

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕКСИДОЛА В ТАБЛЕТКАХ МЕТОДОМ ПРОИЗВОДНОЙ СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ

© Квачахия Л.Л., Шорманов В.К., Максина Е.В.

Курский государственный медицинский университет (КГМУ)

Россия, 305041, Курская область, г. Курск, ул. К. Маркса, д. 3

Мексидол (3-гидрокси-6-метил-2-этилпиридина сукцинат) – лекарственное средство, проявляющее нейропротекторное, антигипоксическое, антиишемическое, ноотропное, антистрессовое и геропротекторное действие и способное подавлять или замедлять реакции окисления.

Цель: разработка селективной и несложной методики оценки содержания мексидола в таблетках.

Материалы и методы. Объектами исследования явились мексидол (3-гидрокси-6-метил-2-этилпиридина сукцинат) и таблетки мексидола 0,125 г. Как метод анализа применена производная спектрофотометрия.

Результаты. Выявлена способность мексидола интенсивно поглощать электромагнитное излучение в области кварцевого ультрафиолета. Это обстоятельство обусловлено тем, что в молекуле аналита присутствует ряд хромофорных группировок: система сопряженных ароматических связей пиридинового цикла, неспаренные электроны у атома азота и енольный гидроксил, сопряженный с ароматической системой.

В области 292 нм имеется линейная зависимость производных 2-го порядка коэффициента поглощения мексидола от количества аналита в фотометрируемом растворе (интервал 2,5-50,0 мкг/мл). Построен градуировочный график, проведен расчет его уравнения методом наименьших квадратов. Коэффициент корреляции превышает 0,999. Пределы обнаружения и количественного определения составляют 1,25 и 2,5 мкг/мл соответственно. Методика характеризуется необходимой воспроизводимостью и правильностью. Значения стандартного отклонения и относительного стандартного отклонения при определении аналита с использованием предлагаемой методики ($n=6$; $p=0,95$) в таблеточной массе равны соответственно 1,16 и 0,012, в таблетках 0,125 г – соответственно 1,32 и 0,013.

Заключение. Разработана простая и селективная методика оценки количественного содержания мексидола в таблетках 0,125 г на основе расчета производных спектров второго порядка.

Ключевые слова: мексидол (3-гидрокси-6-метил-2-этилпиридина сукцинат); производная спектрофотометрия; определение в таблетках.

Квачахия Лексо Лорикович – д-р фарм. наук, зав. кафедрой фармацевтической, токсикологической и аналитической химии, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0001-5899-0420. E-mail: lekso82@yandex.ru (автор, ответственный за переписку)

Шорманов Владимир Камбулатович – д-р фарм. наук, профессор кафедры фармацевтической, токсикологической и аналитической химии, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0001-8872-0691. E-mail: R-WLADIMIR@yandex.ru

Максина Елена Викторовна – ст. лаборант кафедры фармацевтической, токсикологической и аналитической химии, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0009-0007-2185-3300. E-mail: evbelyaeva78@yandex.ru

Мексидол (3-гидрокси-6-метил-2-этилпиридина сукцинат) является лекарственным средством, которое обладает нейропротекторными, антигипоксическими, антиишемическими, ноотропными, антистрессовыми и геропротекторными свойствами. Данное вещество подавляет или замедляет реакции окисления. По некоторым данным мексидол улучшает реологические свойства крови. Также противодействует повреждающему действию окисления в тканях организма. При приеме внутрь это соединение быстро и хорошо всасывается. Мексидол растворим в некоторых растворителях, таких как вода и этанол 96%, практически нерастворим в хлороформе. Его молекулярная масса 255,27 [1].

По некоторым литературным данным исследуемое соединение обладает значительной токсичностью по отношению к теплокровным организмам. При изучении токсических свойств на лабораторных животных (крысы) LD_{50} для анализируемого соединения – 0,43 г/кг, для мышей LD_{50} (в/в введение) – 0,21 г/кг [2].

В литературе мало информации о методах определения мексидола и близких структур в лекарственных формах. Так, например, разработан вольтамперометрический метод определения содержания пиридоксина в различных видах коммерческих напитков. Данный электроаналитический метод основан на анодном окислении этого биологически активного азотсодержащего вещества на стеклоуглеродном электроде, покрытом тонким слоем сульфированного фторполимера [3–6].

