінетико-спектрофотометричного визначення лікарських засобів, похідних естерів карбонових кислот, нітрилів та пероксидів ацилів у субстанціях та лікарських препаратах;

– вивчити можливості застосування реакції пергідролізу за участю пероксомоносульфату естерів карбонових кислот для кількісного визначення активних фармацевтичних інгредієнтів у вигляді продуктів гідролізу кінетико-спектрофотометричним та спектрофлуориметричним методами аналізу;

– дослідити властивості діацилпероксидів як ефекторів в кінетичних методах аналізу; опрацювати методіку здійснення кількісного визначення бензоїлу пероксиду в лікарському препараті кінетико-хемілюмінесцентним методом.

Об'єкт дослідження – кінетика та умови взаємодії естерів карбонових кислот, нітрилів та діацилпероксидів з гідрогенпероксид-йоном та їх використання у фармацевтичному аналізі.

Предмет дослідження – з'ясування загальних закономірностей реакцій пергідролізу естерів карбонових кислот (арпеналу, дилтіазему, ацетилсаліцилової кислоти, *DL*-лізину ацетилсаліцилату, спазмолітину, зопіклону, ацетилхоліну хлориду, суксаметонію хлориду та триацетину), нітрилів (сукцинодинітрилу) та діацилпероксидів (бензоїлу пероксиду) за участю гідрогенпероксид-йону та гідрогенпероксосульфату (ацетилсаліцилової кислоти) у водному середовищі та можливість їх застосування у фармацевтичному аналізі.

Методи дослідження. Спектрофотометрія, спектрофлуориметрія, хемілюмінесцентний аналіз, кінетичні методи.

Наукова новизна одержаних результатів. Запропоновано удосконалені методіки кінетичного визначення лікарських засобів, функціональних похідних карбонових кислот, а саме естерів та діацилпероксидів, а також нітрилів за реакцією пергідролізу.

Вперше запропонована універсальна класифікація способів здійснення кількісного визначення функціональних похідних карбонових кислот (естерів, пероксидів ацилів) та нітрилів кінетичним методом, а саме: за реакцією Шенемана та власне за продуктом реакції пергідролізу диференціальним методом тангенсів з використанням сучасних високочутливих інструментальних методів: спектрофотометрії, спектрофлуориметрії та хемілюмінесцентного аналізу. Реакція

опрацьована на прикладі лікарських засобів, похідних естерів карбонових кислот (арпеналу, дилтіазему, ацетилсаліцилової кислоти, *DL*-лізину ацетилсаліцилату, спазмолітину, зопіклону, ацетилхоліну хлориду, суксаметонію хлориду та триацетину), нітрилів (сукцинодинітрилу) та діацилпероксидів (бензоїлу пероксиду).

Вперше реакція пергідролізу бензоїлу пероксиду використана як аналітична для його хемілюмінесцентного визначення.

Вперше з'ясовані можливості та показані переваги застосування реакції пергідролізу естерів карбонових кислот та нітрилів у поєднанні з реакціями спряженого окиснення індикаторних речовин (*n*-фенетидину, та 3,3',5,5'-тетраметилбензидину) для кінетико-спектрофотометричного визначення функціональних похідних карбонових кислот – естерів (арпеналу, дилтіазему, ацетилсаліцилової кислоти, *DL*-лізину ацетилсаліцилату, спазмолітину, зопіклону, ацетилхоліну хлориду, суксаметонію хлориду та триацетину) і діацилпероксидів (бензоїлу пероксиду), а також нітрилів (сукцинодинітрилу) та у складі лікарських засобів.

Також вперше реакція пергідролізу ацетилсаліцилової кислоти за участю пероксомоносульфату використана як аналітична для її кількісного визначення у вигляді продукту реакції пергідролізу – саліцилату кінетико-спектрофотометричним та спектрофлуориметричним методами аналізу.

Практичне значення одержаних результатів. У практиці фармацевтичного аналізу запропоноване застосування нових методик здійснення кількісного визначення функціональних похідних карбонових кислот – естерів (арпеналу, дилтіазему, *DL*-лізину ацетилсаліцилату) та сукцинодинітрилу кінетико-спектрофотометричним методом за індикаторною реакцією окиснення *n*-фенетидину гідроген пероксидом, естерів (спазмолітину, зопіклону, ацетилхоліну хлориду, суксаметонію хлориду, триацетину, ацетилсаліцилової кислоти в міцелярному середовищі) за індикаторною реакцією окиснення 3,3',5,5'-тетраметилбензидину гідроген пероксидом, кінетичне визначення естерів у вигляді продуктів реакції пергідролізу їх з пероксомоносульфатом (аспірину кінетико-спектрофотометричним методом та *D,L*-лізину ацетилсаліцилату кінетико-спектрофлуориметричним методом за саліцилатом), діацилпероксидів (бензоїлу пероксид) методом хемілюмінесценції за люміноловою реакцією у субстанціях та лікарських препаратах (таблетках, порошку для приготування розчину для ін'єкцій, розчинах для ін'єкцій та лосьйоні). Встановлено, що наявність допоміжних речовин не чинить заважаючого впливу на визначення діючих речовин. Основним здобутком здійсненого дослідження є факт достеменно з'ясованої можливості та практично доведеної доцільності застосування у фармацевтичному аналізі каталітичних спряжених систем за участю реакцій пергідролізу, що дозволяє суттєво спростити методики, підвищити чутливість визначення як активнодіючих, так і допоміжних речовин, а головне – розширити перелік використовуваних у кінетичних методах індикаторних реакцій.

Методики кількісного визначення ацетилхоліну хлориду, зопіклону, *D,L*-лізину ацетилсаліцилату кінетичним методом за реакцією пергідролізу впроваджені

у науково-дослідний процес кафедри фізколоїдної хімії Запорізького державного медичного університету, кафедри хімічної метрології Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна, кафедри токсикологічної та аналітичної хімії Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького, кафедри загальної хімії Тернопільського державного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського, кафедри аналітичної хімії Ужгородського національного університету та у науково-дослідний процес у модулі «Фармацевт-аналитик», Казахського національного медичного університету ім. С.Д. Асфендіярова.

За результатами проведених досліджень отримані два патенти України на корисну модель (Декл. пат. на кор. мод. № 90893 Спосіб кількісного визначення сукцинонітрилу; G01N 21/77 М.Є. Блажеєвський, Л.С. Криськів. – № u 2014 00855; заявл. 30.01.14.; опубл. 10.06.2014, Бюл. №11; Декл. пат. на кор. мод. № 92678 Спосіб кількісного визначення ацетильної функціональної складової; G01N 21/77, М.Є. Блажеєвський, Л.С. Криськів. – № u2014 03542; заявл. 07.04.14; опубл. 26.08.2014, Бюл. № 16.).

Особистий внесок здобувача. Пошук, систематизація, узагальнення та аналіз літературних даних, експериментальна робота щодо вивчення аналітичних систем, котрі засновані на використанні реакцій пергідролізу естерів карбонових кислот, діацилпероксидів, а також нітрилів з метою їх застосування у практиці фармацевтичного аналізу виконані дисертантом самостійно за вказівками наукового керівника.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертації доповідалися та обговорювалися на III з'їзді токсикологів України «Сучасні проблеми токсикології. Безпека їжі та середовища життєдіяльності людини» (Київ, 2011), Річній сесії наукової ради з проблеми „Аналітична хімія” НАН України (Гурзуф, 2012), Всеукраїнській науково-практичній конференції студентів та молодих вчених «Актуальні питання створення нових лікарських засобів» (Харків, 2012, 2013, 2014), III науково-практичній конференції з міжнародною участю «Сучасні досягнення фармацевтичної технології» (Харків, 2012), Міжнародній науково-практичній конференції «Світова медицина: сучасні тенденції та фактори розвитку» (Львів, 2013), IX Всеукраїнській конференції з аналітичної хімії (Донецьк, 2013), Міжнародній науково-практичній конференції «Медична наука та медична практика в Україні: проблеми розвитку та взаємодії» (Одеса, 2013), Міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні тенденції розвитку медичної науки та медичної практики» (Львів, 2013), Київській конференції з аналітичної хімії «Сучасні тенденції», присвяч. 100-річчю з дня народження акад. А.Т. Пилипенка (Київ, 2014), I міжнародній науково-практичній інтернет – конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» (Харків, 2014), Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Аналітична хімія в фармації» (Харків, 2015).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 21 працю, з них 8 статей, 6 з яких у наукових фахових виданнях, 13 тез доповідей у збірниках матеріалів наукових конференцій та отримані 2 національних деклараційних патенти на корисну модель.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 178 сторінках машинописного тексту, складається зі вступу, 3 розділів, висновків, списку використаних джерел та 10 додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 135 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 29 таблицями та 63 рисунками. Список використаних джерел містить 208 найменувань, з них 64 кирилицею та 144 латиною.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У **вступі** обґрунтована актуальність теми, сформульовані мета і завдання досліджень, наведена наукова новизна та практичне значення отриманих результатів.

