

УДК

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА УФ-СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ ДЛЯ УСТАНОВЛЕНИЯ ПОДЛИННОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ГРУППЫ ФТОРХИНОЛОНОВ

© 2004 г. И.В. Титов, В.Л. Дорофеев, А.П. Арзамасцев

Московская медицинская академия им. И.М. Сеченова

Показано, что лекарственные вещества группы фторхинолонов имеют характерные УФ-спектры. Основной максимум поглощения в зависимости от растворителя находится в диапазоне от 270 до 310 нм. Показано, что ввиду высоких значений удельного показателя поглощения оптимальная концентрация испытуемого раствора составляет 5 мкг/мл. Метод УФ-спектрофотометрии можно применять для установления подлинности лекарственных средств группы фторхинолонов в виде субстанций и в лекарственной форме “таблетки”. Для извлечения фторхинолонов из таблеток необходимо использовать 0,01 М раствор кислоты хлористоводородной.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время ведущие зарубежные фармацевтики [4-6] для идентификации субстанций фторхинолонов обычно используют ИК-спектроскопию и ТСХ, за исключением субстанций норфлоксацина и офлоксацина, для которых USP в качестве дополнительного метода предлагает УФ-спектрофотометрию. Для препаратов – метод ВЭЖХ и ИК-спектроскопия. Наличие сложной сопряженной системы в структуре фторхинолонов дает возможность широкого применения УФ-спектрофотометрии для их анализа по разделу нормативной документации “подлинность”.

Задачей настоящей работы являлось: исследование спектральных характеристик фторхинолонов в различных растворителях и разработка методик установления подлинности субстанций и лекарственных препаратов (таблеток) фторхинолонов с использованием метода УФ-спектрофотометрии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объекты исследования

Субстанции и стандартные образцы

1. Норфлоксацин: стандартный образец, KRKA, Словения.
2. Пемфлексацин метансульфоната (мезилата) дигидрат: рабочий стандарт, Dr. Reddy's Laboratories Ltd, Индия.
3. Ципрофлоксацин гидрохлорида моногидрат: субстанция, Ranbaxy Laboratories Ltd, Индия.
4. Ципрофлоксацин: стандартный образец, Bayer AG.
5. Моксифлоксацин гидрохлорид: стандартный образец, Bayer AG.
6. Офлоксацин: рабочий стандарт, Aventis Pharma Ltd, Франция.

7. Левофлоксацин гемигидрат: рабочий стандарт, Aventis Pharma Ltd, Франция.

8. Ломефлоксацин гидрохлорид: субстанция, Searle, Франция.

9. Спарфлоксацин: рабочий стандарт, Dr. Reddy's Laboratories Ltd, Индия.

Таблетки

Содержащие норфлоксацин: Нолицин, 400 мг, KRKA, Словения.

Содержащие ципрофлоксацин гидрохлорид: Ципробай, Bayer AG, Германия.

