

*Л.Г.Мишина, Н.А.Безпалюк, И.И.Герашенко, А.Л.Габчак*

#### ИССЛЕДОВАНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В СИСТЕМЕ ВЫСОКОДИСПЕРСНЫЙ КРЕМНЕЗЕМ—БЕЛОК—ЛЕВОМИЦЕТИН В ВОДНОЙ СРЕДЕ

Изучено физико-химическое взаимодействие компонентов лекарственной суспензии высокодисперсного кремнезема (силикса) между собой, а также с белком. На примере желатина показано, что присутствие в суспензии левомицетина и глюкозы несколько снижает белоксорбирующую активность силикса, хотя ее значение остается значительно выше нормативного показателя. Исходя из данных по адсорбции, сделан вывод о незначительном депонировании левомицетина поверхностью силикса. Из-за отсутствия комплексообразования между левомицетином и белком в растворе их адсорбция на силиксе предположительно происходит раздельно.

*L. G. Mishina, N. A. Bezpaluyuk, I. I. Gerashchenko, O. L. Gabchak*

#### STUDY OF PHYSICO-CHEMICAL INTERACTION BETWEEN HIGHLY DISPERSED SILICA, PROTEINS AND LEVOMYCETIN (CHLORAMPHENICOL) IN WATER MEDIUM

##### SUMMARY

A physico-chemical interaction between the components of medicinal suspension based on Silices and proteins has been studied. In the case of gelatin it has been shown that chloramphenicol and glucose to some extent decreased a protein adsorptive ability, although this adsorptive ability remained very high compared to normal index. On the base of results of adsorption measurements a conclusion about of insignificant accumulation of chloramphenicol by the silica surface has been made. Since chloramphenicol and proteins do not form a complex in water medium we suppose that these substances adsorb on the Silices separately.

УДК 615.07:54.06:577.175.522:543.42

*М.Є.БЛАЖЕЄВСЬКИЙ, канд. хім. наук, доц., П.Л.МИРОНЮК, аспірант*

*Національний фармацевтичний університет*

#### ХЕМІЛЮМІНЕСЦЕНТНЕ ВИЗНАЧЕННЯ АДРЕНАЛІНУ ГІДРОТАРТРАТУ В РОЗЧИНІ ДЛЯ ІН'ЄКЦІЙ

L-Адреналін (Epinеphrіnum) — гормон, який утворюється в мозковій речовині надниркових залоз. За хімічною будовою L-адреналін — L-1-(3,4-діоксифеніл)-2-метиламіноетанол. Він обертає площину поляризації світла ліворуч і є сильним відновником. Його продукують у вигляді гідротартрату: порошкучубстанції, 0,18 % розчину для ін'єкцій та 0,1 % розчину гідрохлориду для зовнішнього застосування в медичній практиці тощо [8].

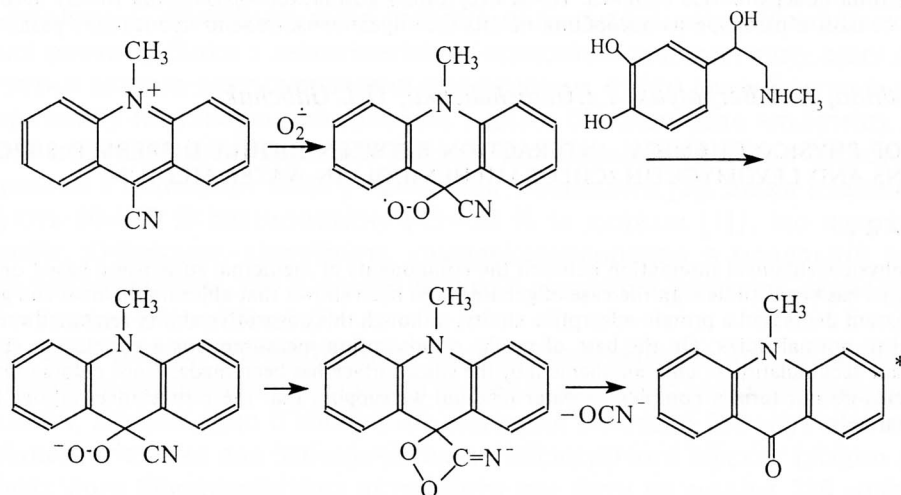
Для кількісного визначення адреналіну в лікарських формах застосовують потенціометричне титрування [3, 9], методи рідинної хроматографії [15], спектрофотометрії [4], флуориметрії [16], вольтамперометрії [10], спектрополяриметрії [12], хемілюмінесцентний аналіз [2, 11] тощо [1, 13].

