



УДК 543.2,542.61,661.185.1

© 2009

С. А. Куліченко, В. О. Дорощук, Н. А. Гонта, М. В. Дроздова

**Міжфазовий розподіл серцево-судинних
фармацевтичних препаратів у класичних
та індукованих фенолом міцелярно-екстракційних
системах**

(Представлено членом-кореспондентом НАН України М. С. Слободяником)

Вивчено вплив гідрофобності та структури молекул фармацевтичних препаратів на ефективність їх міжфазового розподілу в класичних та індукованих фенолом міцелярно-екстракційних системах. Характер взаємного впливу обох факторів свідчить про "організованість" чистих та фенол-модифікованих міцелярних фаз неіонних поверхнево-активних речовин. На підставі отриманих даних запропоновано моделі для прогнозування параметрів міцелярної екстракції серцево-судинних фармацевтичних препаратів для їх концентрування перед визначенням.

Останнім часом широкого застосування набувають низькотемпературні варіанти міцелярної екстракції індукованими фазами неіонних поверхнево-активних речовин (НПАР) при температурі помутніння для визначення мікрокомпонентів гібридними методами [1, 2]. Особливістю таких міцелярно-екстракційних систем є стимуляція фазового розшарування у водних розчинах НПАР гідротропними домішками, що істотно знижує температуру фазових переходів [3], тому ці системи розглядаються як перспективні для концентрування та розділення лабільних субстратів [4, 5]. Однією з найбільш ефективних гідротропних домішок у системах є фенол [6].

При традиційній індукованій температурою міцелярній екстракції основними чинниками, що визначають параметри розподілу, є гідрофобність, структура та заряд субстрату [7]. На відміну від класичної міцелярної екстракції при нагріванні, у літературі практично відсутні роботи, які узагальнюють закономірності розподілу субстратів між водною та індукованою фенолом фазами НПАР. На нашу думку, такі дані дали б змогу раціонально та цілеспрямовано створювати ефективні індуковані фенолом міцелярно-екстракційні системи для концентрування та вилучення субстратів різної природи.

За об'єкти для дослідження закономірностей міжфазового розподілу субстратів у міцелярно-екстракційних системах обрано фармацевтичні препарати (далі фармпрепарати), які становлять одну з найважливіших груп лікарських засобів. Їх різноманітність у межах

певних груп дозволяє простежити вплив гідрофобності та структури на параметри їх міцелярно-екстракційного вилучення. Крім того, визначення фармпрепаратів у біологічних об'єктах практично неможливе без попереднього концентрування [8, 9]. Тому в роботі досліджено міжфазовий розподіл серцево-судинних фармпрепаратів для встановлення основних закономірностей та відмінностей класичної та індукованої фенолом міцелярної екстракції фазами НПАР.

Об'єкти та методи дослідження. Міцелярну екстракцію здійснювали у фазу НПАР препарату Triton X-100 ("Merck", вміст основної речовини > 98,5%), вибір якого зумовлений хорошою розчинністю у воді, низьким значенням критичної концентрації міцелоутворення, великою солубілізаційною здатністю. Розчини цього препарату готували з наважки препарату в дистильованій воді.

У роботі використовували субстанції аспарагінової кислоти, таурину, гідрохлоротиазиду, триметазидину, фуросеміду, вінпоцетину, цинаризину з вмістом основної речовини $\geq 99,5\%$. Розчини субстратів готували з точної наважки у розчині НПАР. Фенол використовували кваліфікації "ч. д. а".

Спектри поглинання розчинів визначали на спектрофотометрі Lambda 25; кислотність розчинів вимірювали за допомогою рН-метра "рН 340" зі скляним електродом ЭСЛ-43-07. Для дослідження міжфазового розподілу фармпрепаратів використовували хроматограф Shimadzu CBM-20A з УФ-детектором SPD20A.