Подготовка проб для анализа

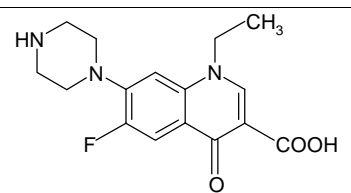
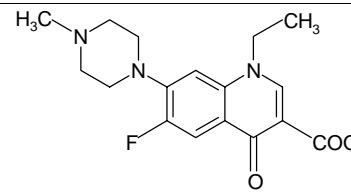
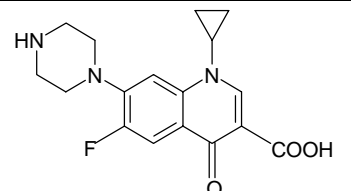
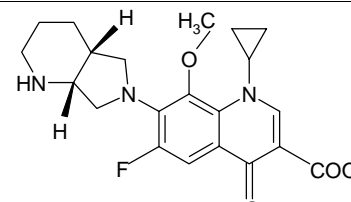
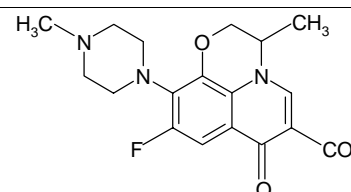
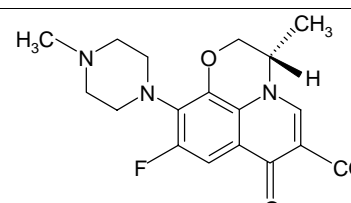
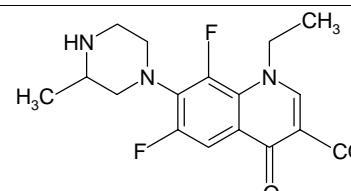
Испытуемый раствор субстанции. 25 мг образца помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяли в достаточном количестве соответствующего растворителя и доводили объем раствора до метки. 2,0 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводили объем раствора до метки тем же растворителем. Концентрация полученных растворов 5 мкг/мл.

Раствор спарфлоксацина в воде

12,5 мг образца помещали в мерную колбу вместимостью 250 мл, растворяли в достаточном количестве воды при нагревании при температуре 80°C в течение 25 мин. После охлаждения до комнатной температуры доводили объем раствора водой до метки. 5,0 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводили объем раствора до метки тем же растворителем. Концентрация полученного раствора 5 мкг/мл.

Испытуемый раствор таблеток. Одну таблетку взвешивали на аналитических весах и измельчали в агатовой ступке. Точную навеску порошка измельченной таблетки, эквивалентную содержанию 25 мг действующего

Структурные формулы фторхинолонов

МНН	Структурная формула	Химическое название, примечание
Норфлоксацин		4-Оксо-7-(1-пиперазинил)-6-фтор-1-этил-1,4-дигидрохинолин-3-карбоновая кислота Фарм. субстанции: норфлоксацин
Пефлоксацин		7-(4-Метил-1-пиперазинил)-4-оксо-6-фтор-1-этил-1,4-дигидрохинолин-3-карбоновая кислота Фарм. субстанции: пефлоксацина метансульфоната (мезилата) дигидрат
Ципрофлоксацин		4-Оксо-7-(1-пиперазинил)-6-фтор-1-циклопропил-1,4-дигидрохинолин-3-карбоновая кислота Фарм. субстанции: ципрофлоксацин ципрофлоксацина гидрохлорида моногидрат
Моксифлоксацин		7-[(S,S)-2,8-Диазабикло[4.3.0]нон-8-ил]-8-метокси-4-оксо-6-фтор-1-циклопропил-1,4-дигидрохинолин-3-карбоновая кислота Фарм. субстанции: моксифлоксацина гидрохлорид
Офлоксацин		(±)-3-Метил-10-(4-метил-1-пиперазинил)-7-оксо-9-фтор-2,3-дигидро-7Н-пиридо[1,2,3-de]-1,4-бензоксазин-6-карбоновая кислота Фарм. субстанции: офлоксацин
Левифлоксацин		(-)-3-Метил-10-(4-метил-1-пиперазинил)-7-оксо-9-фтор-2,3-дигидро-7Н-пиридо[1,2,3-de]-1,4-бензоксазин-6-карбоновая кислота Фарм. субстанции: левифлоксацина гемигидрат
Ломефлоксацин		6,8-Дифтор-7-(3-метил-1-пиперазинил)-4-оксо-1-этил-1,4-дигидрохинолин-3-карбоновая кислота Фарм. субстанции: ломефлоксацина гидрохлорид

вещества (норфлоксацина, пефлоксацина мезилата дигидрата, ломефлоксацина гидрохлорида) помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавляли около

50 мл 0,01 М раствора кислоты хлористоводородной и интенсивно перемешивали в течение 25 мин. Доводили объем раствора до метки тем же растворителем. 2,0 мл