Важливим завданням сучасного фармацевтичного аналізу є опрацювання нових, більш досконалих методик кількісного визначення лікарських речовин за допомогою високочутливих та селективнодіючих аналітичних реагентів. На нашу думку, таким реагентом є солі акридинію, зокрема нітрат 9-ціано-10-метилакридинію (ЦМА). Цей реагент характеризується високою реакційною здатністю щодо нуклеофілів.

Як об'єкт даного дослідження нами був обраний адреналіну гідротартрат у вигляді субстанції та 0,18 % розчину для ін'єкцій — відомий адреноміметичний засіб. Метою даної роботи є опрацювання нової експресної та високочутливої методики хемілюмінесцентного визначення адреналіну за реакцією з ЦМА.

Відомо, що ЦМА специфічно реагує з нуклеофілами-відновниками у присутності в розчині кисню з утворенням проміжної сполуки — діоксетану ЦМА, який розпадається з утворенням молекули *N*-метилакридону у збудженому стані. Релаксація збудженої молекули *N*-метилакридону в основний стан супроводжується вилученням кванту світла [5].

Схема перетворень, яка приводить до утворення емітера ХЛ, наведена нижче (супероксидний аніон-радикал кисню утворюється як проміжний продукт в первинній стадії реакції окиснення киснем адреналіну до його хінонового дегідропохідного).



Опрацьовано високочутливу хемілюмінесцентну методику кількісного визначення адреналіну в розчині для ін'єкцій «Адреналіну гідротартрат, 0,18 % розчин» («Здоров'я», Харків), яка ґрунтується на взаємодії адреналіну з ЦМА в лужному середовищі (0,25 моль/л їдкого калію) у присутності розчиненого кисню та реєстрації виникаючої при цьому хемілюмінесценції фотоелектрометричним методом [7].

### Експериментальна частина

Для досліджень використовували субстанцію адреналіну гідротартрату, яка відповідала вимогам аналітичної нормативної документації (АНД). Розчин робочого стандартного зразка (РСЗ) адреналіну гідротартрату, який містить 1,8 мг/мл основної речовини, виготовляли із субстанції об'ємно-ваговим методом.

Для виготовлення робочих розчинів РСЗ із вмістом основної речовини 9 мкг/мл та 18 мкг/мл відповідно 0,50 та 1,00 мл одержаного розчину переносили в мірні колби на 100 мл і доводили об'єм двічі дистильованою водою до позначки при 20 °С.

Для побудови градуального графіка використовували розчин РСЗ концентрації  $5,0 \cdot 10^{-5}$  моль/л. Наважку 0,16665 г адреналіну гідротартрату розчиняли у двічі дистильованій воді в мірній колбі на 100 мл. 10,00 мл одержаного розчину переносили у мірну колбу на 1 л і доводили об'єм до позначки двічі дистильованою водою при 20 °С.

Нітрат 9-ціано-10-метилакридинію одержували за методикою [14]. Його розчини виготовляли об'ємно-ваговим методом на  $10^{-3}$  моль/л розчині нітратної кислоти. У роботі використовували концентровані розчини гідроксиду калію без карбонатів [16].

Інтенсивність хемілюмінесценції вимірювали на хемілюмінометрі з чутливістю  $0,43 \cdot 10^7$  (фот)/(4π)/поділка з фотоелектронним помножувачем ФЭУ-84-А, вимірювачем малих струмів ИМТ-0,5 та швидкодіючим потенціометром у від-

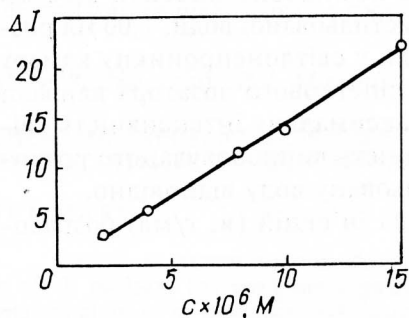
носних одиницях (мВ). Хемілюмінесценцію вимірювали у кварцовій кюветі циліндричної форми діаметром 30 мм з робочим об'ємом 10 мл.