Описано применение тонкослойной хроматографии (ТСХ) и высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ) для разделения и идентификации витаминов, в том числе пиридоксина, из их смесей с использованием различных видов подвижных фаз, таких как изократические и смешанные растворители, а также подвижные растворители [7].

Описанные варианты аналитической оценки в большинстве своем трудоемки и требуют использования высокотехнологичного оборудования.

Цель исследования – разработка селективной и несложной методики оценки содержания мексидола в таблетках.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объекты данной работы – мексидол (химическое название – 3-гидрокси-6-метил-2-этилпиридина сукцинат) [соответствует ФС.2.1.0046.15] и его таблетки 0,125 г [соответствуют ЛП-N=(000086)-(РГ-RU) от 16.09.2022 г.].

В анализе азотсодержащих лекарственных средств, к которым относится рассматриваемый аналит, хорошие результаты дают относительно простые и доступные фотометрические методы [8].

Для определения мексидола как аналитический метод предложена одна из разновидностей фотометрии – производная спектрофотометрия.

На наш взгляд, для количественного определения данного аналита целесообразно более целенаправленное внедрение варианта производной спектрофотометрии посредством вычисления производных 2-го порядка [9].

Цель, преследуемая вычислением вторых производных, состоит в обеспечении лучшей дифференциации соседних полос электронных переходов за счет их сужения, проявляющейся в их более четком разделении, в получении данных об истинном положении максимумов и минимумов электронных спектров. Перечисленные свойства спектров вторых производных повышают селективность спектрофотометрического анализа интенсивно поглощающих аналитов в различных плотных матрицах, в числе которых, в частности, находятся таблетки.

Расчет производных второго порядка был положен в основу количественного определения мексидола в таблетках, покрытых оболочкой.

Сначала исследовались особенности поглощения мексидолом светового излучения УФ-диапазона в различных растворителях.

Измеряли оптическую плотность различных растворов мексидола на приборе СФ-2000. Путем численного дифференцирования совокупности значений удельного коэффициента поглощения, полученных на основе оптических плотностей этанольного раствора (измерение с интервалом 5 нм), вычисляли производные второго порядка. Способом нивелирования шума при переходе от первых ко вторым производным являлось уменьшение шага дифференцирования.

При выполнении эксперимента делали серию из 8 растворов мексидола в среде этанола, содержащих от 2,5 до 50,0 мкг/мл с интервалами от 2,5 до 10,0 мкг/мл. На приборе СФ-2000 проводили измерение значений оптической плот-

ности каждого из растворов градуировочной серии в заданном интервале УФ-диапазона спектра на фоне чистого растворителя. На основе каждого значения оптической плотности вычисляли соответствующее значение удельного коэффициента поглощения.

Методом численного дифференцирования рассчитывали для детектируемых растворов производные 2-го порядка от удельного коэффициента поглощения (E). После проведения измерений и расчетов строили градуировочный график.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Установлена способность мексидола интенсивно поглощать электромагнитное излучение в области кварцевого ультрафиолета. Это обстоятельство, очевидно, объясняется тем, что в молекуле аналита присутствует ряд хромофорных группировок: система сопряженных ароматических связей пиридинового цикла, неспаренные электроны у атома азота и енольный гидроксил, сопряженный с ароматической системой.

Экспериментальным путем удалось установить, что наиболее приемлемой средой для исследования характера поглощающей способности мексидола в УФ-диапазоне является представитель группы низших алифатических спиртов этанол.

Поглощение мексидола в этаноле отличает пара сравнимых по интенсивности неперекрывающихся полос с максимумами 221 и 288 нм. Рассчитанные в эксперименте величины удельного и молярного коэффициентов поглощения оказались равными соответственно 330 и 8285 (для экстремума 221 нм) и соответственно 268 и 6739 (для экстремума 288 нм).

Рисунки 1 и 2 содержат изображения УФ-спектра мексидола и спектра второй производной спектра в этаноле.

В спектре второй производной, как видно при сравнении рис. 1 и 2, длинноволновый максимум находится несколько ближе к ИК-области и соответствует 292 нм.

Рассчитанное для максимума 292 нм уравнение регрессии имеет вид: $E'' = 8,514588 \times C - 0,941751$, в котором E'' и C – соответственно величины второй производной удельного коэффициента поглощения аналита и его содержания (мкг/мл) в фотометрируемом растворе.

Градуировочный график изображен на рисунке 3.