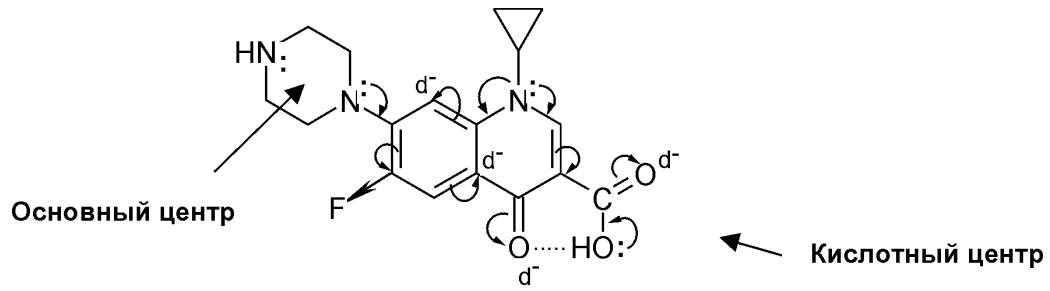


Рис. 1. Электронные эффекты в молекуле ципрофлоксацина.

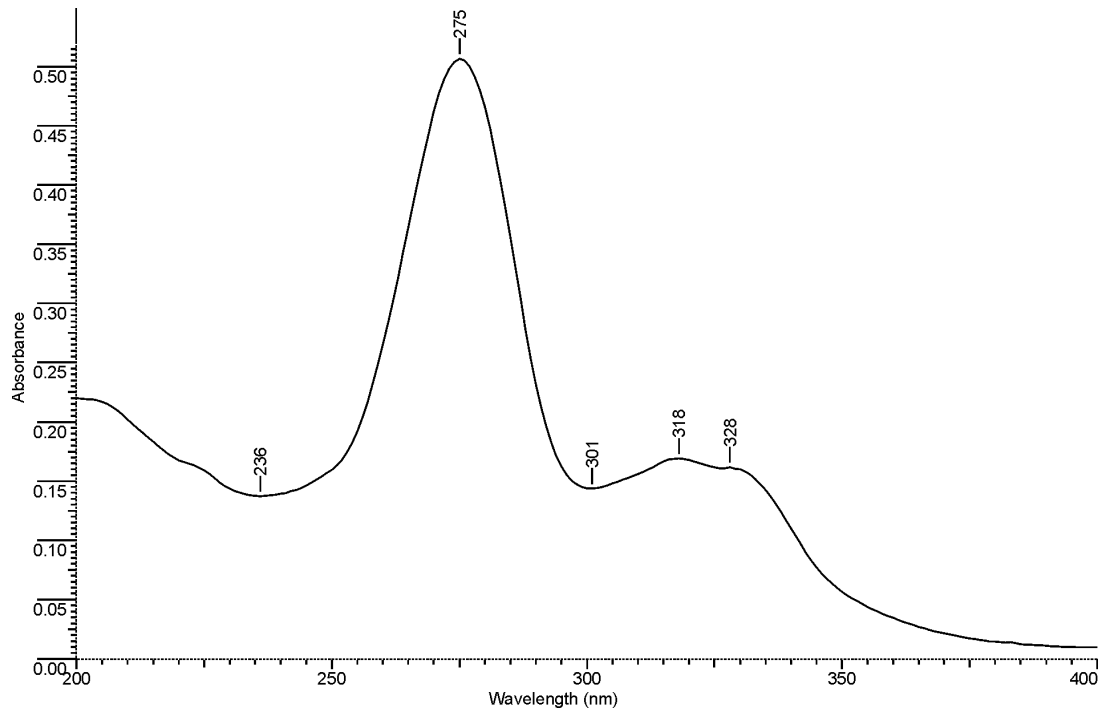


Рис. 2. УФ-Вид спектр ципрофлоксацина гидрохлорида 5 мкг/мл в воде.

