

УДК 543.552.054.1

DOI: 10.31040/2222-8349-2019-0-2-15-20

ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОБНАРУЖЕНИЕ МЕТИОНИНА В ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВАХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДОВ ХЕМОМЕТРИКИ

© Л.Р. Кабирова, Д.И. Дубровский, Н.А. Никонова, Р.А. Зильберг, В.Н. Майстренко

Рассмотрены возможности вольтамперометрии для идентификации лекарственных препаратов различных производителей, содержащих метионин, с использованием сенсора на основе стеклоуглеродного электрода, модифицированного полиэлектролитным комплексом хитозана и β -циклодекстринов. Обработка вольтамперометрических данных проводилась методами хемометрики. С помощью метода главных компонент (МГК) и проекции на латентные структуры с дискриминантным анализом (ПЛС-ДА) удалось увеличить надежность распознавания и решить проблему близости аналитических характеристик регистрируемых вольтамперограмм. Графики счетов МГК моделирования свидетельствуют о том, что препараты метионина в зависимости от производителей делятся на отдельные кластеры на плоскости главных компонент, оптимальное число главных компонент – 5, доля объясненной дисперсии составила более 80%. При проверке построенной МГК модели методом ПЛС-ДА выявлено, что каждый препарат соответствующего производителя правильно отнесен к тестовому образцу той же природы и значения дискриминантных откликов близки к единице, что свидетельствует о положительном результате идентификации препаратов метионина по производителю с минимальными ошибками первого и второго рода. Установлено, что предложенный метод позволяет различать лекарственные формы одного препарата, выпущенные различными производителями.

Ключевые слова: вольтамперометрический сенсор, препараты метионина, хемометрика, метод главных компонент, метод проекций на латентные структуры с дискриминантным анализом.

Введение. Присутствие на фармацевтическом рынке большого числа дженериков и фальсифицированных лекарственных препаратов, требует высокопроизводительных и надежных аналитических методов для контроля качества [1]. Тривиальные хроматографические (ВЭЖХ, ГХ–ВЭЖХ–МС) и оптические методы (в УФ-, видимой и ИК-областях), а также методы ЯМР при всех своих достоинствах не обладают должным сочетанием удобства и простоты пробоподготовки, производительности, доступности и стоимости анализов. Зачастую введение в обиход указанных методов для анализа конкретного препарата требует разработки новых методик анализа и пробоподготовки с учетом индивидуальных особенностей определяемого

вещества и состава вспомогательных веществ в лекарственных формах. В связи с этим актуальным является разработка экспрессных и недорогих методов анализа, которые позволяли бы осуществлять быстрый скрининг на предмет фальсификации. Вольтамперометрические методы в сочетании с хемометрической обработкой данных [2, 3], имеют несомненные преимущества, поскольку позволяют идентифицировать хиральные и ахиральные электроактивные действующие вещества в присутствии вспомогательных компонентов [4], а также осуществлять идентификацию готовых лекарственных форм по производителю за счет установления различий в составе вспомогательных инертных компонентов [5–8].

КАБИРОВА Лиана Рустамовна, Башкирский государственный университет, e-mail: Kabirova.lian@ya.ru
ДУБРОВСКИЙ Дмитрий Игоревич, Башкирский государственный университет, e-mail: du315@mail.ru
НИКОНОВА Надежда Андреевна, Башкирский государственный университет,
e-mail: nadya.nikonova.1996@mail.ru
ЗИЛЬБЕРГ Руфина Алексеевна – к.х.н., Башкирский государственный университет,
e-mail: zilbergra@yandex.ru
МАЙСТРЕНКО Валерий Николаевич – д.х.н., Башкирский государственный университет,
e-mail: V_maystrenko@mail.ru

В настоящей работе рассмотрены возможности вольтамперометрии в распознавании препаратов метионина различных производителей. Для этой цели нами разработан сенсор на основе стеклоуглеродного электрода, модифицированного полиэлектrolитным комплексом хитозана [9, 10] и β-циклодекстринов [11, 12].