Методика експерименту. Водні розчини НПАР, що містили всі необхідні компоненти, поміщали в калібровані мірні циліндри об'ємом 10 мл, закріплювали у штативі та занурювали у водяну баню. Температуру розчинів контролювали за допомогою термометрів, занурених у циліндри та безпосередньо у водяну баню. При досягненні температури помутніння спостерігали появу характерної опалесценції розчинів, далі витримували систему при цій температурі до повного розшарування фаз. Утворювані фази НПАР осідали на дні мірного циліндра, тому що густина міцелярних фаз дещо більша за густину води. Після фазового розподілу і охолодження розчинів до кімнатної температури водну фазу відділяли декантацією, а міцелярну фазу розбавляли дистильованою водою до необхідного об'єму. Експеримент проводили в умовах існування електронейтральних молекулярних форм субстратів при відповідних значеннях рН.

Розподіл фармпрепаратів між водною та міцелярною фазами контролювали методом оберненофазової високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ). На підставі отриманих даних розраховували ступені добування (R) та коефіцієнти розподілу (D) препаратів у водно-міцелярних розчинах НПАР.

Результати та їх обговорення. Нами досліджено вплив основних факторів на розподіл серцево-судинних фармпрепаратів у міцелярно-екстракційних системах НПАР Triton X-100. Традиційно для прогнозування впливу гідрофобності на ефективність міцелярно-екстракційного добування субстратів використовують величину коефіцієнта їх розподілу у системі вода — n -октанол ($\lg P$), який є загальноприйнятим параметром ліофільних властивостей речовин [10]. Встановлено, що у загальному випадку із збільшенням гідрофобності вивчених препаратів ступінь їх добування в індивідуальну та індуковану фенолом міцелярні фази монотонно зростає з виходом на плато при $\lg P > 3$ (рис. 1). При цьому характер залежності $R = f(\lg P)$ та відповідної диференціальної кривої дозволяє умовно виділити три групи препаратів залежно від їх гідрофобності. До першої — слід віднести гідрофільні препарати з $\lg P < 1$, які більш ефективно вилучаються в індивідуальну міцелярну фазу Triton X-100. Другу становлять помірно гідрофобні препарати з $1 < \lg P < 3$.

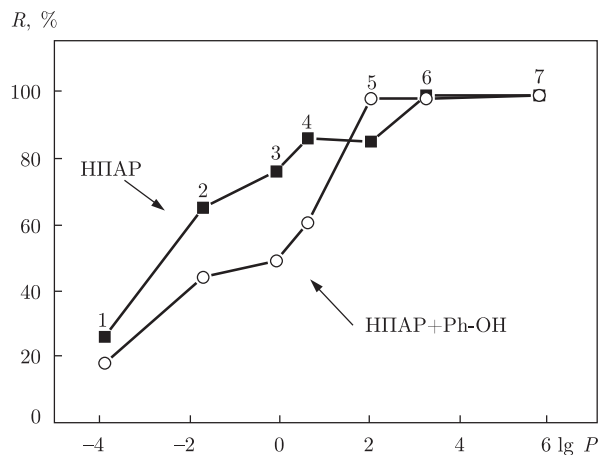


Рис. 1. Залежність ступеня добування серцево-судинних препаратів у міцелярну фазу НПААР від константи їх міжфазового розподілу в системі вода — *n*-октанол. $C_{\text{НПААР}} = 2\%$, $C_{\text{Ph-OH}} = 0,5\%$.