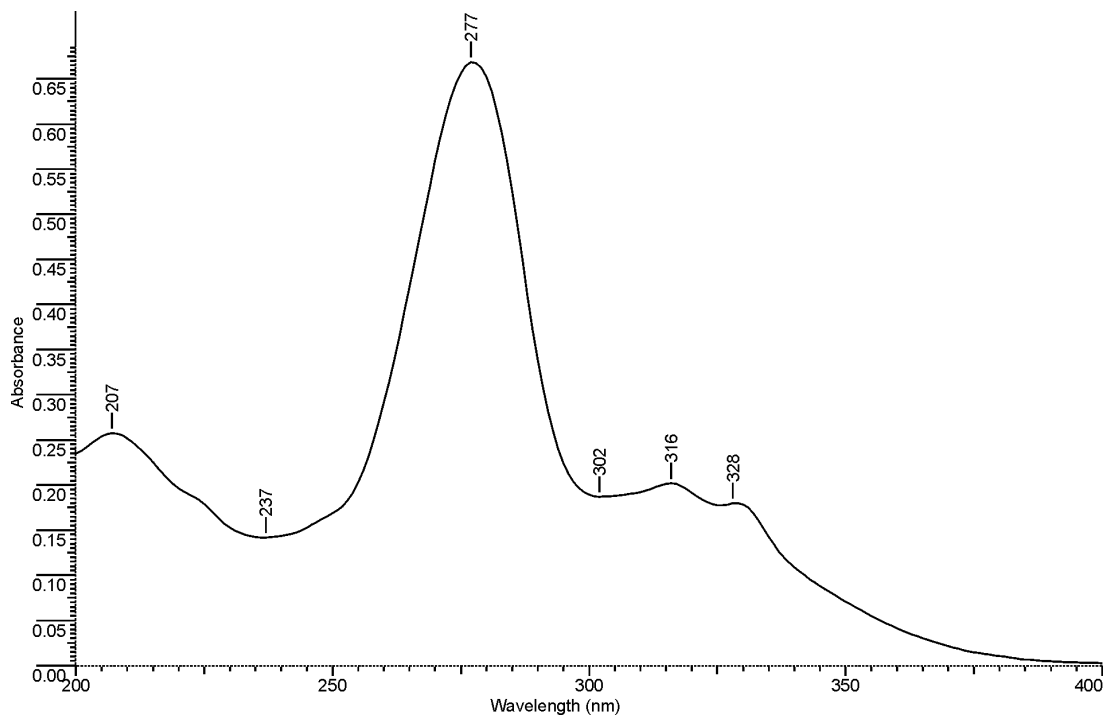


Рис. 3. УФ-Вид спектр ципрофлоксацина гидрохлорида 5 мкг/мл в 0,01 М НСl.