У **розділі 1 «Застосування реакцій пергідролізу функціональних похідних карбонових кислот та нітрилів в аналітичній хімії»** проаналізовано відомості стосовно хімічної структури та властивостей естерів і нітрилів карбонових кислот та діацилпероксидів. Критично оглянуто аналітичні методики їх кількісного визначення кінетичним методом аналізу за реакцією пергідролізу. Здійснене обґрунтування аналітичних властивостей функціональних похідних карбонових кислот та нітрилів як в цілому, так і окремих їх фрагментів як реакційно-аналітичних центрів з гідрогенпероксид-йоном в реакції пергідролізу. Зроблений висновок про актуальність опрацювання кінетичних методик кількісного визначення функціональних похідних карбонових кислот та нітрилів у субстанція та готових лікарських засобах, з використанням реакцій пергідролізу як аналітичних.

У **розділі 2 «Умови експерименту та методи дослідження»** наведені дані стосовно випробуваних об'єктів дослідження та використаних реактивів, методики приготування та стандартизації вихідних і робочих розчинів; описане обладнання, яке було використане під час виконання роботи, методи та умови здійснення експерименту.

У **розділі 3 «Опрацювання методик кількісного визначення естерів карбонових кислот, пероксидів ацилів та нітрилів з використанням реакції пергідролізу кінетичним методом аналізу»** описані розроблені методики та показана можливість здійснення кількісного визначення естерів, нітрилів та діацилпероксидів карбонових кислот у субстанціях та лікарських препаратах. У підрозділі 3.1 наведені результати опрацювання методик кінетико-спектрофотометричного визначення естерів та сукцинодинітрилу за індикаторною реакцією окиснення ПФ H_2O_2 , а саме арпеналу та дилтіазему у таблетках, *D,L*-лізину ацетилсаліцилату в порошку для розчину для ін'єкцій, сукцинодинітрилу у субстанції. У підрозділі 3.2 наведені результати опрацювання методик кінетико-спектрофотометричного визначення естерів за індикаторною реакцією окиснення ТМБ H_2O_2 , а саме спазмолітину в субстанції, зопіклону в таблетках, ацетилхоліну в субстанції, суксаметонію в розчині для ін'єкцій Лістенон, триацетину в субстанції, ацетилсаліцилової кислоти в міцелярному середовищі у препараті Кардіомагніл. У підрозділі 3.3 наведені результати опрацювання методик кінетичного визначення естерів у вигляді продуктів реакції гідролізу їх з KHSO_5 , а саме ацетилсаліцилової кислоти кінетико-спектрофотометричним методом за саліцилатом, *D,L*-лізину

ацетилсаліцилату кінетико-спектрофлуориметричним методом в порошок для розчину для ін'єкцій «Ацелізин-КМП». У підрозділі 3.4 наведені результати опрацювання методики кількісного визначення бензоїлу пероксиду методом хемілюмінесценції за люміноловою реакцією у лосьйоні Угресол.

Існуючі методики визначення арпеналу та спазмолітину, як-от неводна ацидиметрія, аргентометрія чи алкаліметрія, мають ряд недоліків, серед яких відносно велика затрата реагентів, довготривалість, відносно низька чутливість, складність визначення препарату в присутності продуктів його розкладення. Методики визначення дилтіазему, зокрема фармакопейні, вимагають використання складної апаратури, шкідливих реактивів. Відповідно до аналітично-нормативної документації вміст *D,L*-лізину ацетилсаліцилату визначають методом ВЕРХ, котрий дозволяє контролювати вміст усіх компонентів препарату. Інтерес викликають відносно прості, достатньо вибіркові та швидкі у виконанні кінетичні методики визначення ацетилсаліцилової кислоти, які базуються на застосуванні реакції пергідролізу. При визначенні нітрилів за методом Уайтхерста і Джонсона, сполуки, котрі окиснюються в лужному розчині H_2O_2 до кислоти, заважатимуть визначенню.

Запропоновано здійснювати кількісне визначення вказаних речовин диференціальним кінетико-спектрофотометричним методом тангенсів за початковою швидкістю утворення продукту двох спряжених реакцій пергідролізу та пероксикислотного окиснення ПФ. Утворена в реакції пергідролізу пероксикислота реагує з ПФ з утворенням 4,4'-азоксифенетолу (Рис. 1.), $\lambda_{\text{max}}=358\text{nm}$, за світлобिरанням якого і здійснюють власне визначення.

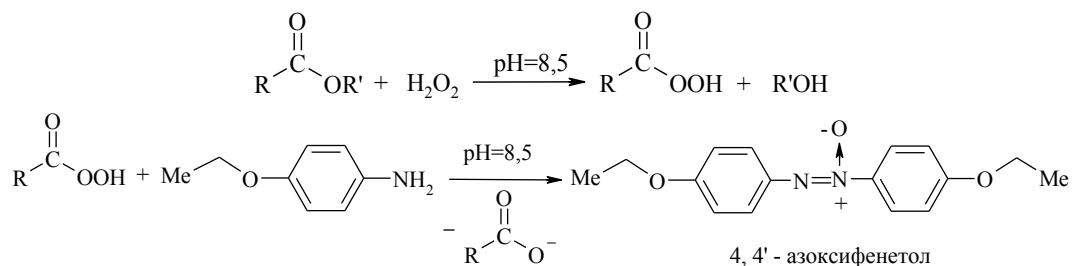


Рис. 1. Схема пергідролізу естеру та спряженого пероксикислотного окиснення *p*-фенетидину.

Встановлено оптимальні умови для реакції пергідролізу, а відтак перебігу індикаторної реакції, порядок змішування та концентрації реагентів, а також рН середовища. З'ясовано, що співприсутні компоненти та/або продукти гідролітичного розкладення визначуваної речовини не заважають визначенню.

Швидкість реакції досягає максимуму у діапазоні рН 8,2-8,5 (Рис. 2), швидкість утворення забарвленого продукту прямо пропорційна концентрації аналіту, а лімітуючою стадією всього процесу є початкова стадія – пергідроліз. Отримані кінетичні криві накопичення 4,4'-азоксифенетолу в системі ПФ- H_2O_2 -аналіт (Рис. 3.). За початкову швидкість реакції було взято тангенс кута нахилу лінійної ділянки залежності зростання світлопоглинання (А) від часу (τ , хв) ($\text{tg}\alpha$, хв^{-1}).

Отримано градувальні залежності для визначення арпеналу ($\text{tg}\alpha=0,0459c$, $r=0,9993$), дилтіазему ($\text{tg}\alpha=0,1c+0,012$, $r=0,9997$), *D,L*-лізину ацетилсаліцилату ($\text{tg}\alpha=325,5c+0,0004$, $r=0,9994$) та сукцинодинітрилу ($\text{tg}\alpha=210c$, $r=0,996$).

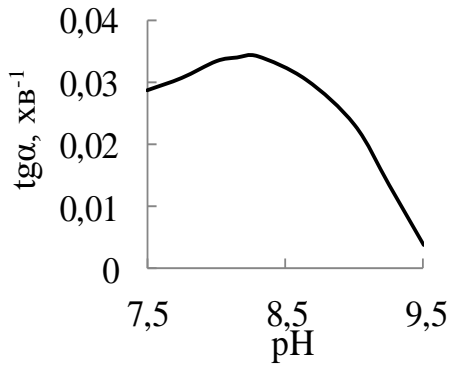


Рис. 2. Залежність швидкості утворення 4,4'-азоксифенетолу від рН в системі ПФ–H₂O₂–D,L-лізину ацетил-саліцилат. $c(\text{ПФ})=5,84 \cdot 10^{-3}$ моль/л; $c(\text{H}_2\text{O}_2)=0,224$ моль/л; $c(\text{D,L-лізину ацетил-саліцилату})=88$ мкмоль/л.

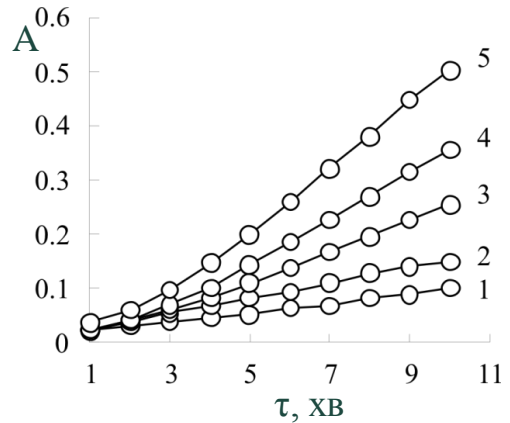


Рис. 3. Кінетичні криві реакції пергідролізу D,L-лізину ацетил-саліцилату $c(\text{ПФ})=5,84 \cdot 10^{-3}$ моль/л; $c(\text{H}_2\text{O}_2)=0,224$ моль/л; $c(\text{D,L-лізину ацетил-саліцилату})$, мкмоль/л: 1-22; 2-44; 3-88; 4-130; 5-180; рН=8,3.