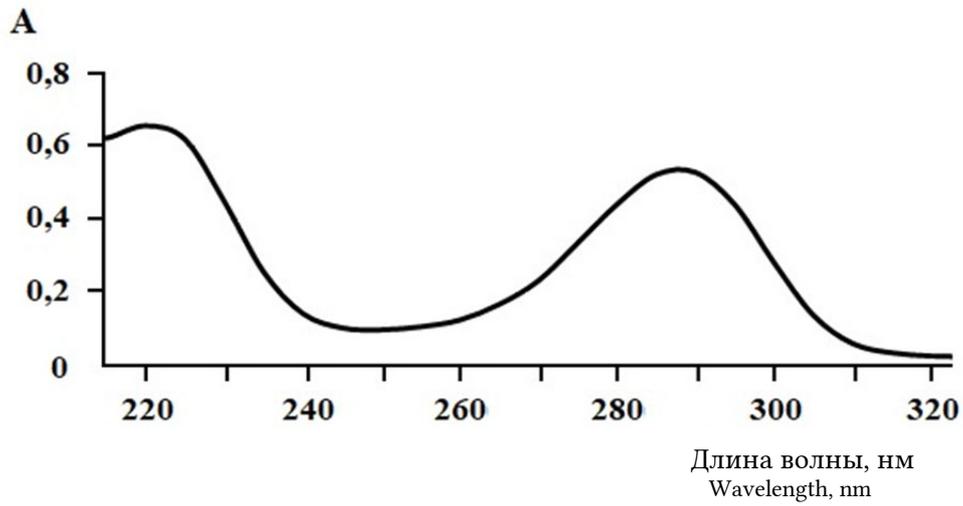


Рис. 1. УФ-спектр 0,002% раствора мексидола в этаноле.

Fig. 1. UV spectrum of a 0.002% solution of mexidol in ethanol.

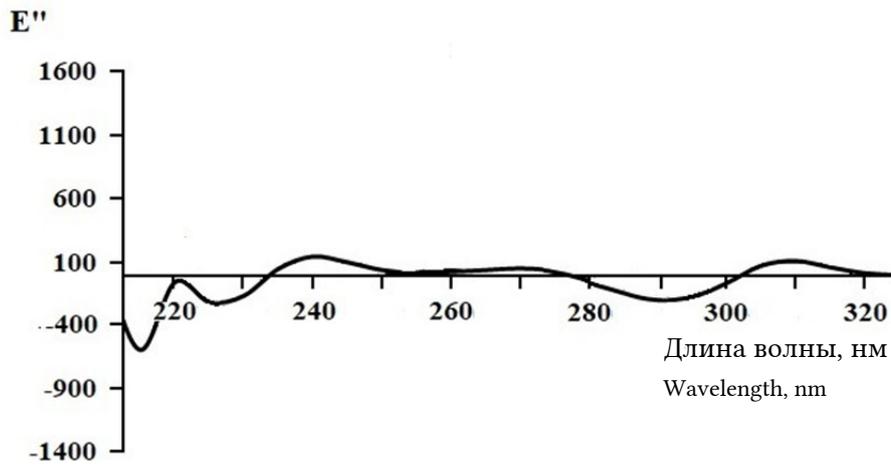


Рис. 2. Производная второго порядка УФ-спектра 0,002% раствора мексидола в этаноле.

Fig. 2. Second-order derivative of the UV spectrum of a 0.002% solution of mexidol in ethanol.