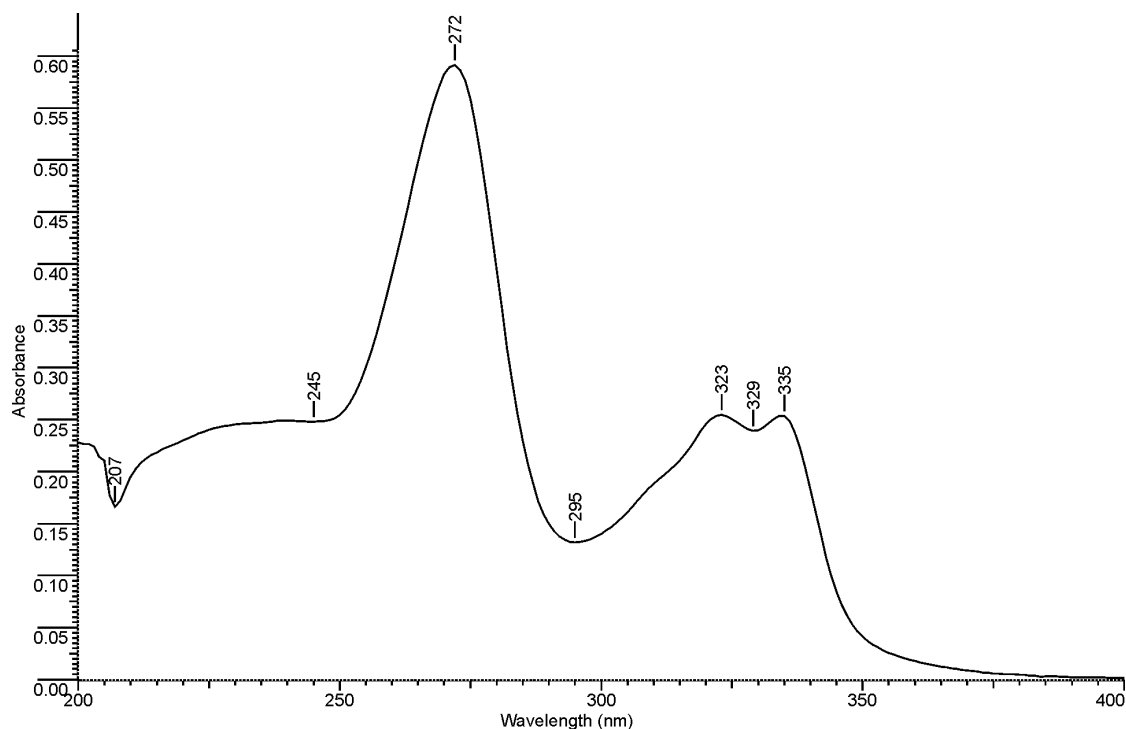


Рис. 4. УФ-Вид спектр ципрофлоксацина гидрохлорида 5 мкг/мл в 0,01 М NaOH.