При визначенні $4,00 \cdot 10^{-5}$ моль/л сукцинодинітрилу RSD=1,53%, $8,00 \cdot 10^{-5}$ моль/л RSD=0,96%, $1,20 \cdot 10^{-4}$ моль/л RSD=1,12% ($n=5$, $P=0,95$). Запропоновані методики кількісного визначення арпеналу, дилтіазему, ацелізину та сукцинодинітрилу прості за апаратурним оформленням, експресні та не вимагають застосування токсичних розчинників чи реагентів. Перевагами, які вигідно відрізняють їх від відомих, є можливість здійснення визначення вмісту схильних до гідролітичного розкладення аналітів в присутності продуктів гідролізу без попереднього розділення.

Таблиця 1

Результати визначення арпеналу у таблетках по 0,05 г ($n=5$, $P=0,95$)

Вміст арпеналу, г до однієї табл.	Знайдено арпеналу до однієї табл.		Метрологічні характеристики
	г	%	
0,0535* +10% -10%	0,0543	101,5	$\bar{x}=0,0538$ (100,5%) $S=9,3 \cdot 10^{-4}$ $S_{\bar{x}}=4,2 \cdot 10^{-4}$ $\Delta\bar{x}=1,2 \cdot 10^{-3}$ RSD=2,15% $\varepsilon=1,73\%$; $\delta=0,51\%$
	0,0527	98,5	
	0,0530	99,0	
	0,0540	101,0	
	0,0549	102,6	

* Примітка. Встановлено за даними рН-потенціометричного титрування

Таблиця 2

Результати визначення D,L-лізину ацетилсаліцилату у препараті «АЦЕЛІЗИН-КМП» ($n=5$, $P=0,95$)

Вміст D,L-лізину ацетилсаліцилату, г*	$\bar{x} \pm \Delta\bar{x}$	S	$S_{\bar{x}}$	δ	Знайдено±RSD, %
0,5012	0,4959±0,0066	$5,28 \cdot 10^{-3}$	$2,36 \cdot 10^{-3}$	-1,05	98,95±1,06

* Примітка. Задекларовано у сертифікаті якості

Аналітична методика кількісного визначення дилтіазему у субстанції валідована за критеріями МВ, МКВ, правильності, збіжності та лінійності.

Таблиця 3

Результати визначення дилтіазему у таблетках по 0,06г ($n=5, P=0,95$)

Вміст, г	Знайдено		Метрологічні характеристики
	г	%	
(0,0590)*	0,0587	99,44	$\bar{x}=0,0595$ г (100,79%) $S=1,47 \cdot 10^{-3}$ $S_{\bar{x}}=6,59 \cdot 10^{-4}$ $\Delta\bar{x}=1,83 \cdot 10^{-3}$ RSD=2,48% $\epsilon=3,08$ %; $\delta=1,35$ %
	0,0574	97,22	
	0,0611	103,5	
	0,0604	102,44	
	0,0598	101,33	

* Примітка. Вміст дилтіазему в таблетках задекларований у сертифікаті.

Кількісне визначення спазмолітину, зопіклону, ацетилхоліну, суксаметонію хлориду, триацетину і ацетилсаліцилової кислоти запропоновано здійснювати кінетико-спектрофотометричним методом з використанням як індикаторної реакції окиснення ТМБ. В основу методики кінетичного визначення покладено систему двох спряжених реакцій: пергідролізу аналіту (реакція з надлишком H_2O_2 у слабко лужному середовищі з утворенням пероксикислоти) та окиснення нею ТМБ до забарвленого 3,3',5,5'-тетраметилдифенохінондііміну, $\lambda_{max}=420$ нм, за зростанням

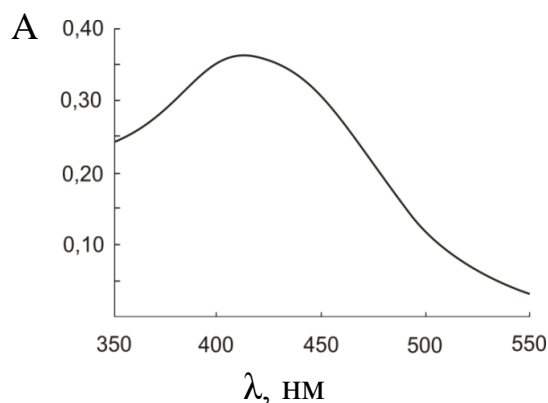


Рис. 4. Спектр поглинання продукту реакції спряженого окиснення ТМБ H_2O_2 в присутності суксаметонію хлориду. $c(\text{ТМБ})=8 \cdot 10^{-4}$ моль/л, $c(H_2O_2)=0,224$ моль/л, $C(\text{суксаметонію хлориду})=23,7$ мкг/мл, $pH=8,4$, $\tau=30$ хв.

світлопоглинання якого і здійснюють визначення (Рис. 4). Хімізм спряжених реакцій пергідролізу та пероксикислотного окиснення ТМБ у системі ТМБ- H_2O_2 -аналіт наведений на рис. 5.

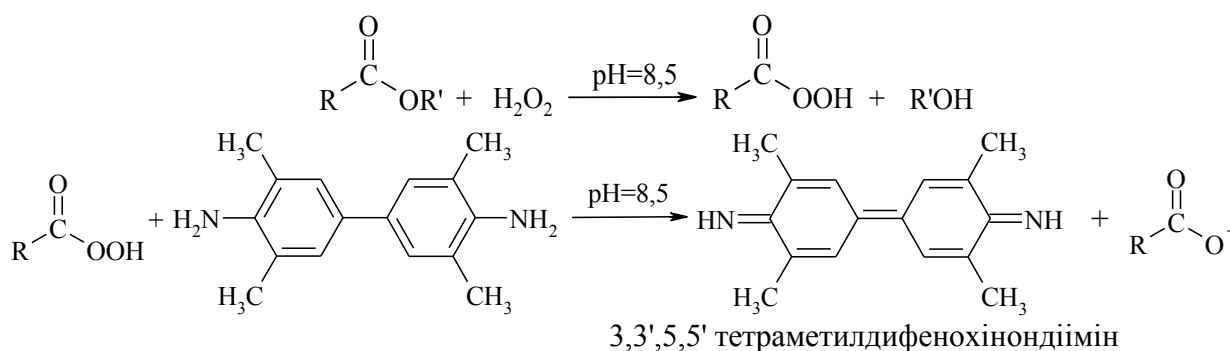


Рис. 5. Схема пергідролізу естеру та спряженого пероксикислотного окиснення ТМБ.

Визначення ацетилсаліцилової кислоти здійснювати аналогічно, в присутності поверхнево активної речовини Triton X-100, при цьому спостерігався батохромний зсув максимуму смуги поглинання новоутвореного продукту реакції, що можна пояснити впливом міцелярного середовища. Зсув максимуму в довгохвильову область додатково підвищує вибірковість визначення ацетилсаліцилової кислоти у присутності допоміжних речовин, які можуть неспецифічно поглинати на цій ділянці спектра.

Встановлено, що присутні продукти гідролітичного розкладення аналіту не заважають визначенню основної речовини. Максимальна швидкість утворення забарвленого продукту спостерігалась в інтервалі рН 8,2÷8,5. (Рис. 6). Це значення рН є оптимальним і для окиснення утвореною пероксикислотою ТМБ. На рис. 7 наведені кінетичні криві нагромадження 3,3',5,5'-тетраметилдифенохінондіміну у системі ТМБ-Н₂О₂-суксаметоній хлорид.

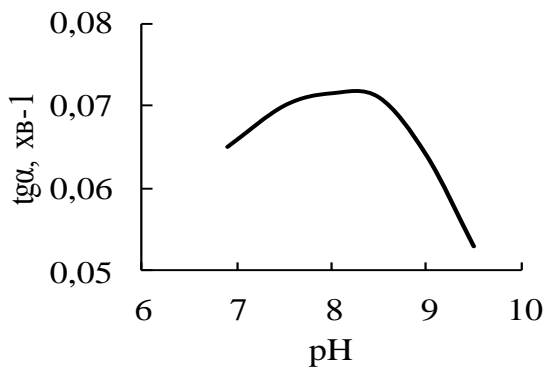


Рис. 6. Залежність швидкості утворення 3,3',5,5'-тетраметил-дифенохінондіміну в системі ТМБ-Н₂О₂-спазмолітин від рН. $c(\text{ТМБ})=8 \cdot 10^{-4}$ моль/л, $c(\text{Н}_2\text{О}_2)=0,224$ моль/л; $c(\text{спазмолітину})=3,6 \cdot 10^{-4}$ моль/л. $\varphi(\text{СН}_3\text{ОН})=25,0\%$.

