



Ю.М. Лебідь

Спектрофотометричне визначення сальбутамолу в аерозолі за реакцією з бромкрезоловим зеленим

Запорізький державний медичний університет

Ключові слова:

спектрофотометрія, сальбутамолу сульфат, сульфогфталейнові барвенки, бромкрезоловий зелений, кількісне визначення.

Ключевые слова:

спектрофотометрия, сальбутамол, сульфогфталейновые красители, бромкрезоловый зеленый, количественное определение.

Key words: spectrophotometry, salbutamole, sulphonphthalein dyes, bromocresole green, quantitative determination.

Запропоновано нову точну й чутливу спектрофотометричну методику кількісного визначення сальбутамолу в аерозолі на основі реакції з бромкрезоловим зеленим. Проведено процедуру валідації згідно ДФУ з визначенням таких характеристик, як лінійність, діапазон застосування, точність, правильність і робастність. Встановлено, що за цими показниками методика є валідною.

Предложена новая точная и чувствительная спектрофотометрическая методика количественного определения сальбутамолу в аэрозоле на основе реакции с бромкрезоловым зеленым. Проведена процедура валидации согласно ГФУ с определением таких характеристик, как линейность, диапазон применения, точность, правильность и робастность. Установлено, что по этим показателям методика является валидной.

A new precise and sensitive spectrophotometric method for the quantitative determination of salbutamole in aerosol based on the reaction with bromocresole green is proposed. Validation characteristics such as linearity, application range, precision, accuracy and robustness are also determined. The method is valid according to these characteristics.

Сальбутамол належить до β_2 -адреностимуляторів і широко застосовується у медицині при бронхіальній астмі та інших захворюваннях дихальних шляхів, що перебігають зі спастичними станами [1]. Згідно з аналітичною нормативною документацією, сальбутамол у дозованому аерозолі визначають екстракційно-фотометричним методом: проводять реакцію з 0,15% розчином сульфату N,N-диметил-п-фенілендіаміну та 8% розчином гексаціаноферрату(II) калію за наявності гідрокарбонату натрію, а через 15 хв забарвлений продукт екстрагують хлороформом і вимірюють оптичну густину при 605 нм [2]. Наведена методика досить тривала і трудомістка. В медичній літературі описані спектрофотометричні методи визначення сальбутамолу в УФ-області спектра [6,7] та у видимій області спектра на основі реакцій сальбутамолу з 4-аміноантипірином [3], з 4-хлор-7-нітробензо-2-оксо-1,3-діазолом [5]. Також відомі методи визначення сальбутамолу у лікарських формах за допомогою високоефективної рідинної хроматографії [4,6,10], метод капілярного електрофорезу [8] та амперометричний метод [9]. Незважаючи на окремі позитивні характеристики існуючих методів, доцільна розробка нових, більш чутливих і простих у виконанні способів визначення сальбутамолу.

Мета роботи

Вивчення умов проведення реакції сальбутамолу з бромкрезоловим зеленим та запропонування способу його кількісного визначення в аерозолі.

Матеріали і методи дослідження

Об'єкти дослідження, застосовані реагенти та обладнання

Об'єктом дослідження був лікарський засіб Сальбутамол – аерозоль для інгаляцій дозований (GlaxoSmithKline, Польща, серія PF2363).

Використано реактиви і розчинники: РСЗ сальбутамолу

сульфату, бромкрезоловий зелений (БКЗ) (кваліфікації чда), ацетон (кваліфікації чда).

Аналітичне обладнання: спектрофотометр Specord 200, ваги електронні PFB-120-3, мірний посуд класу А.

Загальна методика кількісного визначення сальбутамолу

Аліквотну частину (0,150–0,450 мг) розчину сальбутамолу вміщують у мірну колбу на 25 мл, додають 0,20 мл води, 1,0 мл 0,3% розчину БКЗ в ацетоні та доводять ацетоном до позначки, перемішують. Абсорбцію вимірюють на фоні компенсаційного розчину, що не містить досліджуваної речовини, при довжині хвилі 413 нм. У якості розчину порівняння використовують 0,03% розчин СЗ сальбутамолу.

Визначення сальбутамолу в аерозолі

Інгалятор тримають догори дном і роблять 12 натискань під поверхнею води у фарфоровій чашці з 2,5 мл води. Кількісно переносять у мірну колбу місткістю 25 мл і доводять ацетоном до мітки, ретельно перемішують. 2,0 мл отриманого розчину переносять у мірну колбу на 25 мл, додають 1,0 мл 0,3% ацетонового розчину БКЗ, доводять ацетоном до мітки. Абсорбцію вимірюють на фоні компенсаційного розчину, що не містить досліджуваної речовини, при довжині хвилі 413 нм. У якості розчину порівняння використовують 0,03% розчин СЗ сальбутамолу сульфату.

