

ВЕРХ ВИЗНАЧЕННЯ ПАПАВЕРИНУ У СЕЧІ З ПОПЕРЕДНІМ КОНЦЕНТРУВАННЯМ МІЦЕЛЯРНОЮ ФАЗОЮ ДОДЕЦИЛСУЛЬФАТУ НАТРІЮ

Старова В.С., Куліченко С.А.

Київський національний університет імені Тараса Шевченка
Володимирська 64, Київ, Україна, 01061
*starova-v@ukr.net

Міцелярна екстракція модифікованими фазами на основі аніонної ПАР, додецилсульфату натрію (ДДСН), вбачається перспективною для концентрування позитивно-заряджених форм лікарських речовин. При цьому поєднання хроматографічних методів визначення з міцелярно-екстракційним концентруванням може сприяти покращенню метрологічних параметрів існуючих методик.

Метою роботи було дослідити вплив гідрофобності, будови та протолітичних властивостей ряду алкалоїдів на їх розподіл у міцелярно-екстракційній системі на основі ДДСН, а також на прикладі папаверину показати можливість розробки нових гібридних методик ВЕРХ визначення алкалоїдів з їх попереднім концентруванням у модифіковану міцелярну фазу ДДСН.

Розподіл алкалоїдів у міцелярно-екстракційній системі на основі ДДСН

Методика одержання міцелярної фази-колектора: 10 мл водного розчину ДДСН ($C_{\text{ДДСН}} = 0,05$ моль/л), що містить модифікуючі добавки саліцилової кислоти та хлориду натрію ($C_{\text{NaCl}} = 1,0$ моль/л, $C_{\text{H}_2\text{Sal}} = 0,02$ моль/л, $\text{pH} = 2$), поміщали у калібрувальні мірні циліндри об'ємом 10 мл, закріплювали на штативі і опускали у водяну баню. Для гомогенізації системи розчину спочатку нагрівали до $\sim 30^\circ\text{C}$ і перемішували, потім поступово охолоджували до кімнатної температури. Температуру розчинів контролювали за допомогою термометрів занурених у циліндри та безпосередньо у водяну баню. Сформована фаза ДДСН збиралася на дні циліндру. Після повного фазового розшарування фіксували об'єм міцелярної фази ДДСН та відокремлювали водну фазу декантацією.

Для дослідження розподілу алкалоїдів між водною та модифікованою міцелярною фазою ДДСН-NaCl-H₂Sal обрали ряд субстратів, що максимально відрізняються за будовою, гідрофобністю та протолітичними властивостями, табл. 1.

Таблиця 1

Значення екстракційних параметрів алкалоїдів у модифіковану фазу ДДСН залежно від їх будови, гідрофобності та протолітичних властивостей ($C_{\text{алкалоїду}} = 1 \cdot 10^{-3}$ моль/л, $C_{\text{ДДСН}} = 0,05$ моль/л, $C_{\text{NaCl}} = 1,0$ моль/л, $C_{\text{H}_2\text{Sal}} = 0,02$ моль/л, $\text{pH} = 2$, $V_0 = 10$ мл, $V_{\text{Міо}} = 0,5$ мл, $K = 20$)

Субстрат	log P	pK _a	χ	r, Å	PSA, Å ²	V, Å ³	R, %	D
Теобромін	-0,78	9,90	6,11	3,60	67,2	151	>99	-
Кофеїн	-0,07	10,4	6,15	3,87	58,4	168	83	244
Теофілін	-0,02	8,81	6,20	3,7	69,3	515	>99	-
Морфін	0,89	8,21	10,14	4,59	52,9	257	87	335
Атропін	1,83	9,43	10,20	5,9	49,8	279	84	262
Резерпін	3,32	6,60	21,37	9,75	118	549	61	78
Хінідін	3,44	8,56	12,05	6,7	45,6	311	85	283

Дані таблиці 1 свідчать, що найбільш повно у міцелярну фазу ДДСН вилучаються позитивно заряджені гідрофільні алкалоїди. При цьому збільшення значення pK_a алкалоїду призводить до зменшення його вилучення. Зі збільшенням розміру молекули субстрату ступінь його вилучення також монотонно зменшується, що є проявом організованості міцелярної фази-колектора. Розрахунком множинних регресій показано, що серед усіх параметрів будови алкалоїдів найбільший вплив на їх розподіл у даній міцелярно-екстракційній системі здійснює площа полярної поверхні молекули (PSA).