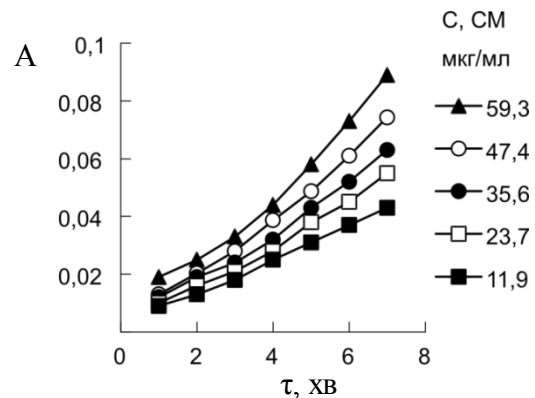


Рис. 7. Кінетичні криві нагромадження 3,3',5,5'-тетраметил-дифенохінондіміну залежно від концентрації суксаметонію хлориду в реакції ТМБ з Н₂О₂ (0,224 моль/л) при рН=8,4.

Оскільки концентрації ТМБ і Н₂О₂ значно перевищують концентрацію аналіту, то реакція перебігає в умовах псевдопершого порядку за аналітом, а його пергідроліз є лімітуючою стадією процесу. Умовна початкова швидкість реакції ($\text{tg}\alpha, \text{хв}^{-1}$) при різних концентраціях аналіту була визначена за тангенсом кута нахилу початкової лінійної ділянки кінетичної кривої утворення 3,3',5,5'-тетраметилдифенохінондіміну для спазмолітину, зопіклону, суксаметонію, ацетилсаліцилової кислоти і методом фіксованого часу для ацетилхоліну і триацетину. Як видно, швидкість утворення забарвленого продукту пропорційно зростає з підвищенням концентрації аналіту.

Отримано градувальні залежності для визначення зопіклону ($\text{tg}\alpha=0,5058C-0,0004$, $r=0,9986$), ацетилхоліну хлориду ($A_{15}=975c$, $r = 0,998$), суксаметонію хлориду ($\text{tg}\alpha=1,3 \cdot 10^{-4}C$, $r=0,994$) і ацетилсаліцилової кислоти в присутності ПАР Triton X-100 ($\text{tg}\alpha=162,05C+2 \cdot 10^{-2}$, $r=0,9998$).

Таблиця 4

Результати визначення спазмолітину у субстанції ($n=5, P=0,95$)

Взято препарату, г	Знайдено спазмолітину		Метрологічні характеристики
	г	%	
0,35140 (99,0%)*	0,3584	101,99	$\bar{X}=0,3489$ (99,30%) $S=0,0113$ $S_{\bar{x}}=0,0051$ $\Delta\bar{X}=0,0141$ $RSD=3,26\%$ $\varepsilon=4,05\%$; $\delta=-0,25\%$
	0,3488	99,26	
	0,3356	95,50	
	0,3619	102,99	
	0,3400	96,76	

* Примітка. Встановлено за даними аргентометрії

Таблиця 5

Результати визначення зопіклону у таблетках ($n=5, P=0,95$)

Вміст зопіклону, г до однієї табл.	Знайдено зопіклону, до однієї табл.		Метрологічні характеристики
	г	%	
0,00759* ^{+7,5%} ^{-7,5%}	0,007513	100,17	$\bar{X}=0,007487$ (99,83%) $S=7,2 \cdot 10^{-5}$ $S_{\bar{x}}=3,2 \cdot 10^{-5}$ $\Delta\bar{X}=8,9 \cdot 10^{-5}$ $RSD=0,96\%$ $\varepsilon=1,19\%$; $\delta=-0,17\%$
	0,007513	100,17	
	0,007386	98,485	
	0,007576	101,01	
	0,007449	99,33	

* Примітка. Встановлено за методикою чинної МКЯ

Таблиця 6

Результати визначення суксаметонію в препараті Лістенон® ($n=5, P=0,95$)

Зазначений вміст (мг)	Знайдено, $\bar{X} \pm \Delta\bar{X}$ (мг)	% \pm RSD (%)	δ (%)
0,103*	0,102 \pm 2,0 \cdot 10 ⁻³	99,7 \pm 1,6	-0,3

* Примітка. Вміст суксаметонію визначений за стандартною фармакопейною методикою, у перерахунку на безводний сукцинілхоліну хлорид (C₁₄H₃₀N₂O₄Cl₂)

Таблиця 7

Результати визначення ацетилсаліцилової кислоти в препараті

Кардіомагніл® ($n=5, P=0,95$)

Заявлений вміст (мг)	Знайдено, $\bar{X} \pm \Delta\bar{X}$ (мг)	% \pm RSD (%)	δ (%)
75,8*	74,9 \pm 1,8	98,9 \pm 2,0	-1,07

* Примітка. Вміст ацетилсаліцилової кислоти встановлено за допомогою стандартної фармакопейної методики

Як видно з одержаних результатів аналізу, опрацьовані методики вигідно відрізняє можливість здійснення визначення значно менших кількостей аналіту, ніж стандартними методами, простота у виконанні та експресність. Вони не вимагають застосування висококоштовного обладнання і/або шкідливих реагентів та є порівняно швидкими у виконанні. Важливою перевагою додатково є можливість здійснення визначення вмісту схильних до гідролітичного розкладення аналітів в

присутності продуктів їх гідролізу без попереднього розділення. Вміст основної речовини у випробуваній субстанції спазмолітину $99,30 \pm 4,05\%$ ($RSD \leq 3,54\%$, $\delta \leq 1,11$), у субстанції ацетилхоліну $98,8 \pm 2,5\%$ ($RSD \leq 2,89$, $\delta \leq 1,28$), у субстанції триацетину $98,55 \pm 2,15\%$ ($RSD \leq 1,68\%$, $\delta = +0,23\%$). Для аналітичної методики визначення зопіклону, суксаметонію у субстанції та ацетилсаліцилової кислоти в міцелярному середовищі у субстанції, здійснена валідація за критеріями МВ, МКВ, точність (правильність та збіжність) і лінійність. Вміст основної речовини у таблетках «Зопіклон» по $0,0075$ г у порівнянні зі знайденим його значенням за чинною МКЯ становить $99,83 \pm 1,19\%$ ($RSD = 0,96\%$, $\delta = -0,17\%$). Препарат Лістенон[®] містить $0,102 \pm 2,0 \cdot 10^{-3}$ г $C_{14}H_{30}N_2O_4Cl_2$, у перерахунку на безводний сукцинілхоліну хлорид ($RSD = 1,6\%$, $\delta = -0,3\%$), у порівнянні зі стандартним методом. Вміст ацетилсаліцилової кислоти в таблетках Кардіомагніл[®] становить $98,9\%$ при $RSD \leq 2,0\%$.

Для визначення аспіріну запропонована нова індикаторна реакція пергідролізу ацетилсаліцилової кислоти з $KHSO_5$ (Рис. 8.). Встановлено оптимальні умови перебігу реакції: $c(KHSO_5) = 3,8 \cdot 10^{-3}$ моль/л, $pH = 10,5 \div 11,0$. За цих умов спостерігається максимальна різниця між швидкістю

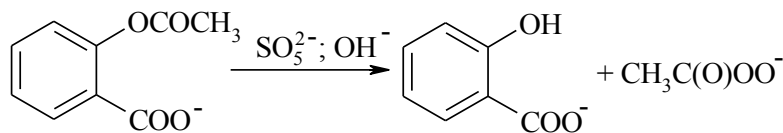


Рис. 8. Хімізм пергідролізу ацетилсаліцилової кислоти

каталітичного (пергідроліз) і некаталітичного (лужний гідроліз) гідролітичного розкладення ацетилсаліцилової кислоти, що дозволило вимірювати швидкість індикаторної реакції з достатньою точністю в умовах кінетики реакції псевдопершого порядку (Рис. 9). Новоутворений саліцилат реєстрували при 295 нм. Було використано метод початкових швидкостей диференційного варіанту кінетичного методу аналізу. Градувальний графік має вигляд: $tg\alpha = 96,9c$, $r = 0,999$. Методика достатньо вибіркова та чутлива, не вимагає застосування токсичних розчинників, реагентів і складного обладнання. Порівняння результатів з такими, що були отримані за офіційними методиками, свідчать що різниця між середніми результатами статистично не значима ($\delta < RSD$). Субстанція аспіріну містить $99,97 \pm 0,01\%$ ацетилсаліцилової кислоти ($RSD \leq 2,4$, $\delta \leq 0,1\%$).