Методика проведения эксперимента. Регистрацию вольтамперограмм проводили в стандартной электрохимической ячейке на потенциостат-гальваностате AUTOLAB PGSTAT 204 (Metrohm Autolab, Нидерланды) с программным обеспечением Nova в диапазоне потенциалов от 0 до 1.8 В, со скоростью развертки 20 мВ/с. В качестве рабочего электрода использовался модифицированный стеклоуглеродный электрод диаметром 2 мм. Электродом сравнения служил хлорид-серебряный электрод Ag/AgCl, вспомогательным – платиновая пластинка. В качестве фонового электролита использовали фосфатный буферный раствор $\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{Na}_2\text{HPO}_4$ с pH 6.86.

Для модифицирования стеклоуглеродного электрода (СУЭ) использовали однородную смесь 1 мл полиэлектrolитного комплекса хитозана и сукциамида хитозана (ПЭК) и 1 мл

5 г/л раствора β-циклодекстринов (ЦД) в деионизированной воде. Водорастворимая форма хитозана для получения ПЭК готовилась по следующей методике: хитозан растворяли в 1% соляной кислоте, выдерживая при постоянном перемешивании в течение 24 ч при температуре $25 \pm 0.1^\circ\text{C}$. Натриевую соль сукциамида хитозана и хлорида хитозана растворяли в деионизированной воде в мольном соотношении 0.6 и выдерживали при интенсивном перемешивании при температуре 25°C в течение 5 мин. Полученный раствор объемом 9 мкл наносили на тщательно отполированную и очищенную поверхность рабочего электрода с последующим испарением растворителя под инфракрасной лампой в течение 10 мин.

Исследуемые растворы лекарственных препаратов готовили растворением таблетки препарата, содержащей 250 мг метионина без отделения оболочки, с последующей фильтрацией.

Результаты и их обсуждение. Состав образцов лекарственных препаратов метионина, относящихся к группе гепатопротекторов, различных производителей представлен в табл. 1.

Т а б л и ц а 1

Состав лекарственных препаратов, содержащих метионин

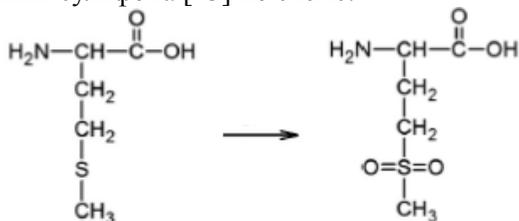
Производитель / Обозначение	Вспомогательные вещества
«АВВА РУС» Образец 1	Оболочка: мука пшеничная 18.556 мг, сахароза 62.486 мг, магния карбонат 18.264 мг, тальк 0.496 мг, масло подсолнечное рафинированное 0.097 мг, воск пчелиный 0.097 мг, краситель азорубин 0.004 мг Ядро: крахмал картофельный 44 мг, метилцеллюлоза 3 мг, стеариновая кислота 3 мг
«Марбиофарм» Образец 2	Оболочка: сахароза 82.6683 мг, мука пшеничная 3.71 мг, магния гидроксикарбонат 10.684 мг, тальк 1.789 мг, повидон низкомолекулярный 1.088 мг, краситель азорубин 0.0087 мг, парафин жидкий 0.026 мг, воск пчелиный 0.026 мг Ядро: крахмал картофельный 3.92 мг, стеариновая кислота 3 мг, метилцеллюлоза 3.4 мг
«Фармстандарт-УфаВИТА» Образец 3	Оболочка: гипромеллоза 7.250 мг, полисорбат 80 2.207 мг, титана диоксид 0.540 мг, краситель азорубин 0.003 мг Ядро: метилцеллюлоза 2.237 мг, целлюлоза микрокристаллическая 47.559 мг, стеариновая кислота 3.356 мг, магния стеарат 3.356 мг, крахмал картофельный 23.492 мг
«Озон» Образец 4	Оболочка: гипромеллоза 5.367 мг, титана диоксид 2.43 мг, краситель азорубин 0.003 мг, полисорбат 80 1.20 мг, повидон 1.00 мг Ядро: крахмал картофельный 13.99 мг, метилцеллюлоза 2.36 мг, целлюлоза микрокристаллическая 60.35 мг, стеариновая кислота 3.30 мг

Дискриминантные отклики (%) ПЛС-ДА модели распознавания лекарственных форм метионина по производителю

ТО**	ОС*			
	Образец 1	Образец 2	Образец 3	Образец 4
Образец 1	95	6	1	7
Образец 2	6	89	11	3
Образец 3	1	15	88	11
Образец 4	1	2	18	88

Примечания. ОС* – образец сравнения; ТО** – тестовый образец.