Тут і на рис. 2: точкам 1–7 відповідають досліджувані препарати — аспарагінова кислота (1), таурин (2), гідрохлоротіазид (3), триметазидин (4), фуросемід (5), вінпоцетин (6), цинаризин (7)

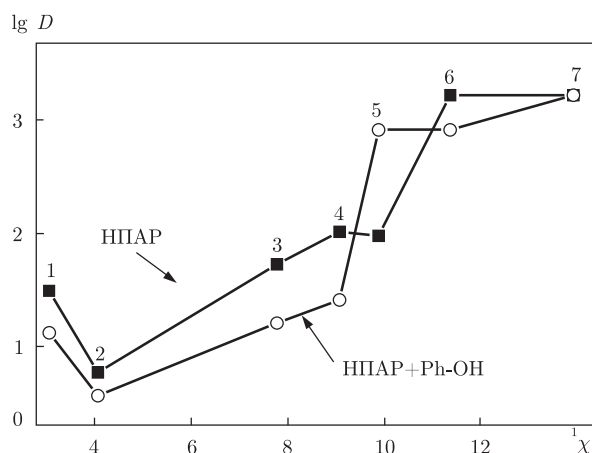


Рис. 2. Залежність коефіцієнта розподілу серцево-судинних препаратів у міцелярну фазу НПААР від величини їх індексу молекулярного зв'язування. $C_{\text{НПААР}} = 2\%$, $C_{\text{Ph-OH}} = 0,5\%$

Для препаратів цієї групи характерна більш ефективна міцелярна екстракція субстратів у індуковані фенолом міцелярні фази НПААР. Високогідрофобні препарати з $\lg P > 3$ практично повністю ($R > 99\%$) вилучаються в індуковані температурою та фенолом міцелярні фази і становлять третю умовно виділену групу.

У роботі також дослідили вплив структури молекули субстрату на його добування в міцелярні фази НПААР при температурі помутніння (рис. 2). Структуру молекул фармпрепаратів передавали через величину індексу молекулярного зв'язування першого порядку (${}^1\chi$), який враховує розгалуженість молекули і визначається за формулою:

$${}^1\chi = \Sigma(\delta_i \cdot \delta_j)^{-0,5},$$

де i та j — безпосередньо зв'язані між собою атоми. При розрахунку ${}^1\chi$ кожному атому молекули присвоюється число δ , що відповідає кількості атомів, з якими він безпосередньо зв'язаний (крім атомів водню) [11].

Встановлено, що залежність $\lg D = f(\chi)$ для досліджуваної групи серцево-судинних препаратів практично повторює хід залежності $R = f(\lg P)$, що зумовлено симбатним збільшенням значення індексу молекулярного зв'язування із збільшенням гідрофобності субстратів.

У роботі дослідили можливість моделювання параметрів індукованої температурою й фенолом міцелярної екстракції фармпрепаратів першої умовно виділеної групи ($\lg P < 1$) за допомогою множинних регресій, які враховують гідрофобність та структуру субстратів. Більш гідрофобні препарати другої та третьої груп ($\lg P > 1$) вилучаються у фази НПАР достатньо для розробки методик їх міцелярно-екстракційного концентрування. Розраховані множинні регресії та їх метрологічні характеристики наведені у табл. 1 і 2.

За даними табл. 1, основним фактором, який визначає ефективність вилучення дослідженого ряду фармпрепаратів, є гідрофобність субстрату. Примітно, що значення коефіцієнта при $\lg P$ для рівняння (1) більше, ніж для рівняння (4). Крім цього, для немодифікованої системи індивідуального Triton X-100 значення коефіцієнта лінійної кореляції вище у порівнянні з екстракцією індукованими фенолом фазами.

Мінімальні значення критерію Фішера та коефіцієнта лінійної кореляції для рівнянь (2) й (5) показують, що безпосередньо значення індексу молекулярного зв'язування на параметри розподілу субстратів впливає значно менше. Крім того, для цих регресій значення стандартної та середньої абсолютної похибок моделі є найбільшими. При цьому більш значний вплив структури на коефіцієнти розподілу субстратів спостерігається при екстракції індивідуальними фазами НПАР і пояснюється високим ступенем "організованості" утвореної міцелярної фази.