Визначення *D,L*-лізину ацетилсаліцилату виконували методом тангенсів, що дозволило уникнути заважаючого впливу співкомпонентів препарату – гліцину та лізину, а також наявних продуктів гідролітичного розкладення ацетилсаліцилової кислоти – саліцилату. На рис. 10 наведено спектри флуоресценції продукту пергідролізу пергідролізу *D,L*-лізину ацетилсаліцилату в присутності $KHSO_5$ у часі, довжина хвилі люмінесценції $\lambda_{\text{люм}} = 407$ нм, максимум збудження $\lambda_{36} = 298$ нм, записані впродовж 30 хв, через кожні 2 хв, починаючи з 30 сек.

Рівняння градувального графіку для визначення *D,L*-лізину ацетилсаліцилату має вигляд: $tg\alpha = 1,09c - 0,35$ ($r = 0,9995$). Встановлений кінетико-спектрофлуориметрично вміст *D,L*-лізину ацетилсаліцилату за реакцією пергідролізу з $KHSO_5$ у препараті «АЦЕЛІЗИН-КМП» по $1,0$ г становить $0,8957 \pm 0,0205$ г ($RSD = 1,84\%$; $\delta = -0,73\%$).

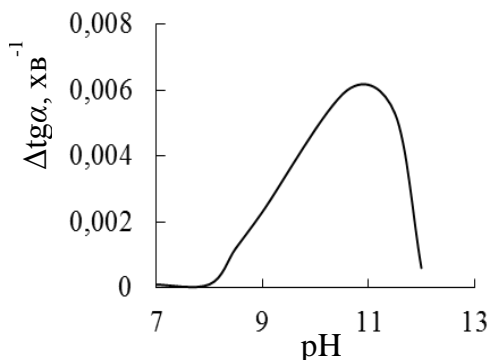


Рис. 9. Залежність швидкості реакції пергідролізу ацетил-саліцилової кислоти від рН. $c(D,L\text{-лізину ацетил-саліцилату})=28,8$ мкг/мл; $c(KHSO_5)=3,6 \cdot 10^{-3}$ моль/л.

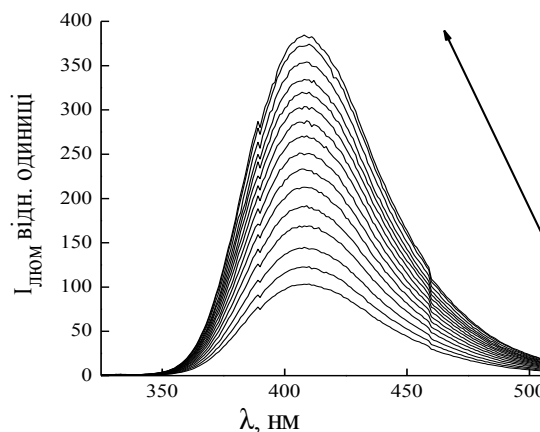


Рис. 10. Спектри флуоресценції продукту пергідролізу D,L -лізину ацетилсаліцилату в присутності $KHSO_5$. $c(D,L\text{-лізину ацетил-саліцилату})=28,8$ мкг/мл; $c(KHSO_5)=3,6 \cdot 10^{-3}$ моль/л; рН=10,5.

Таблиця 8

Результати визначення D,L -лізину ацетилсаліцилату в препараті «Ацелізин-КМП» ($n=5$; $P=0,95$)

Уведено D,L -лізину ацетилсаліцилату, г	Знайдено D,L -лізину ацетилсаліцилату, г	Метрологічні характеристики
0,9022*	0,8843 0,9206 0,8817 0,8874 0,9043	$\bar{x}=0,8957$ $S=1,65 \cdot 10^{-2}$ $S_{\bar{x}}=7,4 \cdot 10^{-3}$ $\Delta\bar{x}=2,05 \cdot 10^{-2}$ RSD=1,84% $\varepsilon=2,28\%$; $\delta=-0,73\%$

* Примітка. Задекларовано у сертифікату якості

Перевагами запропонованих методик є можливість визначення вмісту основної речовини, схильної до гідролітичного розкладення ацетилсаліцилової кислоти, в присутності співкомпонентів та продуктів її розкладу, а також простота виконання та експресність.

Запропоновано здійснювати кількісне визначення бензоїлу пероксиду за продуктом реакції пергідролізу – пербензойною кислотою в присутності активатора реакції – H_2O_2 методом хемілюмінесценції у дискретному режимі з використанням реакції окиснення люмінолу (H_2L) як індикаторної (Рис. 11).

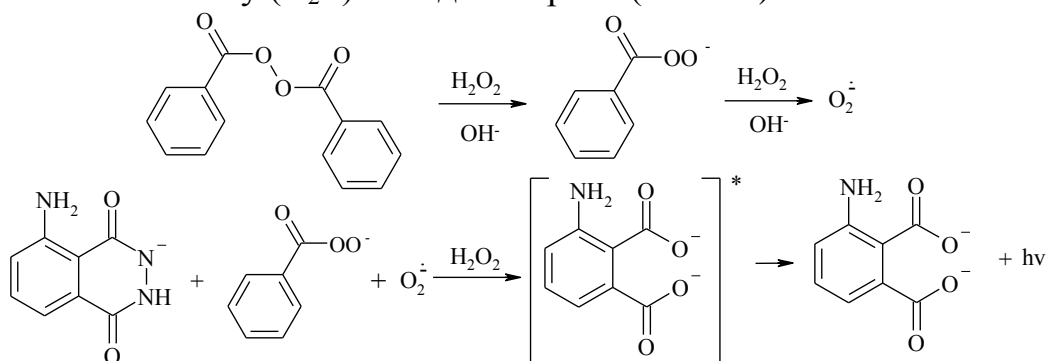


Рис. 11. Хімізм пергідролізу бензоїлу пероксиду та окиснення люмінолу

В основу визначення покладена лінійна залежність сумарного світіння, яке виникає в індикаторній реакції хемілюмінесцентного (ХЛ) окиснення H_2L , від вмісту бензоїлу пероксиду.

Кінетична крива виникнення ХЛ в реакції окиснення люмінолу бензоїлу пероксидом і/або H_2O_2 нагадувала спалах з подальшим згасанням ХЛ за експоненціальним законом. В присутності H_2O_2 максимальна $I_{ХЛ}$ в реакції окиснення H_2L за участю бензоїлу пероксиду у порівнянні з такою під дією самого H_2O_2 практично не змінюється, однак суттєво збільшується $\Sigma_{ХЛ}$ в досліджуваній системі, що обумовлено зменшенням швидкості згасання ХЛ (Рис. 12.).

Оптимальними умовами у даній ХЛ системі є: рН 8,5-9,4 (фосфатний буферний розчин), $c(H_2O_2)=0,0294$ моль/л, $c(H_2L)=5 \cdot 10^{-5}$ моль/л. Градувальна залежність має вигляд: $\Delta \Sigma_{ХЛ} = 12,825c + 0,5839$, $r=0,996$.

Препарат «Угресол» лосьйон 10% містить $9,97 \pm 2,22\%$ $C_{14}H_{10}O_4$, у перерахунку на безводний бензоїлу пероксид ($RSD=1,79\%$, $\delta=0,46\%$) в порівнянні зі стандартним методом. Встановлено, що інші компоненти препарату (Брій 30, ЕДТА, карбомер 940) не чинять помітного впливу на ХЛ у системі H_2L – бензоїлу пероксид – H_2O_2 .

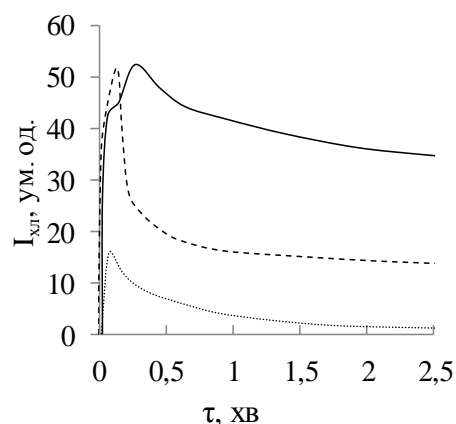


Рис. 12. Кінетичні криві ХЛ у системах: H_2L –бензоїлу пероксид (····), H_2L – H_2O_2 (---), H_2L –бензоїлу пероксид– H_2O_2 (—). $c(\text{бензоїлу пероксиду})=5 \cdot 10^{-6}$ моль/л; $c(H_2O_2)=0,0294$ моль/л; $c(H_2L)=5 \cdot 10^{-5}$ моль/л; рН=8,75.