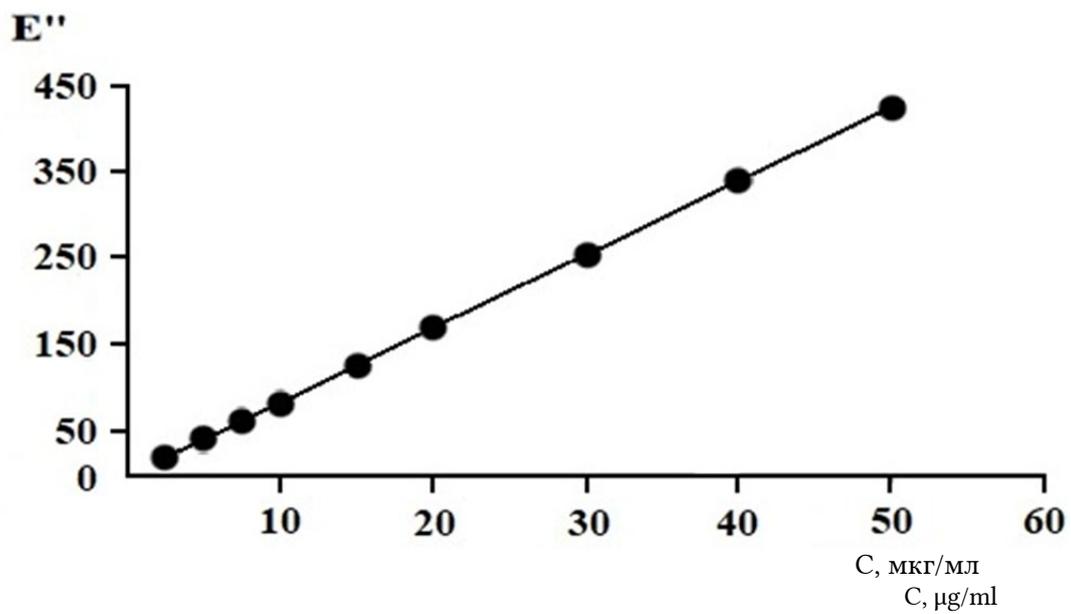


Рис. 3. Градуировочный график.

Fig. 3. Calibration curve.

Предложена схема определения количества мексидола в таблетках и массе для таблетирования на основе полученных данных, время воспроизведения которой колеблется от 0,15 до 0,2 ч.

Точную навеску ($\approx 0,2$ г) матрицы, представляющей собой массу для таблетирования или таблетки в порошкообразном состоянии и содержащей аналит, обрабатывали 12-15 мл этанола, встряхивая 5-7 минут, объем раствора доводили до 25 мл в соответствующей мерной колбе (исходный раствор). Исходный раствор, содержащий аналит и частицы вспомогательных веществ таблетки или массы для таблетирования, подвергали очистке путем пропускания через бумажный фильтр «белая лента». Начальные 6-8 мл фильтрата не использовали в работе. Следующие за ними порции использовали для получения растворов № 1 (разведение исходного раствора в соотношении 1:10) и № 2 (разведение раствора № 1 в соотношении 3:50). Интенсивность поглощения УФ-света раствором № 2 измеряли в единицах оптической плотности, переводили полученные значения в размерность удельного коэффициента поглощения, после чего рассчитывали производные второго порядка. Принимая во внимание приведенное выше уравнение регрессии, находили количество аналита, присутствующее в смеси для таблетирования (формирования таблеток) или в таблетках 0,125 г.

В таблицах 1 и 2 проиллюстрированы результаты 6 параллельных определений. Задаваемая доверительная вероятность составляла 0,95.

Предложенная схема оценки присутствия аналита в матрице, подвергнутая валидацион-

ным действиям, показала соответствие существующим нормам селективности, правильности и воспроизводимости. Найденные пределы обнаружения и количественного определения мексидола оказались равными 1,25 и 2,5 мкг/мл соответственно.

Значения стандартного отклонения и относительного стандартного отклонения в таблеточной массе равны соответственно 1,16 и 0,012, в таблетках 0,125 г – 1,32 и 0,013 соответственно. Относительная ошибка среднего результата при определении в таблеточной массе и таблетках – соответственно 1,22 и 1,38.

Методика отвечает основным валидационным критериям, принятым в фармацевтическом анализе, и предоставляет возможность количественно определять мексидол в лекарственной форме (таблетках, покрытых оболочкой, 0,125 г).

Таким образом, результаты выполненных экспериментов обусловили ряд выводов:

1. Изучен характер поглощения УФ-света мексидолом, показаны преимущества расчета вторых производных электронного спектра аналита в этаноле.

2. На основе применения метода вторых производных предложен вариант спектрофотометрической оценки содержания мексидола в таблетках 0,125 г.

3. Разработанная схема анализа проста и валидна по основным аналитическим показателям. При заявленной доверительной вероятности 95% относительная ошибка среднего результата для определения аналита в таблетках 0,125 г не превышает 1,4%.