Входящий в состав исследуемых лекарственных препаратов метионин окисляется до метионин-сульфона [13] по схеме:



в диапазоне потенциалов $0.8 \div 1.6$ В с образованием одного четкого пика на вольтамперной кривой.

Для выбора оптимальных условий эксперимента было изучено влияние pH фонового электролита, скорости развертки потенциала, времени выдерживания электрода в анализируемом растворе, концентрации метионина на величины токов и форму вольтамперограмм. Максимальные значения токов наблюдаются на фоне фосфатного буферного раствора $\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{Na}_2\text{HPO}_4$ с pH 6.86. Изучение влияния времени выдерживания электрода в анализируемом растворе на величины токов показало, что оптимальное время выдерживания составляет 30 с. При дальнейшем увеличении времени выдерживания электрода в исследуемом растворе существенного изменения формы вольтамперограмм и величин токов не наблюдалось. Линейная зависимость аналитического сигнала от концентрации аналитов наблюдалась в интервале от 0.1 до 1.5 мМ. Критерий Семерано [14], определенный для данного электрода ранее как 0.41 [15], указывает на диффузионно-кинетическую природу предельного тока в условиях эксперимента.

На рис. 1 представлены дифференциально-импульсные вольтамперограммы окисления метионина различных производителей на СУЭ, модифицированном ПЭК/β – ЦД. Наблюдаемые

небольшие различия представленных вольтамперограмм связаны с зависимостью аналитического сигнала метионина на модифицированном СУЭ от природы и содержания неэлектроактивных вспомогательных компонентов в анализируемых препаратах.

Очевидно, что тривиальный анализ вольтамперограмм по токам и потенциалам окисления не позволяет получить необходимые данные. Однако при использовании дополнительной математической обработки всей вольтамперометрической кривой становится возможным идентификация препаратов метионина различных производителей за счет указанной зависимости сигнала от состава вспомогательных компонентов. Для математической обработки нами использовались следующие методы хеометрики: метод главных компонент (МГК) и метод проекции на латентные структуры с дискриминантным анализом (ПЛС-ДА).

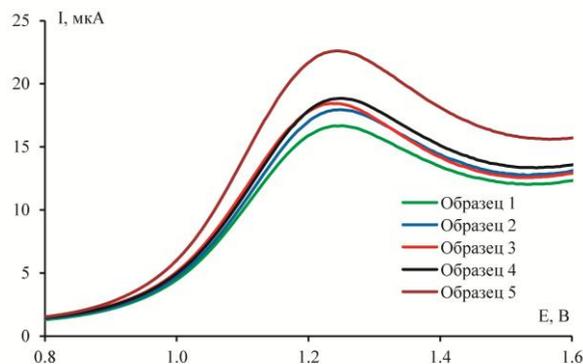


Рис. 1. Дифференциально-импульсные вольтамперограммы окисления 1.5 мМ метионина в виде лекарственных препаратов (образцы 1–4) и чистого DL-метионина в фоновом электролите (образец 5) на СУЭ, модифицированных ПЭК/β – ЦД, скорость развертки 20 мВ/с, фоновый электролит фосфатный буферный раствор pH 6.86

В отличие от традиционного анализа вольтамперограмм, МГК дифференцирует матрицу экспериментальных данных на содержательную и шумовую составляющие и переносит массив вольтамперометрических данных в новую систему координат X, Y, Z , в которой координатные оси являются векторами главных компонент (ГК). В результате вольтамперограммы преобразуются в точки в предоставленной МГК системе координат (график счетов МГК-модели), при этом учет различий в исходных вольтамперограммах позволяет сгруппировать идентичные по составу образцы в кластеры. Последние соответствуют препаратам метионина различных производителей [2–5].

Полученный по данным эксперимента график счетов МГК-модели (рис. 2) содержит четыре непересекающихся кластера, что свидетельствует о возможности применения предложенного сенсора для надежного распознавания препаратов метионина по производителям – доля объясненной дисперсии по двум первым компонентам составляет 83%.

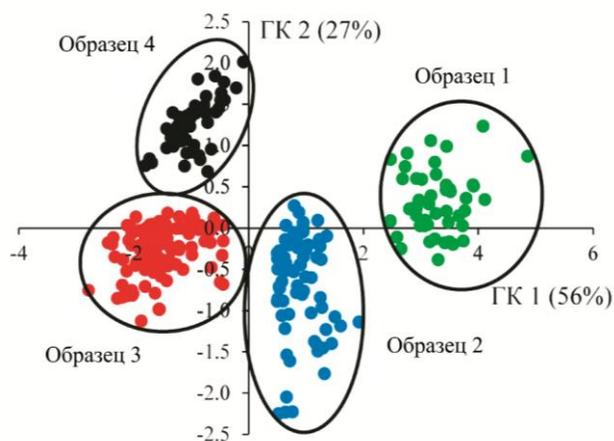


Рис. 2. График счетов МГК-моделирования дифференциально-импульсных вольтамперограмм окисления 1.5 мМ лекарственных форм метионина

Для проверки построенной МГК-модели нами использовался метод ПЛС-ДА, представляющий собой многомерный вариант регрессионного анализа. Тестовые образцы были сформированы из другой партии препаратов тех же производителей. Близость дискриминантного отклика к 100% свидетельствует о высокой вероятности правильного соотношения препарата с соответствующим производителем. Результат распознавания считается положительным, если анализируемый препарат правильно отнесен к тестовому образцу той же природы и не отнесен

к тестовым образцам другой природы [6]. Согласно табл. 2, процент правильно распознанных образцов превышает 90%, а ошибки второго рода (неверное принятие) не превышают 15%. Это свидетельствует о достоверном распознавании метионина по производителю.

Таким образом, предложенный сенсор на основе стеклоуглеродного электрода, модифицированного полиэлектrolитным комплексом хитозана и β -циклодекстринами, чувствителен к составу вспомогательных веществ лекарственных форм метионина. Применение хемометрической обработки вольтамперометрических данных позволяет надежно различать лекарственные формы одного препарата, выпущенные различными производителями. Предложенный нами новый подход обеспечивает возможность быстрого обнаружения фальсификатов, контроля чистоты фармпрепаратов и наличия в них примесей.

Работа выполнена при поддержке РФФ: грант №16–13–10257.

Литература

1. Будников Г.К. Фармацевтический анализ: монография (серия «Проблемы аналитической химии. Т.16) / под ред. Г.К. Будникова и С.Ю. Гармонова. М.: Аргмак-медиа, 2013. 778 с.
2. Родионова О.Е., Померанцев А.Л. Хемометрика: достижения и перспективы // Успехи химии. 2006. Т. 75, №4. С. 302–321.
3. Brereton R.G. Chemo metrics: data analysis for the laboratory and chemical plant / Ed. by John Wiley. England, 2003. 489 pp.
4. Майстренко В.Н., Сидельников А.В., Зильберг Р.А. Энантиоселективные вольтамперометрические сенсоры: новые решения // Журнал аналитической химии. 2018. Т. 73, № 1. С. 3–13.
5. Сидельников А.В., Зильберг Р.А., Яркаева Ю.А., Майстренко В.Н., Крайкин В.А. Вольтамперометрическая идентификация антиаритмических лекарственных средств с использованием метода главных компонент // Журнал аналитической химии. 2015. Т. 70, № 10. С. 1095–1101.
6. Яркаева Ю.А., Зильберг Р.А., Хаблетдинова А.И., Сидельников А.В., Майстренко В.Н. Вольтамперометрическая идентификация лекарственных средств на основе бисопролола с использованием проекции на латентные структуры // Вестник Башкирск. ун-та. 2016. Т. 21, № 3. С. 635–641.
7. Зильберг Р.А., Кабирова Л.Р., Яркаева Ю.А., Сидельников А.В., Майстренко В.Н., Корнилов В.М., Лачинов А.Н. Распознавание пропранолола по производителю с использованием стеклоугле-

родных электродов, модифицированных композитами на основе полиарилефталидной пленки, меламин и циануровой кислоты // Известия Уфимского научного центра РАН. 2017. № 4. С. 33–40.

8. Зильберг Р.А., Сидельников А.В., Яркая Ю.А., Кабирова Л.Р., Майстренко В.Н. Идентификация лекарственных средств на основе бисопролола с использованием вольтамперометрического «электронного языка» // Вестник Башкирск. ун-та. 2017. Т. 22, № 2. С. 356–363.

9. Новаков И.А., Шулевич Ю.В., Ковалева А.Ю., Навроцкий А.В., Навроцкий В.А. Комплексы полиэлектролитов с электростатически комплементарными поверхностно-активными веществами // Известия ВолгГТУ. 2005. Т. 1, № 10. С. 5–16.

10. Surendra K.G. Nimisha. Polyelectrolyte complex: A pharmaceutical review // International J. of Pharmacy and Biological Sciences. 2012. Vol. 2, № 3. P. 399–407.

11. Zhu G., Yi Y., Chen J. Recent advances for cyclodextrin based materials in electrochemical sensing // Trend. Anal. Chem. 2016. Vol. 80. P. 232–241.

12. Szejtli J. Past, present and future of cyclodextrin research // Pure Appl. Chem. 2004. Vol. 76. С. 1825–1845.

13. Murugavelu M., Karthikeyan B. Synthesis, characterization of Ag-Au core-shell bimetal nanoparticles and its application for electrocatalytic oxidation/sensing of l-methionine // Materials Science and Engineering. 2017. Vol. 70. С. 656–664.

14. Будников Г.К. Основы современного электрохимического анализа: учебное пособие для вузов по специальности 01100 «Химия» / под ред. Г.К. Будникова, В.Н. Майстренко, М.Р. Вяселева. М.: Мир, Бином ЛЗ, 2003. 592 с.

15. Дубровский Д.И., Кабирова Л.Р., Хаблетдинова А.И., Зильберг Р.А., Майстренко В.Н. Вольтамперометрические сенсоры на основе композитов полиэлектролитного комплекса хитозана и α -, β -, γ -циклодекстринов для определения и распознавания энантиомеров метионина // Вестник Башкирск. ун-та. 2018. Т. 23, № 3. С. 721–727.

References

1. Budnikov G.K. Pharmaceutical analysis. Monograph. Ser. "Problemy analiticheskoy khimii." Vol. 16. G.K. Budnikov, S.Yu. Garmonov (eds). Moscow, Argamak-Media, 2013. 778 p.

2. Rodionova O.E., Pomerantseva A.L. Chemometrics: Achievements and prospects. Russian Chemical Review, 2006, vol. 75, no. 4, pp. 302–321.

3. Brereton R.G. Chemometrics: Data analysis for the laboratory and chemical plant. Chichester, Wiley, 2003. 489 p.

4. Maistrenko V.N., Sidelnikov A.V., Zilberg R.A. Enantioselective voltammetric sensors: New solutions.

Zhurnal analiticheskoy khimii, 2018, vol. 73, no. 1, pp. 3–13.

5. Sidelnikov A.V., Zilberg R.A., Yarkaeva Yu.A., Maistrenko V.N., Kraykin V.A. Voltammetric identification of antiarrhythmic medicines using principal component analysis. Zhurnal analiticheskoy khimii, 2015, vol. 70, no. 10, pp. 1095–1101.

6. Yarkaeva Yu.A., Zilberg R.A., Khabletdinova A.I., Sidelnikov A.V., Maistrenko V.N. Voltammetric identification of medicines based on bisoprolol using projection on the latent structures. Vestnik Bashkirskogo universiteta, 2016, vol. 21, no. 3, pp. 635–641.

7. Zilberg R.A., Kabirova L.R., Yarkaeva Yu.A., Sidelnikov A.V., Maistrenko V.N., Kornilov V.M., Lachinov A.N. Recognition of propranolol according to their manufacturers using glassy carbon electrodes modified by composites based on polyarylenphthalide film, melamine and cyanuric acid. Izvestiya Ufimskogo nauchnogo tsentra RAN, 2017, no. 4, pp. 33–40.

8. Zilberg R.A., Sidelnikov A.V., Yarkaeva Yu.A., Kabirova L.R., Maistrenko V.N. Identification of medicines based on bisoprolol using voltammetric "electronic tongue." Vestnik Bashkirskogo universiteta, 2017, vol. 22, no. 2, pp. 356–363.

9. Novakov I.A., Shulevich Yu.V., Kovaleva A.Yu., Navrotsky A.V., Navrotsky V.A. Polyelectrolyte complexes with electrostatically complementary surfactants. Izvestiya Volzhskogo gosudartvennogo tekhnicheskogo universiteta, 2005, vol. 1, no. 10, pp. 5–16.

10. Surendra K.G., Nimisha. Polyelectrolyte complex: A pharmaceutical review. International Journal of Pharmacy and Biological Sciences, 2012, vol. 2, no. 3, pp. 399–407.

11. Zhu G., Yi Y., Chen J. Recent advances for cyclodextrin-based materials in electrochemical sensing. Trend. Anal. Chem., 2016, vol. 80, pp. 232–241.

12. Szejtli J. Past, present and future of cyclodextrin research. Pure Appl. Chem., 2004, vol. 76, pp. 1825–1845.

13. Murugavelu M., Karthikeyan B. Synthesis, characterization of Ag-Au core-shell bimetal nanoparticles and its application for electrocatalytic oxidation/sensing of l-methionine. Materials Science and Engineering, 2017, vol. 70, pp. 656–664.

14. Budnikov G.K. Fundamentals of modern electrochemical analysis. Uchebnoe posobie dlya vuzov po spetsialnosti 01100 "Khimiya." G.K. Budnikov, V.N. Maistrenko, M.P. Vyasilev (eds). Moscow, Mir, Binom LZ, 2003. 592 p.

15. Dubrovsky D.I., Kabirova L.R., Khabletdinova A.I., Zilberg R.A., Maistrenko V.N. Voltammetric sensors based on the composites of polyelectrolyte complex of chitosan and α -, β -, γ -cyclodextrins for the determination and recognition of methionine enantiomers. Vestnik Bashkirskogo universiteta, 2018, vol. 23, no. 3, pp. 721–727.



VOLTAMMETRIC IDENTIFICATION OF METHIONINE IN DRUGS USING CHEMOMETRIC METHODS

© L.R. Kabirova, D.I. Dubrovsky, N.A. Nikonova, R.A. Zilberg, V.N. Maistrenko

Bashkir State University,
32, ulitsa Zaki Validi, 450074, Ufa, Russian Federation

Consideration is given to the possibilities of voltammetry to identify methionine- containing drugs of various manufacturers using a glassy carbon electrode modified by polyelectrolyte complex of chitosan and β -cyclodextrins. Processing of voltammetric data was carried out via chemometric techniques. It became possible to increase the reliability of recognition and tackled the problem of the proximity of the analytical characteristics in the obtained voltammograms using the principal component analysis (PCA) and the projection on the latent structures discriminant analysis (PLS-DA). The PCA score plots showed that methionine-containing drugs were grouped into separate clusters on the plane of principal components depending on the manufacturers, the optimal number of the principal components was 5, the share of the explained dispersion exceeded 80%. It was found by PLS-DA that each drug from the respective manufacturer was correctly assigned to the test sample of the same nature and the discriminant response values were close to one, this indicating a positive result of methionine identification by the manufacturer with minimal errors of the first and second kind. It was determined that the proposed method allowed distinguishing the pharmaceutical forms of one and the same drug produced by different manufacturers.

Key words: voltammetric sensor, methionine-containing drugs, chemometrics, principal component analysis, projection on the latent structures discriminant analysis.