Таблиця 9

Результати визначення бензоїлу пероксиду в лосьйоні ($n=5$, $P=0,95$)

Взято бензоїлу пероксиду, %	Знайдено бензоїлу пероксиду, %	Метрологічні характеристики
9,9* ^{+5%} -5%	9,91	$\bar{x}=9,97\%$
	10,22	$S=0,179$
	10,09	$S_{\bar{x}}=7,99 \cdot 10^{-2}$
	9,80	$\Delta \bar{x}=0,221$
	9,77	$RSD=1,79\%$
		$\varepsilon=2,22\%$; $\delta=0,46\%$

* Примітка. Встановлено за фармакопейною методикою

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі розв'язана задача фармацевтичного аналізу – опрацьовано теоретичні засади, запропоновані умови та показана можливість здійснення визначення функціональних похідних карбонових кислот (естерів, пероксидів ацилів) та нітрилів кінетичним методом аналізу за реакцією пергідролізу в субстанціях та лікарських засобах.

1. Критично оглянуто методики кількісного визначення естерів карбонових кислот, нітрилів та діацилпероксидів кінетичним методом аналізу за реакцією пергідролізу.

2. Встановлено кінетичні закономірності перебігу реакції пергідролізу функціональних похідних карбонових кислот (естерів, пероксидів ацилів) та нітрилів у реакції з гідрогенпероксид-йоном.

3. Опрацьовані теоретичні та практичні засади здійснення кінетичного визначення естерів карбонових кислот, діацилпероксидів та нітрилів за реакцією пергідролізу в лікарських препаратах.

4. З'ясовані можливості та показані переваги застосування реакцій пергідролізу естерів карбонових кислот та нітрилів у поєднанні з реакціями спряженого окиснення індикаторних речовин *n*-фенетидину, та 3,3',5,5'-тетраметилбензидину для кінетико-спектрофотометричного визначення естерів карбонових кислот, нітрилів та пероксидів ацилів у субстанціях та лікарських препаратах. Опрацьовані методики та показана можливість здійснення кінетико-спектрофотометричного визначення арпеналу (МКВ $7,6 \cdot 10^{-2}$ мг/мл), дилтіазему (МКВ $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л), ацелізину (МКВ 12 мкмоль/л) та сукцинодинітрилу (МКВ $2,2 \cdot 10^{-5}$ моль/л) за індикаторною реакцією окиснення *n*-фенетидину гідроген пероксидом. Вміст основної речовини у таблетках «Арпенал» по 0,05 г становить $100,5 \pm 1,73\%$ (RSD = 2,15%, $\delta = 0,51\%$), у таблетках «Діакордин 60» по 0,060 г – $100,79 \pm 3,08\%$ (RSD=2,48%, $\delta=1,35\%$). В препараті «АЦЕЛІЗИН-КМП» знайдено $98,95 \pm 1,06\%$ ацелізину (RSD \leq 1,18%, $\delta\leq$ -1,05%). При визначенні сукцинодинітрилу в модельних розчинах RSD \leq 1,53%, $\delta=-0,47\dots 0,50\%$ ($n=5$, $P=0,95$), межі лінійності $(2-16) \cdot 10^{-5}$ моль/л. Опрацьовані методики та показана можливість здійснення кінетико-спектрофотометричного визначення спазмолітину (МКВ $3,9 \cdot 10^{-5}$ моль/л (13 мкг/мл)), зопіклону (МКВ 6,04 мкг/мл), ацетилхоліну хлориду (МКВ $2 \cdot 10^{-6}$ моль/л), суксаметонію хлориду (МКВ 8,8 мкг/мл), триацетину (МКВ $5 \cdot 10^{-5}$ моль/л), ацетилсаліцилової кислоти в міцелярному середовищі (МКВ $6,2 \cdot 10^{-6}$ моль/л), за індикаторною реакцією окиснення 3,3',5,5'-тетраметилбензидину гідроген пероксидом. Вміст основної речовини у субстанції спазмолітину становить $99,3 \pm 4,05\%$ (RSD=3,26%, $\delta=-0,25\%$), у таблетках «Зопіклон» по 0,0075 г – $99,83 \pm 1,19\%$ (RSD=0,96%, $\delta=-0,17\%$), у субстанції ацетилхоліну хлориду – $98,8 \pm 2,5\%$ (RSD=2,89, $\delta=-1,28$). У розчині для ін'єкцій Лістенон[®] знайдено $0,102 \pm 2,0 \cdot 10^{-3}$ г суксаметонію хлориду (RSD=1,6%, $\delta=-0,3\%$), вміст ацетилсаліцилової кислоти в таблетках Кардіомагніл[®] становить 98,9% при RSD=2,0%, $\delta=-1,7\%$ ($n=5$, $P=0,95$) При визначенні триацетину в модельних розчинах RSD=1,68%, $\delta=0,23\%$ ($n=5$, $P=0,95$), межі лінійності $(5-20) \cdot 10^{-5}$ моль/л. Здійснена валідація аналітичних методик визначення зопіклону, суксаметонію хлориду та ацетилсаліцилової кислоти в субстанції за критеріями МВ, МКВ, правильності, збіжності і лінійності.

5. Запропоновано методики та показані переваги застосування реакцій пергідролізу за участю пероксомоносульфату естерів карбонових кислот для їх кількісного визначення у вигляді продуктів гідролізу кінетико-спектрофотометричним та спектрофлуориметричним методами аналізу.

Опрацьовані методики та показана можливість кількісного визначення аспірину (МКВ 20 мкмоль/л) та ацелізину (МКВ 0,48 мкг/мл) кінетико-спектрофотометричним та флуориметричним методом за продуктами реакції гідролізу їх з пероксомоносульфатом відповідно. Вміст основної речовини у субстанції аспірину становить $99,97 \pm 0,01\%$ (RSD=2,4%, $\delta = -0,1\%$). В препараті «АЦЕЛІЗИН-КМП» знайдено $98,48 \pm 2,28\%$ ацелізину (RSD=1,87%, $\delta = -1,56\%$).

6. Методом хемілюмінесценції вперше досліджено властивості бензоїлу пероксиду як ефектора реакції пергідролізу. Показані переваги застосування реакції пергідролізу для кількісного визначення бензоїлу пероксиду в лікарському препараті «Угресол» лосьйон 10% методом хемілюмінесценції. Опрацьовані методики та показана можливість кількісного визначення бензоїлу пероксиду (МКВ $3,5 \cdot 10^{-6}$ моль/л) методом хемілюмінесценції за люміноловою реакцією. Вміст основної речовини в субстанції становив $100,14 \pm 2,76\%$, RSD=2,22%; $\delta = 0,83\%$ ($n=5$, $P=0,95$), у лікарському препараті «Угресол» - $9,97 \pm 2,22\%$ RSD=1,79%; $\delta = 0,46\%$ ($n=5$, $P=0,95$).

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Блажеєвський, М. Є. Кінетико-спектрофотометричне визначення ацетилхоліну / М. Є. Блажеєвський, Л. С. Криський // Укр. мед. альманах. – 2012. – Т. 15, № 3. – С. 31–33. (*Особистий внесок* – здійснення експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, оформлення статті).
2. Блажеєвський, М. Є. Кінетико-спектрофотометричне визначення спазмолітину / М. Є. Блажеєвський, Л. С. Криський // Фармац. журн. – 2012. – № 6 – С. 67–73. (*Особистий внесок* – здійснення експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, оформлення статті).
3. Blazheyevskiy, M. Kinetic spectrophotometric determination of acetylsalicylic acid in dosage form "ACELYSIN-KMP" / M. Blazheyevskiy, L. Kryskiw // J. Chem. Pharm. Res. – 2013. – V. 5, №10. – P. 102–107. (*Особистий внесок* – здійснення експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, оформлення статті).
4. Блажеєвський, М. Є. Кінетико-спектрофотометричне визначення арпеналу за реакцією пергідролізу / М. Є. Блажеєвський, Л. С. Криський // Пробл. екол. та мед. генетики і клін. імунол. – 2014. – Т. 1, №. 121 – С. 189–196. (*Особистий внесок* – здійснення експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, оформлення статті).
5. Blazheyevskiy, M. Ye. Development of the kinetic-spectrophotometric method for quantitative determination of zopiclone in tablets by the perhydrolysis reaction / M. Ye. Blazheyevskiy, L. S. Kryskiw // Вісн. фарм. – 2014. – Т. 3, №. 79 – С. 38–41. (*Особистий внесок* – здійснення експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, оформлення статті).
6. Блажеєвський, М. Є. Кінетико-спектрофлуориметричне визначення *D,L*-лізину ацетилсаліцилату за реакцією пергідролізу з калію гідрогенпероксомоносульфатом у препараті «Ацелізин-КМП» / М. Є. Блажеєвський, Л. С. Криський // Фармаком. –