Таблица 1

Table 1

Данные количественной оценки присутствия мексидола в смеси для формирования таблеток (n = 6; p=0,95)

Quantification data for the presence of mexidol in the mixture for the formation of tablets (n = 6; P = 0.95)

Масса мексидола в смеси для формирования 1 таблетки, г The mass of mexidol in the mixture for the formation of 1 tablet, g	Анализируемая навеска смеси для формирования таблеток, г Analyzed sample of the mixture for the formation of tablets, g	Определено Determined		Данные метрологии Metrology data	Допустимые отклонения от нормы Permissible deviations from the norm
		в единицах массы, г in units of mass, g	в процентах in percentages		
0.125	0.25947	0.12424	98.83	$\bar{x} = 100.02$ $S = 1.16$ $S_{\bar{x}} = 0.48$ $S_r = 0.012$ $\Delta\bar{x} = 1.22$ $\bar{\varepsilon} = 1.22$	$\pm 4.8 \%$ ЛП-N=(000086)-(ПГ- RU) от 16.09.2022 г
	0.25424	0.12497	101.45		
	0.25659	0.12478	100.37		
	0.25802	0.12495	99.96		
	0.26011	0.12726	100.98		
	0.26123	0.12469	98.52		

Данные количественной оценки присутствия мексидола в таблетках (n = 6; P=0,95)

The results of the quantitative determination of mexidol in tablets (n = 6; P = 0.95)

Масса мексидола в смеси для формирования 1 таблетки, г The mass of mexidol in the mixture for the formation of 1 tablet, g	Анализируемая навеска смеси для формирования таблеток, г Analyzed sample of the mixture for the formation of tablets, g	Определено Determined		Данные метрологии Metrology data	Допустимые отклонения от нормы Permissible deviations from the norm
		в единицах массы, г in units of mass, g	в процентах in percentages		
0.125	0.21486	0.10291	98.85	$\bar{x} = 99.96$ $S = 1.32$ $S_{\bar{x}} = 0.54$ $S_r = 0.013$ $\Delta\bar{x} = 1.38$ $\bar{\varepsilon} = 1.38$	±4.8 % ЛП-N=(000086)-(ПГ- RU) от 16.09.2022 г
	0.20397	0.09910	100.28		
	0.18942	0.09272	101.03		
	0.20581	0.09938	99.67		
	0.20805	0.09901	98.22		
	0.19624	0.09672	101.72		

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Карманова Е.Е., Черников А.В., Усачева А.М., Брусков В.И. Антиоксидантные и генопротекторные свойства этилметилгидроксипиридина сукцината (мексидола) при рентгеновском облучении. *Химико-фармацевтический журнал*. 2020;54(7):10–14. DOI: 10.30906/0023-1134-2020-54-7-10-14. EDN: СРЕРВУ. [Karmanova E.E., Chernikov A.V., Usacheva A.M., Bruskov V.I. Antioxidant and gene-protective properties of ethylmethylhydroxypyridine succinate (Mexidol) in X-ray irradiation. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2020;54(7):673–677. DOI: 10.1007/s11094-020-02255-2. EDN: TDBFOQ.]
2. Smyth D., Kramarz C., Car A.S., Rossor A.M., Lunn M.P. Toxic neuropathies: a practical approach. *Pract Neurol*. 2023;23:120–130. DOI: 10.1136/practneurol-2022-003444.
3. Sadeghi H., Shahidi S.A., Raeisi S.N., Ghorbani-HasanSaraei A., Karimi F. Electrochemical determination of vitamin B6 in water and juice samples using an electrochemical sensor amplified with NiO/CNTs and Ionic liquid. *Int. J. Electrochem. Sci*. 2020;15:10488–10498. DOI: 10.20964/2020.10.51
4. Pereira D.F., Santana E.R., Spinelli A. Electrochemical paper-based analytical devices containing magnetite

nanoparticles for the determination of vitamins B2 and B6. *Microchemical Journal*. 2022;179:107588. DOI: 10.1016/j.microc.2022.107588

5. Farag A.S., Pravcová K., Česlová L., Vytřas K., Sýs M. Simultaneous determination of caffeine and pyridoxine in energy drinks using differential pulse voltammetry at glassy carbon electrode modified with Nafion®. *Electroanalysis*. 2019;31(8):1494–1499. DOI: 10.1002/elan.201800646
6. Pereira D.F., Santana E.R., Spinelli A. Electrochemical paper-based analytical devices containing magnetite nanoparticles for the determination of vitamins B2 and B6. *Microchemical Journal*. 2022;179:107588. DOI: 10.1016/j.microc.2022.107588
7. Ullah Q., Mohammad A. Vitamins determination by TLC/HPTLC – a mini-review. *JPC-Journal of Planar Chromatography-Modern TLC*. 2020;33:429–437. DOI: 10.1007/s00764-020-00051-y
8. Shormanov V.K., Bulatnikov G.G. Photometric determination of collagen. *Journal of Analytical Chemistry*. 2006;61(4):320–324. DOI: 10.1134/S1061934806040034
9. Шорманов В.К., Квачахия Л.Л., Ртищев К.П. Определение верапамила в плазме крови. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. 2014;(2):107–113 [Shormanov V.K., Kvachakhiya L.L., Rtishchev K.P. Determination of verapamil in blood plasma. *Kursk scientific and practical bulletin "Man and his health"*. 2014;(2):107–113 (in Russ.)]. EDN: SNMMSV