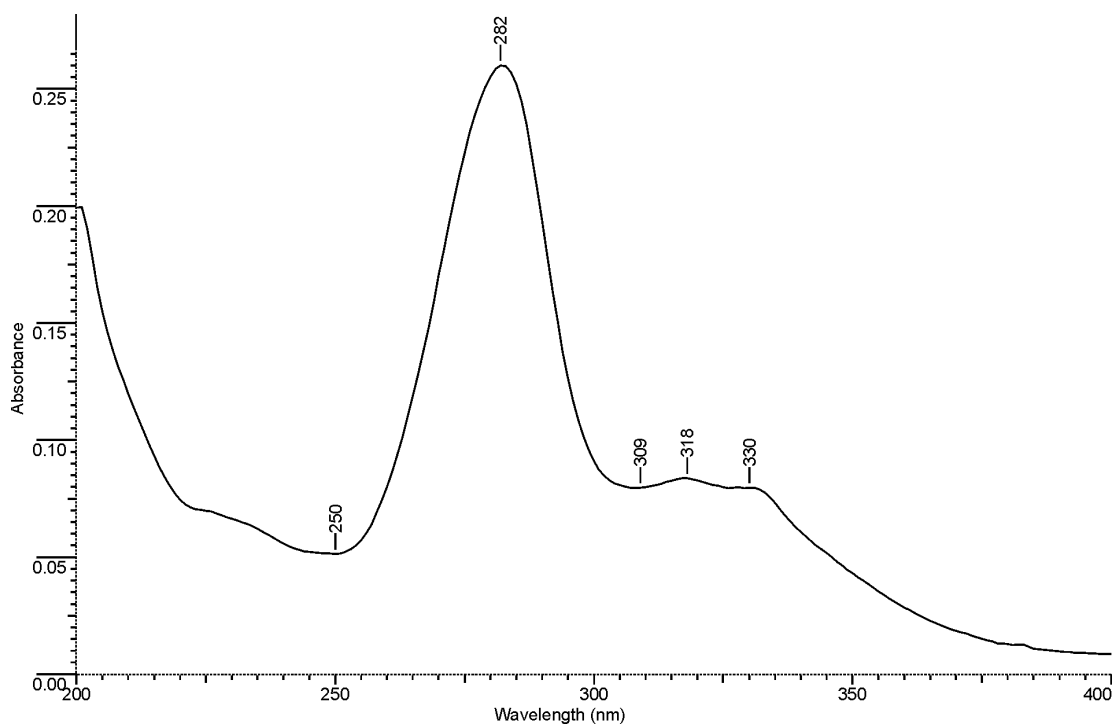


Рис. 5. УФ-Вид спектр основания ципрофлоксацина 5 мкг/мл в 96% этаноле.

полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводили объем раствора до метки 0,01 М раствор кислоты хлористоводородной. Полученный раствор фильтровали через фильтр типа “белая лента”, отбрасывая первые 10 мл фильтрата. Концентрация полученных растворов около 5 мкг/мл.

Используемые растворители

Вода дистиллированная, 0,01 М раствор кисло-

ты хлористоводородной (ГФ XI), 0,01 М раствор натрия гидроксида (ГФ XI), этанол 96%,.

Получение и обработка УФ-Вид спектров

В работе использовали однолучевой УФ-Вид спектрофотометр Аквилон СФ 103. Спектры получали в интервале длин волн от 200 нм до 450 нм. В качестве растворов сравнения использовали растворитель, с помощью которого готовился испытуемый раствор.

Обработку спектров осуществляли с использованием программы ACD/SpecViewer, Freeware Version (Advanced Chemistry Development, Канада).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

Выбор растворителей для приготовления испытуемых растворов, а также для экстракции фторхинолонов из препаратов, был основан на кислотно-основных свойствах данных лекарственных веществ. Фторхинолоны являются амфолитами, так как содержат в молекуле одновременно основные центры –

вторичный (норфлоксацин, спарфлоксацин, моксифлоксацин, ломефлоксацин, ципрофлоксацин) или третичный (пемфлоксацин, офлоксацин, левофлоксацин) алифатические атомы азота и кислотный центр – карбоксильную группу (табл. 1, рис. 1).

Неионизированные фторхинолоны мало растворимы в воде. В связи с этим не удалось получить спектры в воде оснований ципрофлоксацина и норфлоксацина. В кислой среде происходит протонирование вторичного или третичного алифатического атома азота, и растворимость данных соединений значительно увеличивается. В 0,01 М растворе кислоты хлористово-

Таблица 2

Спектральные характеристики фторхинолонов в различных растворителях

Лекарственное вещество	Растворитель	Спектральные характеристики	
		Основной максимум поглощения, нм	Приблизительное значение удельного показателя поглощения в максимуме (А 1%, 1 см)
Ципрофлоксацина гидрохлорид	0,01 М HCl	277	1160 (1350)
	Вода	275	1020 (1190)
	0,01 М NaOH	272	970 (1130)
Ципрофлоксацин	96% Этанол	282	520
Офлоксацин	0,01 М HCl	294	1020
	Вода	291	760
	0,01 М NaOH	288	1040
	96% Этанол	300	1060
Левофлоксацина гемигидрат	0,01 М HCl	294	900 (920)
	Вода	291	700 (720)
	0,01 М NaOH	288	1010 (1040)
	96% Этанол	300	1080 (1100)
Норфлоксацин	0,01 М HCl	277	1640
	0,01 М NaOH	272	1500
	96% Этанол	284	1440
Пемфлоксацина мезилат	0,01 М HCl	277	1300 (1820)
	Вода	276	900 (1260)
	0,01 М NaOH	272	1060 (1480)
	96% Этанол	284	1300 (1820)
Ломефлоксацина гидрохлорид	0,01 М HCl	288	1140 (1260)
	Вода	285	800 (880)
	0,01 М NaOH	283	940 (1040)
	96% Этанол	293	1080 (1190)
Спарфлоксацин	0,01 М HCl	299	760
	Вода	295	660
	0,01 М NaOH	293	620
	96% Этанол	309	680
Моксифлоксацина гидрохлорид	0,01 М HCl	296	1000 (1090)
	Вода	295	900 (980)
	0,01 М NaOH	292	1000 (1090)

Примечание: в скобках указан удельный показатель поглощения в пересчете на фторхинолон-основание или фторхинолон без кристаллизационной воды.