2014. – Т. 4. – С. 35-41. (*Особистий внесок* – здійснення експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, оформлення статті).
7. Блажеєвський, Н. Е. Кинетико-спектрофотометрическое определение ацетилсалициловой кислоты в мицеллярной среде / Н. Е. Блажеєвський, Л. С. Крыськів // Life and social programs of biological organisms' existence quality development : Peer-reviewed materials digest (collective monograph) published following the results of the LXXXV International Research and Practice Conference and II stage of the Championship in Medicine and Pharmaceuticals, Biology, Veterinary Medicine and Agriculture, London, July 24–29 2014. – London : IASHE, 2014. – P. 46–49. (*Особистий внесок* – здійснення експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, оформлення статті).
8. Blazheyevskiy, M. Kinetic spectrophotometric method for the determination of suxamethonium chloride / М. Blazheyevskiy, L. Kryskiw // Ch&ChT. – 2015. – V. 9, №3. – P. 261–265. (*Особистий внесок* – здійснення експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, оформлення статті).
9. Декл. пат. на кор. мод. № 90893 Спосіб кількісного визначення сукцинонітрилу; G01N 21/77 М. Є. Блажеєвський, Л. С. Криськів. – № u 2014 00855; заявл. 30.01.14.; опубл. 10.06.2014, Бюл. №11. (*Особистий внесок* – здійснення патентного пошуку, експериментальна частина, статистична обробка результатів, обґрунтування формули корисної моделі).
10. Декл. пат. на кор. мод. № 92678 Спосіб кількісного визначення ацетильної функціональної складової; G01N 21/77, М. Є. Блажеєвський, Л. С. Криськів. – № u 2014 03542; заявл. 07.04.14; опубл. 26.08.2014, Бюл. № 16. (*Особистий внесок* – здійснення патентного пошуку, експериментальна частина, статистична обробка результатів, обґрунтування формули корисної моделі).
11. Блажеєвський, М. Є. Кінетико-спектрофотометричне визначення ацетилхоліну / М. Є. Блажеєвський, Л. С. Криськів // Український медичний альманах. – 2012. – Т. 15, № 3. – С. 31–33.
12. Блажеєвський, М. Є. Кінетико-спектрофотометричне визначення дилтіазему / М. Є. Блажеєвський, Л. С. Криськів // Річна сесія наукової ради НАН України з проблеми „Аналітична хімія” : тези доп., с. Гурзуф, АР Крим, Україна, 3–10 черв. 2012 р. – с. Гурзуф, 2012. – С. 16.
13. Криськів, Л. С. Кількісне визначення спазмолітину кінетичним методом за реакцією пергідролізу / Л. С. Криськів, М. Є. Блажеєвський // Актуальні питання створення нових лікарських засобів : матер. Всеукр. наук.-практ. конф. студ. та мол. вчених, м. Харів, 19–20 квіт. 2012 р. – Х. : Вид-во НФаУ, 2012. – С. 147.
14. Блажеєвський, М. Є. Кінетико-спектрофотометричне визначення триацетину / М. Є. Блажеєвський, Л. С. Криськів // Сучасні досягнення фармацевтичної технології : матер. III наук.-практ. конф. з міжн. уч., м. Харків, 21–23 лист. 2012 р. – Х. : Вид-во НФаУ, 2012. – 214 с.
15. Блажеєвський, М. Є. Кінетичне визначення сукцинонітрилу за реакцією пергідролізу / М. Є. Блажеєвський, Л. С. Криськів // «Світова медицина: сучасні тенденції та фактори розвитку» : збірн. наук. робіт учасн. міжн. наук.-практ. конф.,

м. Львів, 08–09 лют. 2013 р. – Львів : ГО «Львівська медична спільнота», 2013. – С. 78–83.

16. Blazheyevskyy, M. Ye. Aspirin kinetic-spectrophotometric assay with peroxymonosulfate / M. Ye. Blazheyevskyy, L. S. Kryskiw // Actual questions of development of new drugs : book of abstracts of XX international scientific and practical conference of young scientists and students, devoted to the 90th anniversary of doctor of science in pharmacy, professor Dmitri Pavlovych Salo, April 25–26 2013, Kharkiv. – Kharkiv : NUPh, 2013. – P. 73.

17. Блажеєвський, М. Є. Кінетико-спектрофотометричне визначення суксаметонію хлориду за реакцією пергідролізу / М. Є. Блажеєвський, Л. С. Криський // IX Всеукраїнська конференція з аналітичної хімії : тези доп., м. Донецьк, 19–20 вер. 2013 р. – Донецьк : Вид-во «Ноулідж» (Донецьке відділення), 2013. – С. 70.

18. Блажеєвський, М. Є. Кінетико-спектрофлуориметричне визначення ацетилсаліцилової кислоти у препараті «АЦЕЛІЗИН-КМП» / М. Є. Блажеєвський, Л. С. Криський, А. В. Єгорова, Ю. В. Скрипинець, І. І. Леоненко // Медична наука та медична практика в Україні: проблеми розвитку та взаємодії : матер. міжн. наук.-практ. конф., м. Одеса, 8–9 лист. 2013 р. – Одеса : ГО «Південна фундація медицини», 2013. – С. 15-19.

19. Блажеєвський, М. Є. Кінетико-спектрофотометричне визначення арпеналу за реакцією пергідролізу / М. Є. Блажеєвський, Л. С. Криський // Сучасні тенденції розвитку медичної науки та медичної практики : збірн. тез наук. робіт учасн. міжн. наук.-практ. конф., м. Львів, 20–21 груд. 2013 р. – Львів : ГО «Львівська медична спільнота», 2013. – С. 81-85.

20. Blazheyevskiy, M. Kinetic spectrophotometric determination of acetylsalicylic acid in dosage form "ACELYSIN-KMP" / M. Blazheyevskiy, L. Kryskiw // Actual questions of development of new drugs : abstracts of XX international scientific and practical conference of young scientists and student, April 22–23 2014, Kharkiv. – Kharkiv : NUPh, 2014. – P. 67.

21. Блажеєвський, М. Є. Застосування реакцій пергідролізу та пероксокислотного окиснення у фармацевтичному аналізі / М. Є. Блажеєвський, Л. С. Криський // Київська конференція з аналітичної хімії. Сучасні тенденції : тези доп., м. Київ, 9–12 червня 2014 р. – Київ : 2013. – С. 181–182.

22. Блажеєвський, М. Є. Хемілюмінесцентний метод визначення бензоїлу пероксиду за люміноловою реакцією / М. Є. Блажеєвський, Л. С. Криський // Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії : матеріали I Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 7–8 листоп. 2014 р. – Х. : НФаУ, 2014. – С. 30.

23. Блажеєвський, М. Є. Хемілюмінесцентний метод визначення бензоїлу пероксиду у лосьйоні «угресол» за люміноловою реакцією / М. Є. Блажеєвський, Л. С. Криський // Аналітична хімія у фармації : матеріали міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 19-20 берез. 2015 р. – Х. : Вид-во НФаУ, 2015. – С. 78-79.

АНОТАЦІЯ

Криськів Л.С. Застосування реакцій пергідролізу у фармацевтичному аналізі. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія. Національний фармацевтичний університет, Харків, 2016.

Робота присвячена з'ясуванню кінетичних закономірностей реакцій пергідролізу естерів карбонових кислот, нітрilів та пероксидів ацилів, а також спряженого окиснення індикаторних речовин з метою удосконалення існуючих, а відтак опрацювання нових методик кінетичного визначення названих сполук в субстанціях та лікарських засобах.

Запропонована нова кінетико-спектрофотометрична методика кількісного визначення вмісту основної речовини в субстанціях і препаратах естерів (арпеналу, дилтіазему, ацелізіну) та сукцинодинітрилу за індикаторною реакцією окиснення *n*-фенетидину гідроген пероксидом ($RSD \leq 2,48\%$, $\delta = -0,93 \dots 1,35\%$), естерів (спазмолітину, зопіклону, ацетилхоліну хлориду, суксаметонію хлориду, триацетину, ацетилсаліцилової кислоти в міцелярному середовищі) за індикаторною реакцією окиснення 3,3',5,5'-тетраметилбензидину гідроген пероксидом ($RSD \leq 3,54\%$, $\delta = -1,28 \dots 1,79\%$), кінетична методика визначення естерів за швидкістю утворення продуктів реакції пергідролізу з пероксомоносульфатом (аспірину кінетико-спектрофотометричним методом за саліцилатом, ацелізіну кінетико-спектрофлуориметричним методом, $RSD \leq 2,4\%$, $\delta = -0,39 \dots 1,3\%$), хемілюмінесцентна методика кінетичного визначення діацилпероксидів за люміноловою реакцією методом хемілюмінесценції (бензоїлу пероксиду, $RSD \leq 1,79\%$, $\delta = 0,46 \dots 0,83\%$) у субстанціях та лікарських препаратах (таблетках, порошку для приготування розчину для ін'єкцій, розчинах для ін'єкцій та лосьйоні).