Показано, що врахування спільного впливу параметрів основних параметрів гідрофобності (logP), будови (PSA) та протолітичних властивостей (pK_a) алкалоїдів на значення їх коефіцієнту розподілу (D) забезпечує можливість кількісного прогнозування вилучення алкалоїдів у фазу ДДСН. Запропонована прогностична регресія $D = 941 - 4,09 \cdot \text{PSA} - 27,3 \cdot \log P - 44,5 \cdot \text{pK}_a$ характеризується задовільними метрологічними показниками (коефіцієнт лінійної кореляції 99,9, критерій Фішера 242, стандартна похибка 7,19, середня абсолютна похибка моделі 2,38). Точність прогнозу розподілу алкалоїдів за цією регресією знаходиться в межах точності вимірювання параметрів екстракції. Прогнозоване значення D для новокаїну становить 257 (R=93%), а експериментально знайдене значення – 202 (R=91%). Для лідокаїну прогнозоване та експериментальне значення D практично однакові і становлять 386 (R=95%) та 380 (R=95%), відповідно. На прикладі теофіліну та теоброміну показана можливість кількісного вилучення у міцелярну фазу ДДСН позитивно заряджених гідрофільних (logP<0) органічних основ.

Гібридна методика ВЕРХ визначення папаверину у сечі

Методика ВЕРХ визначення папаверину у сечі. В 10 мл центрифужованої пробі сечі розчиняли 0,14 г ДДСН, 0,03 г саліцилової кислоти, відому добавку папаверину та перемішували до повного розчинення реагентів. За допомогою розчину HCl встановлювали pH 2,0, додавали 0,6 г хлориду натрію, нагрівали до $\sim 30^\circ\text{C}$ та перемішували. Після охолодження водну фазу відокремлювали декантацією, а сформовану міцелярну фазу ($V_{\text{Міо}} = 0,5$ мл) розбавляли ацетонітрилом до 1 мл (pH=5) і проводили ВЕРХ визначення папаверину, рис.1. Як аналітичний сигнал використовували площу під хроматографічним піком.

Запропоновані умови забезпечують повне вилучення папаверину (R>99%) та ~ 10 -ти кратне концентрування (з врахуванням розбавлення перед хроматографуванням пробі). Загальна тривалість аналізу становить 30-40 хвилин.

Якісне розділення піків папаверину та компонентів міцелярної фази відбувається коли в якості нерухомої фази застосовували колонку C₁₈, а рухомою фазою була суміш вода/ацетонітрил у співвідношенні 50:50, швидкість потоку – 1 мл/хв, а УФ-детектування проводили при довжині хвилі 240 нм, рис. 2.

За даною методикою можна визначати алкалоїди з logP>1,4, інакше хроматографічні піки саліцилової кислоти та алкалоїду не розділяться.

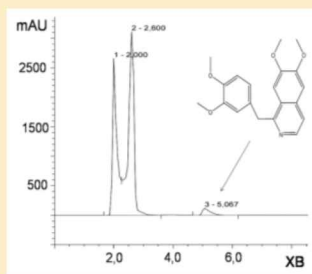


Рис. 1. Хроматограма міцелярного екстракту папаверину. $C_{\text{алкалоїду}} = 4 \cdot 10^{-5}$ моль/л, $C_{\text{ДДСН}} = 0,05$ моль/л, $C_{\text{H}_2\text{Sal}} = 0,02$ моль/л, $C_{\text{NaCl}} = 1,0$ моль/л.

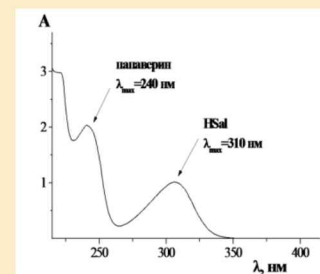


Рис. 2. Спектр поглинання папаверину у модифікованій фазі ДДСН. $C_{\text{ДДСН}} = 0,05$ моль/л, $C_{\text{H}_2\text{Sal}} = 0,02$ моль/л, $C_{\text{NaCl}} = 1,0$ моль/л, $C_{\text{алкалоїду}} = 1 \cdot 10^{-3}$ моль/л.

Дані табл. 2 свідчать про достатню точність запропонованої гібридної методики визначення папаверину в пробах сечі невеликого об'єму. Чутливість запропонованої гібридної ВЕРХ методики достатня для визначення вмісту алкалоїдів у реальних пробах сечі (MB=0,01 мкг/мл, R>99%, K=10), з врахуванням фармакокінетичних властивостей препаратів та середніх доз застосування, вміст папаверину у сечі знаходиться на рівні $\sim 6,0$ мкг/мл.

Таблиця 2

Результати визначення папаверину після міцелярно-екстракційного концентрування модифікованою фазою ДДСН (n=3, P=0,95)

Введено, мкг/мл	Знайдено, мкг/мл	S _r
6,8	6,0±0,8	0,071
13,6	12,0±1,7	0,076

Таким чином, було доведено перспективність поєднання методики ВЕРХ визначення мікрокількостей алкалоїдів з попереднім їх міцелярно-екстракційним концентруванням фазами на основі ДДСН.