Результати та їх обговорення

Деякі сульфогфталейнові барвенки, серед яких і БКЗ, використовують для кількісного спектрофотометричного визначення лікарських речовин різних хімічних і фармакологічних груп.

Експериментальним шляхом встановлено, що БКЗ реагує з сальбутамолом в ацетоновому середовищі при кімнатній температурі з утворенням забарвленого у жовтий колір продукту з максимумом світлопоглинання при 413 нм (рис. 1).

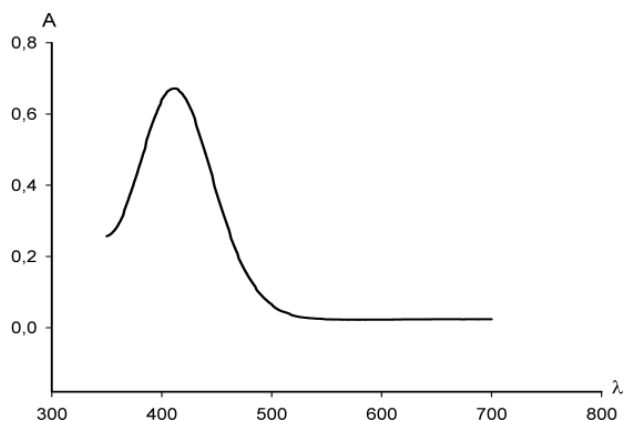


Рис. 1. Спектр поглинання продукту реакції БКЗ з сальбутамолом.

Вибір розчинника для даної реакції ґрунтувався на даних про розчинність сальбутамолу та БКЗ, а також на експериментальних результатах. Дослідним шляхом визначено, що ацетон є оптимальним розчинником для цієї реакції. Слід також зазначити, що для проведення реакції до суміші додавали 8% води.

Оптимальну кількість реагенту дібрано, ґрунтуючись на максимальному виході продукту реакції. Температурний і часовий режими у цьому випадку не мали особливостей, оскільки реакція перебігає швидко й при кімнатній температурі.

Визначення валідаційних характеристик

Лінійність та діапазон застосування методики

Визначення лінійності проводили у межах концентрацій, у яких спостерігається підпорядкування закону світлопоглинання, а саме 0,4–2,0 мг/100 мл. За результатами визначень, проведених за загальною методикою, будували графік залежності абсорбції від концентрації досліджуваної речовини (рис. 2). Розчини з відомою концентрацією отримували шляхом розведення стандартного розчину сальбутамолу.

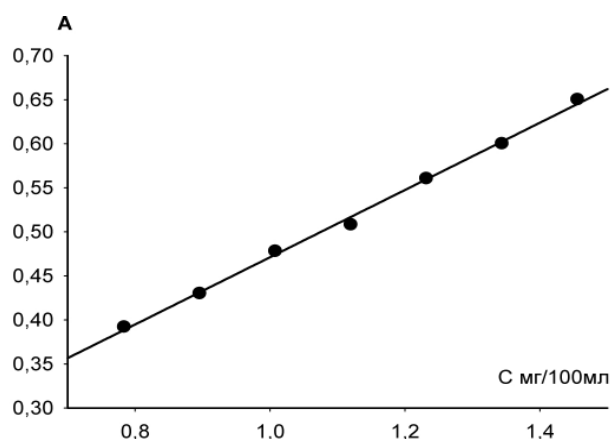


Рис. 2. Графік залежності абсорбції від концентрації тербінафіну.

Лінійність методики підтверджується у всьому зазначеному інтервалі концентрацій (табл. 1). Отже, діапазон застосування методики складає 70–130% від номінального вмісту сальбутамолу в лікарській формі.

Таблиця 1
Оптичні характеристики та основні параметри лінійної залежності реакції сальбутамолу з БКЗ

Молярний показник поглинання ϵ	$1,26 \cdot 10^4$
Коефіцієнт Сендела W_s	0,01897
Відкривальний мінімум C_{min} (мкг/мл)	0,9484
Рівняння лінійної регресії	$Y = bX + a$
Кутовий коефіцієнт $b \pm (S_b)$	$0,3818 \pm (0,0089)$
Вільний член лінійної регресії $a \pm (S_a)$	$0,0894 \pm (0,0102)$
Залишкове стандартне відхилення $S_{x,o}$	0,0139
Коефіцієнт кореляції r	0,9986

Точність

Точність розробленої методики визначено на рівні збіжності (табл. 2). Встановлено, що значення довірчого інтервалу менше максимально припустимої невизначеності методики $\Delta_{As\%}$, тому методика є точною на рівні збіжності.