Здійснена валідаційна оцінка аналітичних методик визначення зопіклону, суксаметоній хлориду та ацетилсаліцилової кислоти в субстанції за критеріями МВ, МКВ, правильність, збіжність та лінійність.

Ключові слова: фармацевтичний аналіз, пергідроліз, естери, нітрили, діацилпероксиди, кінетичні методи аналізу.

АННОТАЦИЯ

Крыськив Л.С. Применение реакций пергидролиза в фармацевтическом анализе. – Рукопись.

Диссертация на соискание научной степени кандидата фармацевтических наук по специальности 15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия. Национальный фармацевтический университет, Харьков, 2016.

Работа посвящена изучению кинетических закономерностей реакций пергидролиза сложных эфиров карбоновых кислот, нитрилов и диацилпероксидов,

а также сопряженного окисления индикаторных веществ с целью усовершенствования существующих и разработки новых методик кинетического определения указанных соединений в субстанциях и лекарственных препаратах.

Предложена новая кинетико-спектрофотометрическая методика количественного определения содержания основного вещества в субстанциях и препаратах сложных эфиров (арпенал, дилтиазем, ацелизин) и нитрилов (сукцинодинитрил) по индикаторной реакции окисления *n*-фенетидина H_2O_2 . $\text{RSD} \leq 2,15\%$, $\delta = -0,93 \dots 0,49\%$, $\text{LOQ} = 7,6 \cdot 10^{-2}$ мг/мл (арпенал), $\text{RSD} \leq 2,48\%$, $\delta = 0,46 \dots 1,35\%$, $\text{LOQ} = 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л (дилтиазем), $\text{RSD} \leq 1,18\%$, $\delta = -0,55 \dots -0,39\%$, $\text{LOQ} = 1,2 \cdot 10^{-5}$ моль/л (ацелизин), $\text{RSD} \leq 1,53\%$, $\delta = -0,47 \dots 0,5\%$, $\text{LOQ} = 2,2 \cdot 10^{-5}$ моль/л (сукцинодинитрил).

Разработана новая кинетико-спектрофотометрическая методика количественного определения содержания основного вещества в субстанциях и препаратах сложных эфиров (спазмолитин, зопиклон, ацетилхолина хлорид, суксаметония хлорид, триацетин, ацетилсалициловая кислота в мицеллярной среде) по индикаторной реакции окисления 3,3',5,5'-тетраметилбензидина H_2O_2 . $\text{RSD} \leq 3,54\%$, $\delta = -1,11 \dots 0,43\%$, $\text{LOQ} = 3,9 \cdot 10^{-5}$ моль/л (спазмолитин), $\text{RSD} \leq 1,81\%$, $\delta = -0,17 \dots 1,79\%$, $\text{LOQ} = 6,04 \cdot 10^{-3}$ мг/мл (зопиклон), $\text{RSD} \leq 2,89\%$, $\delta = -1,28 \dots 0\%$, $\text{LOQ} = 2 \cdot 10^{-6}$ моль/л (ацетилхолина хлорид), $\text{RSD} \leq 2,2\%$, $\delta = -0,8 \dots 0,6\%$, $\text{LOQ} = 8,8 \cdot 10^{-3}$ мг/мл (суксаметония хлорид), $\text{RSD} \leq 1,68\%$, $\delta = 0 \dots 0,23\%$, $\text{LOQ} = 2,5 \cdot 10^{-5}$ моль/л (триацетин), $\text{RSD} \leq 2,0\%$, $\delta = -0,8 \dots 0,9\%$, $\text{LOQ} = 6,2 \cdot 10^{-6}$ моль/л (ацетилсалициловая кислота в мицеллярной среде).

Показана возможность осуществления количественного определения содержания основного вещества в субстанциях и препаратах сложных эфиров (аспирин, ацелизин) по скорости образования продуктов реакции пергидролиза посредством пероксомоносульфата калия; разработана новая кинетико-спектрофотометрическая методика определения аспирина ($99,97 \pm 0,01\%$, $\text{RSD} \leq 2,4\%$, $\delta = -0,1 \dots 0\%$, $\text{LOQ} = 2 \cdot 10^{-5}$ моль/л) и кинетико-спектрофлуориметрическая методика определения ацелизина по салицилату ($98,48 \pm 2,28\%$, $\text{RSD} \leq 1,97\%$, $\delta = -0,39 \dots 1,3\%$, $\text{LOQ} = 4,8 \cdot 10^{-4}$ мг/мл).

Предложенные методики просты в исполнении и экспрессные. Важным преимуществом, которое выгодно отличает разработанные методики, является возможность осуществления определения содержания основного вещества склонных к гидролитическому разложению препаратов в присутствии продуктов их гидролиза без предварительного разделения.

Методом хемиллюминесценции исследованы свойства бензоилпероксида как фактора в реакции пергидролиза. Выявлено активирующее влияние H_2O_2 в хемиллюминесцентной реакции окисления люминола бензоилпероксидом в щелочной среде. Предложенные условия и разработан новый способ

осуществления определения диацилпероксидов (бензоилпероксид) по люминоловой реакции методом хемилюминесценции в дискретном режиме (LOQ $3,5 \cdot 10^{-6}$ моль/л). Показаны преимущества применения этой реакции для количественного определения действующего вещества в субстанции ($100,14 \pm 2,76\%$, RSD=2,22%; $\delta=0,83\%$) и лекарственном препарате «Угресол» лосьон 10% ($9,97 \pm 2,22\%$, RSD $\leq 1,79\%$, $\delta=0,46 \dots 0,83\%$).

Осуществлена валидационная оценка аналитических методик определения зопиклона, суксаметония хлорида и ацетилсалициловой кислоты в субстанции по критериям LOD, LOQ, правильность, сходимость и линейность. Линейность градуировочной зависимости методики также была оценена в нормализованных координатах, при этом значения a и $|b-1|$ не превышали доверительные интервалы своих неопределенностей.

По реакционной способности испытуемые сложные эфиры карбоновых кислот и сукцинодинитрил можно расположить в ряд: ацелизин (ацетилсалициловая кислота) > триацетин > сукцинодинитрил > ацетилхолина хлорид > зопиклон > арпенал > спазмолитин > суксаметония хлорид > дилтиазем.

Ключевые слова: фармацевтический анализ, пергидролиз, сложные эфиры, нитрилы, диацилпероксиды, кинетические методы анализа.

SUMMARY

Kryskiw L.S. Perhydrolysis reactions and their usage in pharmaceutical analysis. – Manuscript.

Thesis for a candidate of pharmaceutical sciences degree, speciality 15.00.02 Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy. – National University of Pharmacy. – Kharkiv, 2016.

The work is dedicated to the study of kinetics of perhydrolysis reactions of carboxylic acid esters, nitriles and diacyl peroxides and conjugated oxidation of indicator substances with the aim to improve existing and develop new kinetic methods for determination of these compounds in the objects of pharmaceutical industry.

A new kinetic-spectrophotometric method for the quantitative determination of the pure substance and preparation content of esters (arpenal, diltiazem, atselizin) and nitrites (succinonitrile) by indicator reaction of *p*-phenetidine oxidation by hydrogen peroxide (RSD $\leq 2,48\%$, $\delta=-0,93 \dots 1,35\%$), esters (spasmolytine, zopiclone, acetylcholine chloride, suxamethonium chloride, triacetin, acetylsalicylic acid in the micellar medium) by indicator reaction of 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine oxidation by hydrogen peroxide (RSD $\leq 3,54\%$, $\delta=-1,28 \dots 1,79\%$) was proposed.

A new kinetic method for the quantitative determination of the pure substance and preparation content of esters by perhydrolysis reaction products using potassium peroxomonosulphate as reagent (kinetic spectrophotometric method by salicylates for

aspirine, and kinetic spectrofluorimetric method for acelysin) was processed (RSD \leq 2,4%, δ =-0,39...1,3%).

A new chemiluminescence method for the quantitative determination of the pure substance and preparation content of diacyl peroxides (benzoyl peroxide) by luminol reaction (RSD \leq 2,4%, δ =-0,39...1,3%) was developed.

The analytical procedures for the determination of zopiclone, suxamethonium chloride, acetylsalicylic acid in pure substance was validated by the LOD, LOQ, accuracy, precision and linearity criteria.

Key words: pharmaceutical analysis, perhydrolysis, esters, nitriles, diacyl peroxides, kinetic methods of analysis.