Таблиця 1. Значення критерію Фішера (F), стандартної похибки моделі (S), коефіцієнта лінійної кореляції (r^2) та середньої абсолютної похибки (M) для регресії

Номер п/п	Рівняння регресії	r^2	S	M	F
Міцелярна екстракція індивідуальними фазами					
1	$\lg D = 1,83 + 0,26 \lg P$	97,5	0,10	0,06	76
2	$\lg D = 0,68 + 0,14^1 \chi$	54,9	0,44	0,24	2,4
3	$\lg D = 2,12 + 0,31 \lg P - 0,04^1 \chi$	99,0	0,09	0,04	50
Індукована фенолом міцелярна екстракція					
4	$\lg D = 1,29 + 0,18 \lg P$	93,7	0,11	0,07	30
5	$\lg D = 0,57 + 0,09^1 \chi$	45,3	0,33	0,19	1,7
6	$\lg D = 1,65 + 0,23 \lg P - 0,05 \cdot^1 \chi$	98,4	0,08	0,03	31

Таблиця 2. Значення критерію Фішера (F), стандартної похибки моделі (S), коефіцієнта лінійної кореляції (r^2) та середньої абсолютної похибки (M) для регресії

Номер п/п	Рівняння регресії	r^2	S	M	F
Міцелярна екстракція індивідуальними фазами					
7	$R = 79,4 + 12,8 \lg P$	96,1	6,2	3,7	53
8	$R = 24,9 + 6,39^1 \chi$	49,3	23	13	2,0
9	$R = 102 + 16,4 \lg P - 2,99^1 \chi$	99,0	1,8	0,7	337
Індукована фенолом міцелярна екстракція					
10	$R = 53,8 + 8,72 \lg P$	94,9	4,9	3,1	39
11	$R = 16,5 + 4,39^1 \chi$	50,2	16	9,1	2,0
12	$R = 67,6 + 10,9 \lg P - 1,84 \cdot^1 \chi$	98,4	4,5	1,8	23

Поєднання величин $^1\chi$ та $\lg P$ забезпечує покращення метрологічних характеристик регресій (3) та (6) у порівнянні з лінійними моделями (1), (2), (4) й (5). Тобто, підключення фактора $^1\chi$ до загальної гідрофобності $\lg P$ статистично значно покращує моделі міцелярної екстракції досліджених фармпрепаратів, що підтверджує вплив структури молекул субстратів на параметри їх міжфазового розподілу. Відзначимо, що для множинних регресій (3) й (6) більше значення внеску величини $\lg P$ у коефіцієнт розподілу препаратів в індивідуальній системі НПАР у порівнянні з індукованою фенолом зберігається. Коефіцієнт при $^1\chi$ у множинних регресіях (3) й (6) має від'ємне значення, що вказує на очікуване утруднення міцелярно-екстракційного вилучення при збільшенні розгалуженості молекул субстратів. Раніше встановлено, що у міцелярні фази найбільш ефективно екстрагуються дифільні (довголанцюгові) і слабо розгалужені субстрати [7].

Аналогічні результати було отримано при побудові регресій, які враховують вплив гідрофобності та структури субстратів на ступінь їх добування у класичній та індукованій фенолом міцелярно-екстракційних системах. Саме ступінь добування субстрату є найбільш прагматичним кількісним параметром ефективності екстракції. За даними табл. 2, значення R також найкраще корелюють із гідрофобністю досліджуваних препаратів (рівняння (7) й (10)). При цьому значення тангенса кута нахилу залежності $R = f(\lg P)$ для модифікованої фенолом системи менше порівняно з класичною системою. Одночасне підключення факторів загальної гідрофобності та структури молекул субстратів забезпечує статистично значне зменшення похибок та сприяє покращенню якості запропонованої моделі (рівняння (9) й (12)). Такі регресії характеризуються задовільними статистичними параметрами надійності й придатні для кількісного прогнозування параметрів вилучення фармпрепаратів індукованими температурою та фенолом міцелярними фазами Triton X-100.