Таблиця 2
Визначення збіжності результатів кількісного визначення сальбутамолу в аерозолі

Лікарська форма	\bar{X}	S	RSD	Δ_x	$\Delta_{As\%}$
Сальбутамол аерозоль	$9,74 \cdot 10^{-5}$	$5,99 \cdot 10^{-6}$	0,615	$1,38 \cdot 10^{-7}$	3,2

Правильність

Для визначення правильності розробленої методики порівняно результати кількісного визначення сальбутамолу в аерозолі за розробленою методикою ($\bar{X} = 97$ мкг) з результатами визначення за методикою АНД ($\bar{X} = 92$ мкг), наведеною в сертифікаті якості виробника. Результати кількісного визначення сальбутамолу, отримані за обома методиками, майже однакові, що свідчить про правильність розробленої методики.

Робастність

Оцінку робастності проводили на етапі розробки методики. Встановлено, що оптична густина забарвлених розчинів залишалась стабільною протягом 30 хвилин.

Висновки

Отримані в результаті досліджень дані підтверджують, що розроблена методика є точною, правильною, високочутливою, економічною, нетривалою і зручною у виконанні, тому може бути рекомендована для подальшого застосування в інспекціях з контролю якості і ВТК хіміко-фармацевтичних заводів.

Література

1. *Маишковский М.Д.* Лекарственные средства: в 2-х т. / Маишковский М.Д. – Харьков: Торсинг, 1998. – Т. 1. – 249 с.
2. FE-57/16/W. Сальбутамол (аэрозоль дозований).
3. *Isabel Dol.* Flow-injection spectrophotometric determination of salbutamol with 4-aminoantipyrene / Isabel Dol, Moisés Knochen // *Talanta*. – 2004. – Vol. 64, №5. – P. 1233–1236.
4. Quantitation of salbutamol in human urine by liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry / Jianli Zhang, Youxuan Xu, Xin Di, Moutian Wu // *Journal of Chromatography B*. – 2006. – Vol. 831, №1–2. – P. 328–332.
5. Spectrophotometric determination of fenoterol hydrobromide in pure form and dosage forms / Y. El-Shabrawy, F. Belal, M. Sharaf El-Din, Sh. Shalan // *Il Farmaco*. – 2003. – Vol. 58, №10. – P. 1033–1038.
6. *Alaa El-Gindy.* Development and validation of chemometrics-assisted spectrophotometric and liquid chromatographic methods for the simultaneous determination of two multicomponent mixtures containing bronchodilator drugs / Alaa El-Gindy, Samy Emara, Heba Shaaban // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. – 2007. – Vol. 43, №3. – P. 973–982.
7. *Habib I.H.I.* Simultaneous Spectrophotometric Determination of Salbutamol and Bromhexine in Tablets / I.H.I. Habib, M.E.M. Hassouna, G.A. Zaki // *Il Farmaco*. – 2005. – Vol. 60, №3. – P. 249–254.
8. Determination of salbutamol in syrups by capillary electrophoresis with contactless conductivity detection (CE-C⁴D) / Fabiana S. Felix, Maria S.M. Quintino, Alexandre Z. Carvalho, Lúcia H.G. Coelho, Claudimir L. do Lago, Lúcio Angnes // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. – 2006. – Vol. 40, №5. – P. 1288–1292.
9. *Maria S.M. Quintino.* Bia-amperometric quantification of salbutamol in pharmaceutical products / Maria S.M. Quintino, Lúcio Angnes // *Talanta*. – 2004. – Vol. 62, №2. – P. 231–236.
10. Validation of a chiral HPLC assay for (R)-salbutamol sulfate / Alejandra Halabi, Carlos Ferrayoli, Marcela Palacio, Viviana Dabbene, Sara Palacios // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. – 2004. – Vol. 34, №1. – P. 45–51.

Відомості про авторів:

Лебідь Ю.М., студентка V курсу фармацевтичного факультету ЗДМУ.

Адреса для листування:

Лебідь Юлія Миколаївна. 69035, пр-т Маяковського, 26.

Тел.: (099) 912 08 85.

E-mail: lebed_yuliya@i.ua