#### Методика кількісного визначення адреналіну гідротартрату у субстанції.

Близько 0,175—0,185 г (точна наважка) субстанції адреналіну гідротартрату розчиняли у двічі дистильованій воді в мірній колбі на 100 мл, доводили об'єм двічі дистильованою водою до позначки і ретельно перемішували. 0,50 (або 1,00) мл одержаного розчину адреналіну гідротартрату переносили в мірну колбу на 100 мл, доводили об'єм до позначки двічі дистильованою водою при 20 °С і ретельно перемішували. У кварцову кювету хемілюмінометра послідовно вносили 2,50 мл 1 моль/л розчину гідроксиду калію, 6,0 мл двічі дистильованої води та 1,00 мл одержаного розчину субстанції адреналіну гідротартрату, ретельно перемішували і переносили у світлонепроникну камеру фотометра, відкривали шторку і за допомогою піпеткового дозатора вливали 0,50 мл  $5 \cdot 10^{-4}$  моль/л розчину ЦМА. Реєстрували максимальну інтенсивність світіння. Паралельно проводили досліди, в яких замість випробовуваного розчину використовували розчин РСЗ, а також двічі дистильовану воду відповідно. Розраховували різницю між значеннями максимальних інтенсивностей хемілюмінесценції, одержаних у дослідах з випробуваними розчинами та розчинами РСЗ адреналіну гідротартрату, та значенням максимальної інтенсивності світіння, одержаного в досліді з двічі дистильованою водою відповідно.

При побудові градуувального графіка у кварцову кювету послідовно вносили 2,50 мл 1 моль/л розчину гідроксиду калію замість розчину проби від 0,50 до 5,00 мл розчину РСЗ адреналіну гідротартрату концентрацією  $5,0 \cdot 10^{-5}$  моль/л,  $(9,50 - x)$  мл двічі дистильованої води (де  $x$  — сумарний об'єм гідроксиду калію та розчину робочого стандартного зразка, мл), ретельно перемішували і переносили у світлонепроникну камеру фотометра, відкривали шторку і за допомогою піпеткового дозатора вливали 0,50 мл  $5 \cdot 10^{-4}$  моль/л розчину ЦМА. Реєстрували величину максимальної інтенсивності світіння. Паралельно проводили дослід, в якому замість розчину РСЗ використовували двічі дистильовану воду відповідно. Розраховували різницю між значеннями максимальних інтенсивностей хемілюмінесценції, одержаних у дослідах з розчинами РСЗ адреналіну гідротартрату, та значенням максимальної інтенсивності світіння, одержаного в досліді з двічі дистильованою водою відповідно.

Будували градуувальний графік і методом найменших квадратів розраховували рівняння залежності різниці максимальних інтенсивностей хемілюмінесценції у дослідах зі стандартом та дослідом із двічі дистильованою водою від концентрації адреналіну. Рівняння графіка мало вигляд  $\Delta I = 1,5 \cdot 10^{-6} \cdot c - 0,3$  ( $r = 0,998$ ) ( $c$  — концентрація, моль/л) (рис.). Вміст адреналіну гідротартрату у субстанції може бути розрахований за формулою



Градуувальний графік для визначення адреналіну методом хемілюмінесценції за реакцією з нітратом 9-ціано-10-метилакридидіною:  $c$  (ЦМА) =  $2,5 \cdot 10^{-5}$  моль/л;  $c$  (КОН) = 1 моль/л

$$w = \frac{\Delta I \cdot C_0 \cdot 100 \cdot 100\%}{\Delta I_0 \cdot m_n},$$

де  $\Delta I$  — різниця значень максимальних інтенсивностей хемілюмінесценції, одержаних у дослідах з розчином проби та двічі дистильованою водою, відн. од;

$C_0$  — концентрація розчину РСЗ адреналіну гідротартрату (1,8 мг/мл);

$\Delta I_0$  — різниця максимальних інтенсивностей хемілюмінесценції, одержаних у дослідах з розчинами РСЗ адреналіну гідротартрату та двічі дистильованою водою відповідно, відн. од;

$m_n$  — наважка, г.