Таким чином, основним чинником міцелярної екстракції ряду серцево-судинних фармацевтичних препаратів індукованими фенолом та індивідуальними фазами НПАР є гідрофобність субстратів. Одночасне підключення факторів гідрофобності та структури молекул субстратів статистично значно покращує якість моделей для розрахунку параметрів міжфазового розподілу в міцелярно-екстракційних системах. Взаємно доповнювальний вплив обох факторів свідчить про "організованість" міцелярних фаз НПАР. Запропоновані рівняння можна застосувати для передбачення параметрів міцелярної екстракції досліджуваних фармпрепаратів для їх концентрування перед визначенням.

1. *Saitoh T., Tani H., Kamidate T. et al.* Polymer-Induced Phase Separation in Aqueous Micellar Solutions of Alkylglucosides for Protein Extraction // *Ann. Sci.* – 1994. – **10**, No 2. – P. 299–303.
2. *Heegaard N.H., Jakobsen D.R., Klattschou D.* Purification of Wegener's granulomatosis autoantigen, proteinase 3, from neutrophils by Triton X – 114 extraction of azurophilic granules // *Ann. Biochem.* – 1997. – **253**, No 2. – P. 259–262.
3. *Wang L., Cai Y., He B. et al.* Determination of estrogens in water by HPLC-UV using cloud point extraction // *Talanta.* – 2006. – **70**, No 1. – P. 47–51.
4. *Briganti G., Puvvada S., Blankschtein D.* Effect of Urea on Micellar Properties of Aqueous Solutions of Nonionic Surfactants // *J. Phys. Chem.* – 1991. – **95**, No 22. – P. 8989–8995.
5. *Zhao G., Chen S.B.* Clouding and phase behavior of nonionic surfactants in hydrophobically modified hydroxyethyl cellulose solutions // *Langmuir.* – 2006. – **22**. – P. 9129–9134.
6. *Wang Zh., Zhao F., Li D.* Determination of solubilization of phenol at coacervate phase of cloud point extraction // *Colloids Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects.* – 2003. – **216**, No 1–3. – P. 207–214.
7. *Куличенко С. А., Дорощук В. А.* Мицелярная экстракция карбоновых кислот фазами неионного ПАВ ОП10 при нагревании // *Журн. общ. хим.* – 2003. – **73**, № 6. – С. 909–913.
8. *Wang C.C., Luconi M.O., Masi A.N. et al.* Determination of terazosin by cloud point extraction-fluorimetric combined methodology // *Talanta.* – 2007. – **27**. – P. 1779–1783.

9. *Guifang Jia., Chenglu Bi., Qixia Wang. et al.* Determination of Etofenprox in environmental samples by HPLC after anionic surfactant micelle-mediated extraction (coacervation extraction) // *Ann. Bioanal. Chem.* – 2006. – **384**. – P. 1423–1427.
10. *Мицеллообразование, солубилизация и микроэмульсии* / Под ред. К. Миттела. – Москва: Мир, 1980. – 597 с.
11. *Sablјжс А.* On the prediction of soil sorption coefficients of organic pollutants form molecular structure: application of molecular topology model // *J. Environ. Sci. and Technol.* – 1987. – **21**, No 4. – P. 358–366.

*Київський національний університет
ім. Тараса Шевченка*

Надійшло до редакції 15.12.2008

S. A. Kulichenko, V. O. Doroschuk, N. A. Gonta, M. V. Drozdova

The phase separation of cardiovascular pharmaceutical preparations in the classical and phenol-induced cloud point extraction systems

The influence of the hydrophobicity and molecular structure of pharmaceutical preparations on the efficacy of temperature- and phenol-induced cloud point extraction is investigated. The character of the interference of both factors shows the “organized” nature of pure and phenol-induced micellar phases of the non-ionic surfactant. On the basis of the data obtained, the model for the prediction of characteristics of the cloud point extraction of cardiovascular pharmaceutical preparations for the preconcentrating purposes is suggested.