дородной растворяются все исследуемые вещества. Наличие кислотных свойств, обусловленных присутствием карбоксильной группы у всех вышеперечисленных фторхинолонов, позволяет им растворяться в щелочи. Для исследования спектров в щелочной среде готовились испытуемые растворы в 0,01 М растворе натрия гидроксида. В качестве органического растворителя использовали этанол 96%. Гидрохлориды ципрофлоксацина и моксифлоксацина мало растворимы в этаноле и их спектры в данной среде не получали.

Концентрация испытуемых растворов составила около 5 мкг/мл. При этом оптическая плотность растворов находилась в пределах 0,2-0,8, что повышает точность измерений [1-3].

Сложная сопряженная структура молекул фторхинолонов (рис. 1) обуславливает интенсивное поглощение в УФ (а иногда и в видимой) области спектра с формированием нескольких максимумов поглощения. А наличие карбоксильной группы, входящей в сопряженную систему, обуславливает зависимость спектров поглощения от значения pH среды.

На рис. 2 представлен УФ-Вид спектр водного раствора ципрофлоксацина гидрохлорида. В кислой среде (рис. 3) наблюдается очень незначительный bathochromic сдвиг по отношению к максимуму поглощения в воде. Наоборот, максимум поглощения ципрофлоксацина в 0,01 М растворе щелочи незначительно смещен в сторону коротких волн (рис. 4). В области от 200 до 215 нм при этом образуется характерный для ряда фторхинолонов минимум поглощения.

В среде 96% этанола наблюдается характерное значительное смещение максимума в сторону более длинных волн (рис. 5).

Как видно из представленных в табл. 2 данных, все фторхинолоны имеют очень высокие показатели поглощения в УФ-области спектра. Основной максимум в зависимости от растворителя находится в диапазоне от 270 до 310 нм.

УФ спектр, полученный после извлечения ципрофлоксацина из таблеток Ципробай 0,01 М раствором кислоты хлористоводородной, полностью соответствует спектру, представленному на рис. 3. Аналогичный результат был получен для таблеток Нолицин.

Таким образом, показано, что метод УФ-спектрофотометрии может использоваться для установления подлинности лекарственных веществ и лекарственных препаратов группы фторхинолонов.

ВЫВОДЫ

1. Показано, что лекарственные вещества группы фторхинолонов имеют характерные УФ-спектры. Основной максимум поглощения в зависимости от растворителя находится в диапазоне от 270 до 310 нм.
2. Показано, что ввиду высоких значений удельного показателя поглощения оптимальная концентрация испытуемого раствора составляет 5 мкг/мл.
3. Метод УФ-спектрофотометрии можно использовать для установления подлинности лекарственных средств группы фторхинолонов в виде субстанций и в лекарственной форме "таблетки". Для извлечения фторхинолонов из таблеток необходимо использовать 0,01 М раствор кислоты хлористоводородной.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Инструментальные методы химического анализа: Пер. с англ. – М.: Мир, 1989. – 608 с.
2. Методы спектрального анализа. Под редакцией проф. *В.Л. Левшина*, изд. Московского Университета., 1962.
3. Спектроскопия в органической химии. – М.: Химия, 1985. – 232 с.
4. British Pharmacopoeia (2001).
5. European Pharmacopoeia, 4th ed (2002).
6. The United States Pharmacopoeia, 27th revision (2004).