Поступила в редакцию 15.04.2023

Подписана в печать 26.06.2023

Для цитирования: Квачахия Л.Л., Шорманов В.К., Максина Е.В. Определение мексидола в таблетках методом производной спектрофотометрии. *Человек и его здоровье*. 2023;26(2):80–85. DOI: 10.21626/vesnik/2023-2/10. EDN: DHVEMI.

DETERMINATION OF MEXIDOL IN TABLETS BY THE METHOD OF DERIVATIVE SPECTROPHOTOMETRY

© Kvachakhiya L.L., Shormanov V.K., Maksina E.V.

Kursk State Medical University (KSMU)

3, K. Marx Str., Kursk, Kursk region, 305041, Russia

Mexidol (3-hydroxy-6-methyl-2-ethylpyridine succinate) is a drug that exhibits neuroprotective, antihypoxic, anti-ischemic, nootropic, anti-stress and geroprotective effects and can suppress or slow down oxidation reactions.

Objective: to develop a selective and simple method for assessing the content of mexidol in tablets.

Materials and methods. The objects of the study were mexidol (3-hydroxy-6-methyl-2-ethylpyridine succinate) and Mexidol tablets 0.125 g. Derivative spectrophotometry was used as an analysis method.

Results. The ability of mexidol to intensively absorb electromagnetic radiation in the quartz ultraviolet region was revealed. This phenomenon is due to the fact that the analyte molecule contains a number of chromophore groups: a system of conjugated aromatic bonds of the pyridine ring, unpaired electrons at the nitrogen atom, and an enol hydroxyl conjugated with the aromatic system

In the region of 292 nm, there is a linear dependence of the derivatives of the 2nd order of the specific absorption coefficient of mexidol on the amount of analyte in the photometric solution (range 2.5-50.0 µg/ml). A calibration graph has been constructed, and its equation has been calculated by the least-squares method. The correlation coefficient exceeds 0.999. The limits of detection and quantification are 1.25 and 2.5 µg/ml, respectively. The technique is characterized by the necessary reproducibility and correctness. The values of the standard deviation and relative standard deviation in the determination of the analyte using the proposed method (n=6; P=0.95) in the tablet mass are 1.16 and 0.012, respectively, in tablets of 0.125 g, 1.32 and 0.013, respectively.

Conclusion. A simple and selective method has been developed for estimating the quantitative content of mexidol in 0.125 g tablets based on the calculation of second-order derivatives of spectra.

Keywords: mexidol (3-hydroxy-6-methyl-2-ethylpyridine succinate); spectrophotometric derivative; determination in tablets.

Kvachakhiya Lekso L. – Dr. Sci. (Pharm.), Head of the Department of Pharmaceutical, Toxicological, and Analytical Chemistry, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-5899-0420. E-mail: lekso82@yandex.ru (corresponding author)

Sharmanov Vladimir K. – Dr. Sci. (Pharm.), Professor at the Department of Pharmaceutical, Toxicological, and Analytical Chemistry, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-8872-0691. E-mail: R-WLADIMIR@yandex.ru

Maksina Elena V. – Senior Laboratory Assistant at the Department of Pharmaceutical, Toxicological, and Analytical Chemistry, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0009-0007-2185-3300. E-mail: evbelyaeva78@yandex.ru

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

SOURCE OF FINANCING

The authors state that there is no funding for the study.

Received 15.04.2023

Accepted 26.06.2023

For citation: Kvachakhiya L.L., Shormanov V.K., Maksina E.V. Determination of Mexidol in tablets by the method of derivative spectrophotometry. *Humans and their health*. 2023;26(2):80–85. DOI: 10.21626/vestnik/2023-2/10. EDN: