

## ЛЮМІНЕСЦЕНТНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ГЕКСОПРЕНАЛІНУ В ДОЗОВАНИХ ЛІКАРСЬКИХ ФОРМАХ

**Ключові слова:** сенсibilізована люмінесценція, тербій, гексопреналін, дозовані лікарські форми

Контроль якості фармацевтичних препаратів, продуктів харчування та об'єктів навколишнього середовища є актуальним завданням сучасної аналітичної хімії і здійснюється за допомогою різних методів, часто з використанням комплексних сполук в якості аналітичних форм.

Останніми роками у фармацевтичному аналізі широко застосовують комплексні сполуки іонів лантанідів з лікарськими препаратами, здатними сенсibilізувати 4f-люмінесценцію, для високочутливого визначення цих препаратів: діуретиків [1, 6], гормонів [8], фторхінолонів [14, 15], нестероїдних протизапальних препаратів [5, 7], антибіотиків тетрациклінового [2, 12, 17] та цефалоспоринового рядів [4, 9] у дозованих лікарських формах та в біологічних рідинах.

Гексопреналін – селективний  $\beta$ -адреноміметик, який пригнічує скорочувальну активність матки. Вміст гексопреналіну у таблетованій та ін'єкційній лікарських формах становить 500 мкг та 10 мкг/2 мл відповідно. Визначення таких малих кількостей діючої речовини потребує використання високочутливих методів, наприклад, люмінесцентного.

У літературі описано визначення гексопреналіну у фармацевтичних препаратах та біологічних зразках за допомогою проточно-інжекційного методу [10] та з використанням іон-селективних електродів [11]. Межа кількісного визначення гексопреналіну за допомогою зазначених методик становить 8 мкг/мл [10] та 2,1 мкг/мл ( $5 \cdot 10^{-6}$  моль/л) [11]. Однак такої чутливості недостатньо для визначення гексопреналіну в ін'єкційній формі.

Метою даної роботи був пошук нової аналітичної форми для високочутливого люмінесцентного визначення гексопреналіну у дозованих лікарських формах з використанням сенсibilізованої люмінесценції іонів тербію – Tb (III).

### Експериментальна частина

У роботі використовували стандартний розчин хлориду тербію ( $1 \cdot 10^{-2}$  моль/л), який готували з відповідного оксиду високої чистоти. Концентрацію металу

стандартизували комплексометрично. Стандартні розчини гексопреналіну ( $1 \cdot 10^{-3}$  моль/л та 1,0 мг/мл) готували розчиненням точних наважок субстанції препарату в бідистильованій воді. Робочий розчин гексопреналіну (100 мкг/мл) готували розведенням стандартного розчину (1,0 мг/мл) у 10 разів. Стандартний розчин ЕДТА ( $5 \cdot 10^{-2}$  моль/л) готували з фіксаналу. Для створення необхідних значень рН середовища застосовували ацетатно-аміачні буферні розчини.

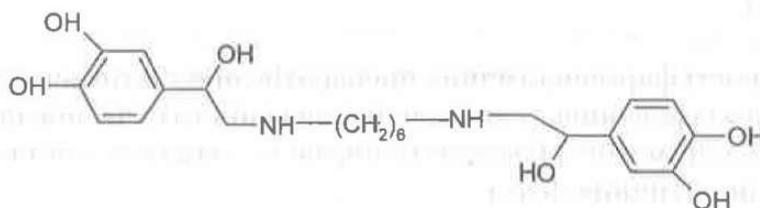
Усі реактиви, використані в роботі, мали кваліфікацію ч.д.а. та х.ч. Спектри люмінесценції іонів Tb(III) реєстрували в ділянці 460–600 нм ( $I_{\max} = 490, 545, 585$  нм; переходи  $^5D_4 \rightarrow ^7F_6$ ,  $^5D_4 \rightarrow ^7F_5$ ,  $^5D_4 \rightarrow ^7F_4$  відповідно) за допомогою спектрометрів «Fluorolog-3» (Horiba Jobin Yvon) та «Cary Eclipse» (Varian). Спектри поглинання розчинів реагентів реєстрували на спектрофотометрі «UV-2401 PC» (Shimadzu).

Час життя збудженого стану комплексів розраховували з кривих затухання люмінесценції з подальшою обробкою результатів у програмі «ORIGIN 6.0».

Значення рН розчинів вимірювали за допомогою рН-метра 211/1 зі скляним електродом, калібрування якого здійснювали за допомогою стандартних буферних розчинів. Усі вимірювання проводили при кімнатній температурі ( $20 \pm 2^\circ \text{C}$ ).

### Результати дослідження та їх обговорення

Гексопреналін є катехоламіном, здатним до утворення з іонами Tb(III) комплексної сполуки, в якій за рахунок внутрішньомолекулярного переносу енергії збудження від органічного ліганда на іон Tb(III) спостерігається інтенсивна люмінесценція останнього.



Гексопреналін (Гк)

Спектр поглинання водного розчину гексопреналіну характеризується наявністю трьох смуг в УФ-ділянці спектра з максимумами 208 нм, 244 нм та 295 нм, молярні коефіцієнти поглинання ( $\text{л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ ) яких становлять  $14 \cdot 10^4$ ,  $1,1 \cdot 10^4$  та  $0,9 \cdot 10^4$  відповідно. Це свідчить про інтенсивне поглинання УФ-світла гексопреналіном та можливість передачі її центральному іону.

Комплексоутворення іонів Tb(III) з гексопреналіном спостерігається в широкому інтервалі значень рН (4,0–11,0) з максимальною інтенсивністю люмінесценції ( $I_{\text{люм}}$ ) при рН = 9,8–10,5.

У кислому середовищі (рН < 4,0) ступінь утворення комплексу дуже малий, що, ймовірно, пов'язано з незначною депротонізацією гексопреналіну, якої недостатньо для комплексоутворення. У сильно лужному середовищі (рН > 12,0) спостерігається руйнування комплексу та гідроліз іонів Tb(III), навіть за наявності етилендіамінтетраоцтової кислоти (ЕДТА).

З літератури відомо використання ЕДТА в якості стабілізатора іонів рідкоземельних елементів для попередження гідролізу останніх у лужному середовищі [13, 16], яке необхідно для іонізації таких лігандів як гексопреналін.

З метою оптимізації умов комплексоутворення в системі Tb(III)–Гк–ЕДТА та виявлення придатності комплексу для визначення гексопреналіну було вивчено люмінесцентні властивості даного комплексу та досліджено залежності його  $I_{\text{люм}}$  від концентрацій усіх компонентів системи.

Спектр збудження різнолігандного комплексу (РЛК) Tb(III)–Гк–ЕДТА, представлений на рис. 1 (а), має два максимуми при 238 нм та 300 нм. Для аналітичних цілей було вибрано смугу збудження при 300 нм.

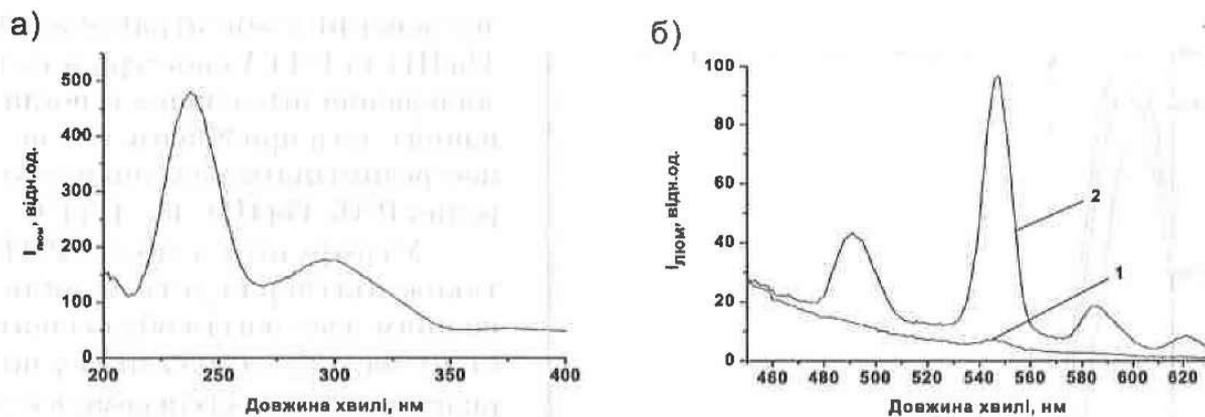


Рис. 1. Спектри:

а) збудження комплексу Tb(III)-Гк-ЕДТА, б) люмінесценції комплексів Tb(III)-ЕДТА (1) та Tb(III)-Гк-ЕДТА (2) ( $C_{Tb} = 1 \cdot 10^{-3}$  моль/л,  $C_{ЕДТА} = 1 \cdot 10^{-3}$  моль/л,  $C_{Гк} = 1 \cdot 10^{-5}$  моль/л)

Аналіз спектрів люмінесценції комплексу Tb(III)-Гк-ЕДТА (рис. 1, б) дає можливість зробити висновок, що основна доля енергії випромінювання приходить на смуги електродипольного  $^5D_4 \rightarrow ^7F_5$  переходу Tb(III) ( $\lambda_{max} = 545$  нм).

На рис. 2 представлені залежності  $I_{люм}$  комплексу Tb(III)-Гк-ЕДТА від концентрації іонів Tb(III) (а), ЕДТА (б), Гк (в). Встановлено, що при постійній концентрації гексопреналіну ( $1 \cdot 10^{-5}$  моль/л) максимальна  $I_{люм}$  спостерігається при еквімолярних концентраціях Tb(III) та ЕДТА —  $1 \cdot 10^{-3}$  моль/л.

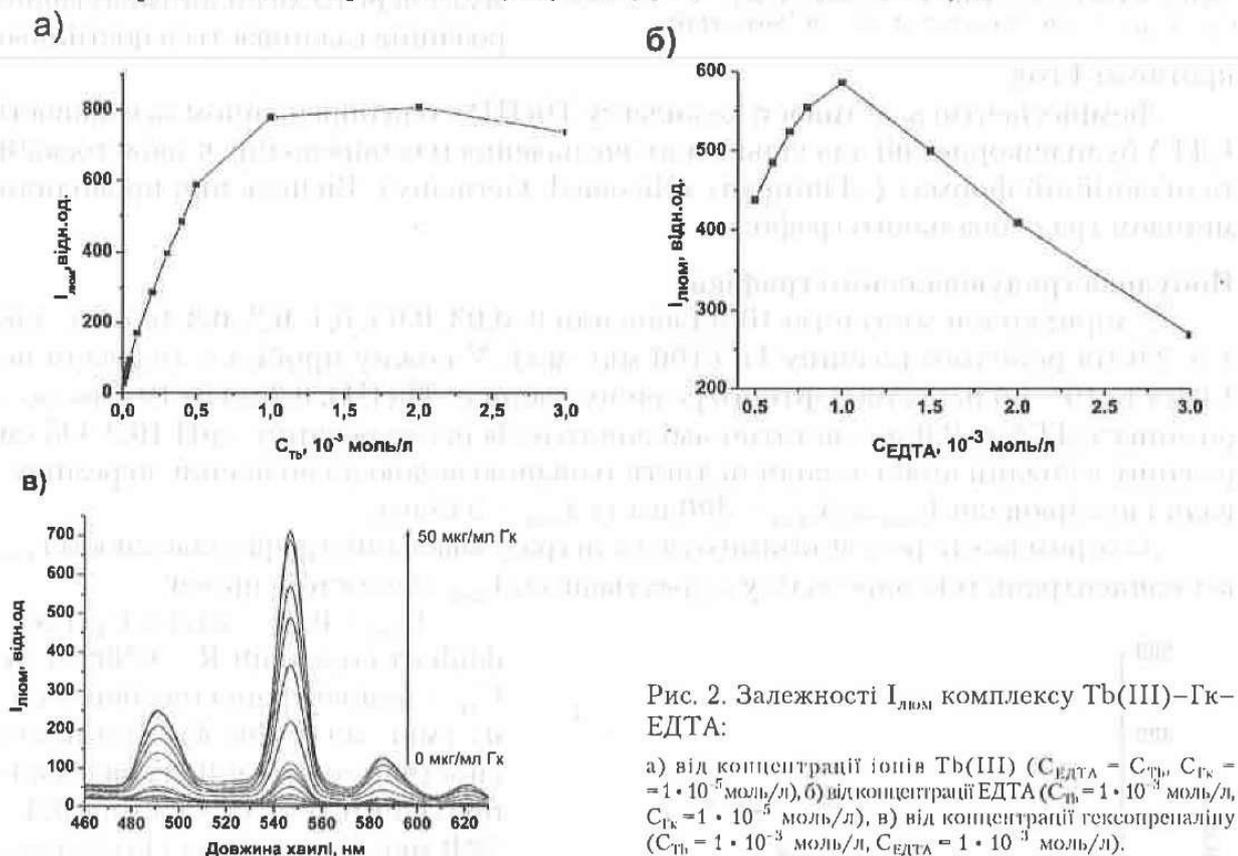


Рис. 2. Залежності  $I_{люм}$  комплексу Tb(III)-Гк-ЕДТА:

а) від концентрації іонів Tb(III) ( $C_{ЕДТА} = C_{Tb}$ ,  $C_{Гк} = 1 \cdot 10^{-5}$  моль/л), б) від концентрації ЕДТА ( $C_{Tb} = 1 \cdot 10^{-3}$  моль/л,  $C_{Гк} = 1 \cdot 10^{-5}$  моль/л), в) від концентрації гексопреналіну ( $C_{Tb} = 1 \cdot 10^{-3}$  моль/л,  $C_{ЕДТА} = 1 \cdot 10^{-3}$  моль/л).

З наведених залежностей за допомогою методу обмеженого логарифмування встановлено співвідношення компонентів у комплексі Tb(III)-Гк-ЕДТА, яке становить 1:1:1. Імовірно, гексопреналін координується до іона Tb(III) за о-дифенольним фрагментом, а ЕДТА — за карбоксигрупами.

Для підтвердження утворення РЛК Tb(III)-Гк-ЕДТА було вивчено спектри поглинання гексопреналіну (1) та гексопреналіну у присутності іонів Tb(III) та ЕДТА (3, 4) (рис. 3).

З наведених на рис. 3 даних видно, що за наявності іонів Tb(III) та ЕДТА спостерігається батохромне зміщення смуг Гк при 208 нм та 295 нм на 2 нм. При

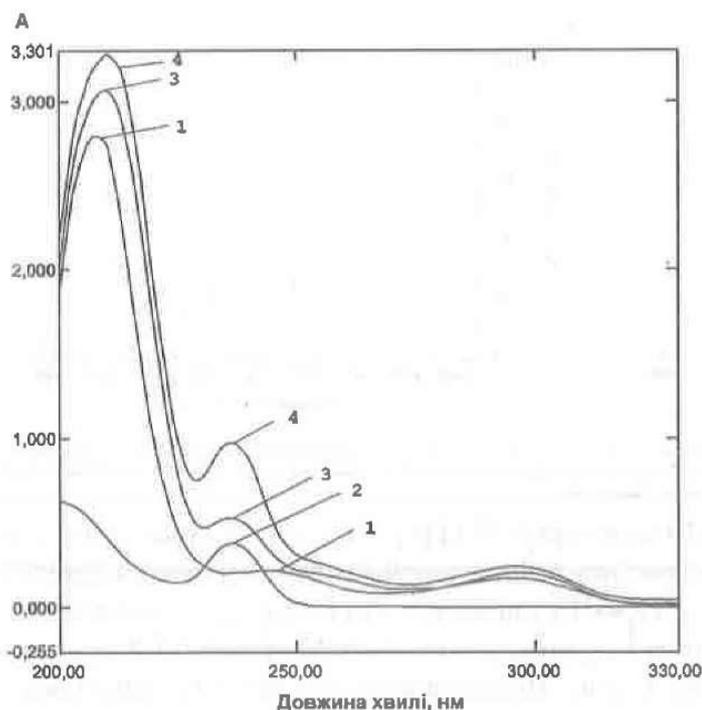


Рис. 3. Спектри поглинання Гк (1), комплексів Tb(III)-EDTA (2) та Tb(III)-Гк-EDTA (3, 4) ( $C_{Гк} = 1 \cdot 10^{-5}$  моль/л,  $C_{Тb} = C_{EDTA} = 1 \cdot 10^{-3}$  моль/л (2, 3) та  $2 \cdot 10^{-3}$  моль/л (4))

протягом 1 год.

Люмінесцентні властивості комплексу Tb(III) з гексопреналіном за наявності EDTA були використані для кількісного визначення гексопреналіну в таблетованій та ін'єкційній формах («Гініпрал» (Nicomed, Germany)). Визначення проводили методом градуювального графіка.

#### Побудова градуювального графіка

У мірні колби місткістю 10 мл вносили 0, 0,03, 0,05, 0,1, 0,2, 0,3, 0,5, 0,7, 1,0, 1,5, 2,0 мл робочого розчину Гк (100 мкг/мл). У кожену пробірку додавали по 1,0 мл  $1 \cdot 10^{-2}$  моль/л стандартного розчину хлориду Tb(III); 0,2 мл  $5 \cdot 10^{-2}$  моль/л розчину EDTA та 2,0 мл ацетатно-аміачного буферного розчину з рН 10,2. Об'єм розчину в кожній колбі доводили дистильованою водою до позначки, перемішували і вимірювали  $I_{\text{люм}}$  за  $\lambda_{\text{збуд}} = 300$  нм та  $\lambda_{\text{еміс}} = 545$  нм.

За отриманими результатами будували градуювальний графік залежності  $I_{\text{люм}}$  від концентрації гексопреналіну з урахуванням  $I_{\text{люм}}$  «холостої» проби:

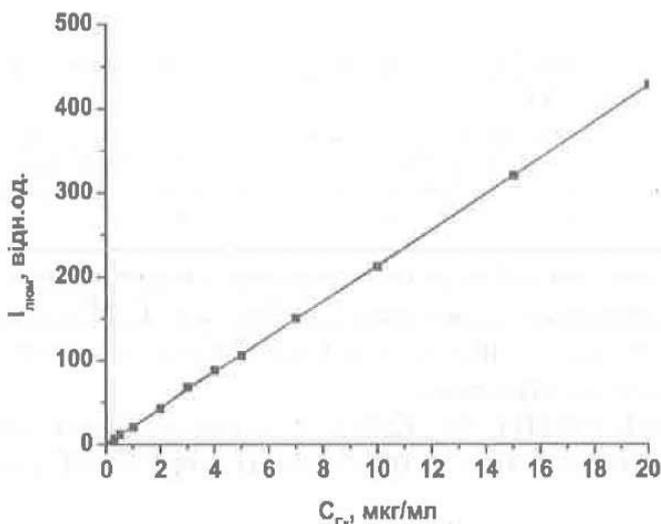


Рис. 4. Градуювальний графік для люмінесцентного визначення гексопреналіну ( $C_{Тb} = C_{EDTA} = 1 \cdot 10^{-3}$  моль/л, рН 10,2)

збільшенні концентрацій іонів Tb(III) та EDTA спостерігається збільшення інтенсивності поглинання смуги при 236 нм. Усе це є посереднім підтвердженням утворення РЛК Tb(III)-Гк-EDTA.

Утворення такого РЛК також підтверджується збільшенням часу життя збудженого стану на ~ 25% (1055 мкс) у порівнянні з часом життя комплексу Tb(III)-EDTA (835 мкс), що свідчить про зменшення безвипромінювальної дезактивації енергії збудження при утворенні комплексу Tb(III)-Гк-EDTA.

В оптимальних умовах  $I_{\text{люм}}$  іонів Tb(III) в комплексі Tb(III)-Гк-EDTA досягає максимуму через 5 хв після змішування розчинів і залишається постійною

$I_{\text{люм}} = 0,62 + 21,3 \times C_{Гк}$  (коефіцієнт кореляції  $R = 0,9993$ ), де  $C_{Гк}$  — концентрація гексопреналіну (мкг/мл) (рис. 4). Лінійність спостерігається в інтервалі концентрацій гексопреналіну 0,3–20,0 мкг/мл з межею кількісного визначення 0,1 мкг/мл ( $3\sigma$ -критерій).

#### Методики кількісного визначення гексопреналіну

а) в таблетованій формі: 20 попередньо зважених таблеток фармацевтичного препарату, що аналізується, розтирали у ступці до порошкоподібного стану. Кіль-

кість порошку, еквівалентну середній масі таблетки, переносили в мірну колбу місткістю 25 мл, розчиняли у 15 мл дистильованої води, перемішували, доводили до позначки дистильованою водою, перемішували та фільтрували. Перші 5 мл фільтрату відкидали. В мірну колбу місткістю 10 мл вносили 2,5 мл фільтрату та додавали всі реагенти, як при побудові градуювального графіка, і вимірювали інтенсивність люмінесценції при  $\lambda_{збудж} = 300$  нм та  $\lambda_{еміс} = 545$  нм. Вміст гексопrenalіну ( $X$ ) в одній таблетці у міліграмах розраховували за формулою:

$$X = \frac{C \cdot V_0 \cdot V_1 \cdot b}{10^3 \cdot V \cdot a},$$

де:  $C$  – концентрація гексопrenalіну у пробі, знайдена за градуювальним графіком, мкг/мл;

$V_0$  – об'єм мірної колби, де розчиняли наважку препарату, мл;

$V$  – об'єм проби для розведення, мл;

$V_1$  – кінцевий об'єм проби, мл;

$b$  – середня маса таблетки, г;

$a$  – маса наважки розтертих таблеток, г;

$10^3$  – коефіцієнт перерахунку мкг у мг;

б) в ін'екційній формі: вміст однієї ампули кількісно переносили в мірну колбу місткістю 10 мл. Далі додавали всі необхідні реагенти, як при побудові градуювального графіка, і вимірювали інтенсивність люмінесценції при  $\lambda_{збудж} = 300$  нм та  $\lambda_{еміс} = 545$  нм. Вміст гексопrenalіну ( $X$ ) в ін'екційній лікарській формі в мікрограмах розраховували за формулою:

$$X = \frac{C \cdot V_2 \cdot 2}{V_1},$$

де:  $C$  – концентрація гексопrenalіну у пробі, знайдена за градуювальним графіком, мкг/мл;

$V_1$  – об'єм проби, взятий для аналізу, мл;

$V_2$  – кінцевий об'єм проби, мл;

2 – перерахунок на вміст гексопrenalіну в ампулі (2 мл).

Результати кількісного визначення вмісту гексопrenalіну в дозованих лікарських засобах наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Результати визначення вмісту гексопrenalіну в дозованих лікарських формах ( $n = 5$ ;  $P = 0,95$ )

Дозовані лікарські форми	Регламентовано	Знайдено	Метрологічні параметри
Таблетки «Гініпрал» (Nicomed, Germany)	0.5 мг	0,492	$X_{cp} = 0,495$
		0,503	$S = 0,009$
		0,498	$s_r = 1,79 \%$
		0,481	$\Delta X = 0,010$
		0,501	$\epsilon = 2,06 \%$
Розчин для ін'екцій «Гініпрал» (Nicomed, Germany)	10.0 мкг (в 2 мл)	10,35	$X_{cp} = 10,14$
		10,13	$S = 0,176$
		9,91	$s_r = 1,74 \%$
		10,04	$\Delta X = 0,20$
		10,27	$\epsilon = 2,0 \%$

Правильність визначення гексопrenalіну в таблетованій лікарській формі перевірено методом «введено-знайдено» на модельних розчинах за наявності крім Гк допоміжних речовин: магнію стеарату, крохмалю кукурудзяного, лактози моногідрату, коповідону та гліцеролу пальмітостеарату. Отримані результати наведені в табл. 2.

Таблиця 2

Результати визначення гексопреналіну в модельних розчинах методом «введено—знайдено» ( $n = 5$ ,  $P=0,95$ )

№ п/п	Введено, мкг/мл	Знайдено, мкг/мл	$s_r, \%$
1	0,5	$0,49 \pm 0,02$	2,8
2	1,0	$1,03 \pm 0,03$	2,1
3	5,0	$5,13 \pm 0,14$	2,2
4	15,0	$14,72 \pm 0,33$	1,8

Запропоновані методики характеризуються задовільними метрологічними характеристиками та простотою виконання.

З урахуванням припустимих меж однорідності вмісту та кількісного визначення вмісту гексопреналіну в таблетованих формах ( $\pm 15 \%$ ) [3], застосування запропонованої методики люмінесцентного визначення гексопреналіну в таблетованій формі з відносною похибкою 1,8–2,8 % є припустимим для контролю якості цього лікарського засобу.

## Висновки

1. Встановлено наявність смуг поглинання в УФ-ділянці спектра з високими значеннями молярних коефіцієнтів поглинання, що відповідає умовам, необхідним для існування ефективного переносу енергії від органічної молекули ліганду до іона лантаніду з наступним збудженням f-f люмінесценції.

2. Вивчено люмінесцентні та спектроскопічні властивості нового різнолігандного комплексу Tb(III)–гексопреналін–ЕДТА, який використано в якості нової аналітичної форми для визначення гексопреналіну в дозованих лікарських формах.

3. Розроблені чутливі та прості у виконанні методики люмінесцентного визначення гексопреналіну в таблетованій та ін'єкційній лікарських формах можна використовувати для тесту «Кількісне визначення» та «Однорідність вмісту» препарату «Гініпрал» (Nicomed, Germany).

1. Бельтюкова С.В., Егорова А.В., Теслюк О.И. // Укр. хім. журн. – 2000. – Т. 66, № 10. – С. 115–121.
2. Витюкова Е.О., Егорова А.В., Бельтюкова С.В., Антонович В.П. // Журн. аналит. хімії. – 2004. – Т. 59, № 7. – С. 720–722.
3. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-ше вид. – Х.: РІРЕГ, 2004. – С. 158, 531.
4. Егорова А.В., Витюкова Е.О., Бельтюкова С.В., Теслюк О.И. и др. // Укр. хім. журн. – 2003. – Т. 69, № 11, 12. – С. 99–103.
5. Погуляй Т.В., Витюкова Е.О., Егорова А.В. // Фармац. журн. – 2007. – № 1. – С. 72–78.
6. Теслюк О.И., Бельтюкова С.В. Люминесцентное определение фуросемида методом тонкослойной хроматографии. // Вестник ОНУ. – 2003. – Т. 8, вып. 4. – С. 243–249.
7. Al-Kindy S.M.Z., Al-Harasi Z., Suliman F.O., Al-Hamadi A., Pillay A. // J. Fluorescence. – 2009. – Vol. 19, № 2. – P. 249–255.
8. Amin M., Harrington K., Wandruszka R. // Anal. Chem. – 1993. – P. 2346–2351.
9. Bebaoui L.I., Kelani K.E., Fattah L.A. // J. Pharm. Biomed. Anal. – 2003. – Vol. 32. – P. 1219–1225.
10. El-Gendy A.E. // Anal. Lett. – 2000. – Vol. 33, № 14. – P. 2927–2938.
11. El-Nashar R.M. // J. Automat. Meth. Manag. Chem. – 2008. – P. 1–12.
12. Kuong C., Yu T., Chen Y. // Anal. Bioanal. Chem. – 2009. – Vol. 395. – P. 1433–1439.
13. Lianidou E., Ioannou P. // Clin. Chem. – 1996. – Vol. 42. – P. 1659–1665.
14. Rizk M., Belal F., Aly F., El-Emany N. // Anal. Lett. – 1997. – Vol. 30, № 10. – P. 1897–1908.
15. Tong C., Xiang G. // J. Luminescence. – 2007. – Vol. 126. – P. 575–580.
16. Walash M. I., Rizk M.S., Eid M.I., Fathy M.E.S. // Acta Pharm. – 2006. – Vol. 56. – P. 431–440.
17. Yegorova A., Vityukova E., Beltyukova S., Duerkop A. // Microchem. J. – 2006. – Vol. 83. – P. 1–6.

Надійшла до редакції 26.01.2010.

*Е.О.Витюкова, А.В.Егорова*

ЛЮМИНЕСЦЕНТНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕКСОПРЕНАЛИНА  
В ДОЗИРОВАННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМАХ

**Ключевые слова:** сенсibilизированная люминесценция, тербий, гексопреналин, дозированные лекарственные формы

Исследованы люминесцентные свойства нового комплексного соединения ионов тербия(III) с гексопреналином и ЭДТА. Изученный разнолигандный комплекс использован в качестве новой аналитической формы для люминесцентного определения гексопреналина в дозированных лекарственных формах с пределом количественного определения 0,1 мкг/мл.

*E.O.Vityukova, A.V.Yegorova*

LUMINESCENT DETERMINATION OF HEXOPRENALINE  
IN DOSAGE FORMS

**Key words:** sensibilized luminescence, terbium, hexoprenaline, dosage forms

SUMMARY

Luminescence properties of new complex of terbium(III) ions with hexoprenaline and EDTA have been investigated. The studied ternary complex was used as the new analytical form for luminescent determination of hexoprenaline in dosage forms with LOQ 0.1 µg/ml.