Результати визначення вмісту основної речовини у субстанції адреналіну гідротартрату наведено в табл. 1.

Таблиця 1

Результати визначення адреналіну гідротартрату за реакцією з нітратом 9-ціано-10-метилакридинію ( $P=0,95, n=7$ )

Введено адреналіну гідротартрату, г/мл	Знайдено адреналіну гідротартрату, г/мл	Метрологічні характеристики
0,00090	0,00085	$\bar{X} = 0,00090$
0,00090	0,00090	(100,2 %)
0,00090	0,00093	$S = \pm 3,73 \cdot 10^{-5}$
0,00090	0,00086	$S\bar{x} = \pm 1,41 \cdot 10^{-5}$
0,00090	0,00093	$\Delta\bar{x} = \pm 3,45 \cdot 10^{-5}$
0,00090	0,00087	$S_r = \pm 4,1 \%, \delta = 0 \%$
0,00090	0,00094	
0,00180	0,00170	$\bar{X} = 0,00176$
0,00180	0,00180	(98,0 %)
0,00180	0,00190	$S = \pm 7,48 \cdot 10^{-5}$
0,00180	0,00170	$S\bar{x} = \pm 2,83 \cdot 10^{-5}$
0,00180	0,00175	$\Delta\bar{x} = \pm 6,93 \cdot 10^{-5}$
0,00180	0,00180	$S_r = \pm 4,2 \%, \delta = -2,2 \%$
0,00180	0,00170	

Як видно з даних, наведених у табл. 1, при визначенні 90—180 мкг/мл адреналіну гідротартрату методом порівняння з розчином РСЗ відносно стандартне відхилення становить 3,2—4,4 %. Нижня межа визначуваних концентрацій  $c_n = 1 \cdot 10^{-6}$  М. Результати визначення адреналіну гідротартрату в 0,18 % розчині для ін'єкцій наведені в табл. 2.

Таблиця 2

Результати хемілюмінесцентного визначення адреналіну гідротартрату в 0,18 % розчині для ін'єкцій за реакцією з нітратом 9-ціано-10-метилакридинію ( $P = 0,95, n = 7$ )

Вміст адреналіну гідротартрату, г/мл	Знайдено		Метрологічні характеристики
	г/мл	%	
0,0018*	0,00173	96,3	$\bar{X} = 0,00178$
	0,00181	100,0	(98,8 %)
	0,00187	103,9	$S = \pm 5,78 \cdot 10^{-5}$
	0,00174	96,7	$S\bar{x} = \pm 2,19 \cdot 10^{-5}$
	0,00175	97,2	$\Delta\bar{x} = \pm 5,36 \cdot 10^{-5}$
	0,00183	101,7	$S_r = \pm 3,25 \%$
	0,00172	95,6	$\delta = -1,1 \%$

\*Встановлено за даними чинної фармакопейної методики.

**Методика визначення адреналіну в 0,18 % розчині для ін'єкцій.** 1,00 мл 0,18 % розчину адреналіну гідротартрату переносили в мірну колбу на 100 мл, доводили об'єм двічі дистильованою водою до позначки при +20 °С і ретельно перемішували. У кварцову кювету хемілюмінометра послідовно вносили 2,50 мл 1 моль/л розчину гідроксиду калію, 6,0 мл двічі дистильованої води, 1,00 мл розчину проби, ретельно перемішували і переносили у світлонепроникну камеру фотометра, відкривали шторку і за допомогою піпеткового дозатора вливали 0,50 мл  $5 \cdot 10^{-4}$  М розчину ЦМА. Реєстрували максимальну інтенсивність світіння. Паралельно проводили досліди, в яких замість випробовуваного розчину використовували розчин РСЗ та двічі дистильовану воду відповідно.

Вміст адреналіну гідротартрату в розчині для ін'єкцій ( $w$ , г/мл) розраховують за формулою

$$w = \frac{\Delta I \cdot C_0 \cdot 100}{\Delta I_0},$$

де  $\Delta I$  — різниця значень максимальних інтенсивностей хемілюмінесценції, одержаних у дослідах з випробовуваним розчином та двічі дистильованою водою, відн. од;

$C_0$  — концентрація розчину РСЗ адреналіну гідротартрату, 0,000018 г/мл;  
 $\Delta I_0$  — різниця максимальних інтенсивностей хемілюмінесценції, одержаних у дослідах з розчинами РСЗ адреналіну гідротартрату та двічі дистильованою водою, відн. од.

## Висновок

Опрацьовано новий хемілюмінесцентний метод кількісного визначення адреналіну гідротартрату в субстанції та 0,18 % розчині для ін'єкцій за реакцією з нітратом 9-ціано-10-метилакридинію. При визначенні 90—180 мкг/мл адреналіну гідротартрату  $s_r = 3,2-4,4$  %. Нижня межа визначуваних концентрацій  $c_n = 1 \cdot 10^{-6}$  М.

1. Афхами А., Хатами Х.А. // Журн. аналит. хімії. — 2003. — Т. 5, № 2. — С. 157—160.
2. Блажеєвський М.Є., Бондаренко Н.Ю. // Журн. органіч. та фармац. хімії. — 2005. — Т. 3, № 3. — С. 79—82.
3. Блажеєвський М.Є., Томаровська Т.О., Кабачний В.І. // Вісн. фармації. — 1998. — № 1. — С. 56—59.
4. Блажеєвський М.Є., Томаровська Т.О. // Фізіологіч. активні речовини. — 2001. — № 2. — С. 37—40.
5. Гута А.М., Пацай І.О., Мідяний С.В. // Праці І Західноукраїнського симпозиуму з адсорбції та хроматографії. — Львів, 1997. — С. 70—71.
6. Лайтinen Г.А., Харрис В.Е. Химический анализ : Пер. с англ./ Под ред. Ю.А.Клячко. — 2-е изд., перераб. — М.: Химия, 1979. — 624 с.
7. Створення, виробництво, стандартизація, фармакоекономіка лікарських засобів та біологічно активних добавок. — Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. — 564 с.
8. Федюкович Н.И. Справочник по лекарственным препаратам. — Минск: Интерпресс, 2002. — 560 с.
9. Шведене Н.В., Бердникова Л.П., Пахмутова Е.В. и др. // Вестн. МГУ. Сер. 2. — 1999. — Т. 40, № 4. — С. 237—240.
10. Эрдогду Г. // Журн. аналит. хімії. — 2002. — Т. 57, № 7. — С. 741—744.
11. Calokerinos A.C., Deftereos N.T., Efstathion C.E. // Anal. Proc. — 1992. — Vol. 29, № 8. — P. 339.
12. Davidson A.D. // J. Pharm. Pharmacol. — 1979. — Vol. 31, № 3. — P. 77—82.
13. Fotopoulou Maria, Kristiansen Jesper, Nielsen Jeanet Logsted et al. // Talanta. — 1999. — Vol. 50, № 2. — P. 367—379.
14. Kaufmann A., Albertini A. // Berichte. — 1909. — B. 42. — S. 2002—2005.
15. Mallols J.M.S., Camamas R.M.V., Ramisramos G. // Chromatographia. — 1994. — Vol. 38, № 7. — P. 1461—1463.
16. Teng Chonglun, Zhur Yan, Jinghe Yang // Anal. Chem. — 2000. — Vol. 28, № 3. — P. 293—295.

Надійшла до редакції 17.07.2006.

*Н.Е.Блажеевский, П.Л.Миронюк*

## ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АДРЕНАЛИНА ГИДРОТАРТРАТА В РАСТВОРЕ ДЛЯ ИНЪЕКЦИЙ

Исследована хемілюмінесценція нітрату 9-ціано-10-метилакридинія в щелочной среде в присутствии адреналина. Разработаны методики и показана возможность количественного определения адреналина гидротартрата в субстанции и в инъекционном растворе. Относительное стандартное отклонение не превышает 4,2 %.

*M. Ye. Blazheevskiy, P.L. Mironuk*

## CHEMILUMINESCENT DETERMINATION OF ADRENALINE HYDROTARTRATE IN INJECTION SOLUTION

### SUMMARY

Chemiluminescent reaction of 9-cyano-10-methyacridinium nitrate with adrenaline hydrotartrate in alkali medium has been investigated. Possibility has been shown and methods of quantitative determination of in substance and injection solution was developed. Relative standard deviation does not more 4,2 % (90—180 mkg/ml). Lower limit of determination  $1 \cdot 10^{-6}$  mol/l.