

С. В. БЕЛТЬЮКОВА, д-р хім. наук, проф.,

О. В. МАЛИНКА, канд. хім. наук, доцент

Одеська національна академія харчових технологій

ВИЗНАЧЕННЯ ПЛАТИФІЛІНУ ГІДРОТАРТРАТУ ПО ГАСІННЮ ЛЮМІНЕСЦЕНЦІЇ КОМПЛЕКСУ ІТРІЮ (III) ІЗ РУТИНОМ

Ключові слова: платифіліну гідротартрат, люмінесценція, ітрій, рутин

S. V. BELTYUKOVA, O. V. MALINKA

Odesa National Academy of Food Technologies

DETERMINATION OF PLATYPHYLLINE HYDROTARTRATE BY LUMINESCENCE QUENCHING OF THE COMPLEX YTTRIUM (III) WITH RUTIN

Key words: platyphylline hydrotartrate, luminescence, yttrium, rutin

Розроблення методик якісного та кількісного аналізу лікарських речовин дає змогу гарантувати їх ідентичність та відсутність домішок. У роботі запропоновано спосіб визначення платифіліну гідротартрату у дозованих лікарських формах, який заснований на гасінні люмінесценції комплексу ітрію (III) із рутином.

Платифіліну гідротартрат є блокатором N-холінорецепторів, виявляє спазмолітичний ефект на гладком'язові органи, спричинює седативну дію на центральну нервову систему, сприяючи тим самим розширенню судин і зниженню артеріального тиску (рис. 1).

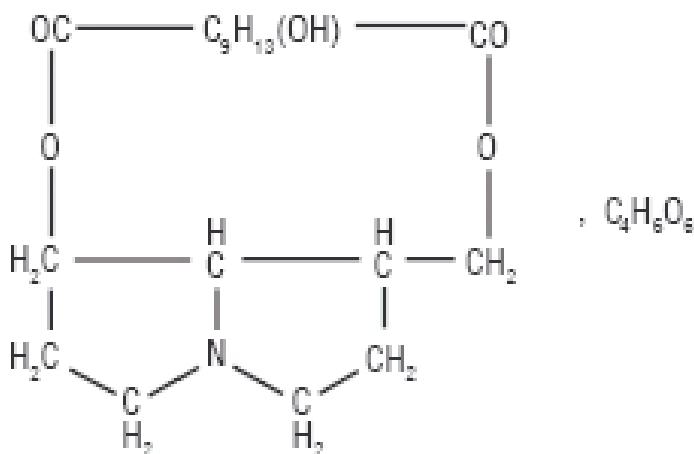


Рис. 1. Структурна формула платифіліну гідротартрату

Застосовують платифіліну гідротартрат головним чином при спазмах гладкої мускулатури органів черевної порожнини, виразковій хворобі шлунку і дванадцятипалої кишки, бронхіальній астмі, підвищеному тонусі й спазмах кровоносних судин [1].

Лікарські препарати, вживані у формі солей органічних основ, часто визначають по аніонній частині цих солей. Так, для визначення різних препаратів по тартрат-іону запропоновано титриметричний [2], спектрофотометричні [2, 3], електрохімічні [4], хроматографічні [5, 6] і люмінесцентні [7] методи аналізу.

Відомо, що комплексні сполуки флавоноїдів (морину, кверцетину) з іонами металів (Zr (IV)) використовують як люмінесцентні маркери для визначення біологічно

активних аніонів (оксалату, тартрату) в біологічних рідинах і продуктах харчування [8]. Раніше комплексні сполуки флавоноїдів (морину, кверцетину та рутину) було використано як аналітичну форму для люмінесцентного визначення самих флавоноїдів, тому представляло інтерес вивчити можливість використання цих люмінесцентних маркерів для визначення біологічно активних аніонів, які можуть збільшувати або гасити молекулярну люмінесценцію комплексних сполук флавоноїдів.

У цій роботі встановлено, що введення в систему ітрію (III)–рутин (Rut) тартрат-іонів (Tart), зв'язаних із протонуваними формами органічних основ, зокрема з платифіліном, призводить до гасіння інтенсивності люмінесценції ($I_{\text{люм}}$) комплексу Y (III)–Rut. Цей ефект було використано для визначення лікарського препарату – платифіліну гідротартрату.

Метою цього дослідження було розроблення методики люмінесцентного визначення платифіліну гідротартрату в дозованих лікарських формах із використанням люмінесцентного зонда – комплексу ітрію (III) із рутином.

Матеріали та методи дослідження

Початковий розчин платифіліну гідротартрату (1 мг/мл) готували розчиненням точної наважки субстанції (вміст основної речовини 99%, виробник «GFL Ltd», Грузія) у дистильованій воді. Розчин тартрату калію (0,01 моль/л) готували розчиненням точної наважки препарату в дистильованій воді, розчин рутину (0,01 моль/л) – розчиненням точної наважки препарату в етанолі, розчин бичачого сироваткового альбуміну (1 мг/мл) – розчиненням наважки препарату в дистильованій воді. Хлорид ітрію готували розчиненням високочистого оксиду (99,99%) у хлороводневій кислоті (1:1) із наступним видаленням її надлишку упарюванням. Концентрацію ітрію (III) контролювали комплексонометричним титруванням розчином комплексону III (0,01 моль/л) з індикатором арсеназо I у присутності уротропіну [9].

Спектри люмінесценції та збудження реєстрували за допомогою спектрометра Cary Eclipse Varian (Австралія) з подвійним джерелом світла (ксенонова лампа 150-W суцільного спектра й імпульсна лампа) та флуорометра ЕФ-ЗМА. Значення рН розчинів вимірювали за допомогою рН-метра ОР-211/1 Radelkis (Угорщина) зі скляним електродом. Необхідне значення рН створювали в розчині за допомогою уротропіну.

Результати дослідження та обговорення

Як люмінесцентний зонд запропоновано використати комплекс Y (III) із рутином. У зв'язку з цим було доцільним вивчити спектроскопічні характеристики комплексу, механізм гасіння його люмінесценції в присутності тартрат-іонів та встановити можливість застосування цього люмінесцентного зонда для визначення платифіліну гідротартрату.

Відомо, що етанольний розчин рутину при опроміненні УФ-світлом ртутної лампи виявляє люмінесцентні властивості, але інтенсивність його люмінесценції невелика. Проте, інтенсивність люмінесценції ліганду в деяких випадках може зростати у разі комплексоутворення з іонами металів, наприклад з іонами Y (III), La (III), Sc (III), Al (III). При цьому авторами було виявлено, що найвищу інтенсивність люмінесценції мають комплекси з іонами Y (III). Встановлено, що інтенсивність люмінесценції комплексу збільшується на порядок у присутності бичачого сироваткового альбуміну (БСА), який належить до глобулярних білків. У цьому разі відбувається солюбілізація рутину у мікрофазу глобулярного білка за рахунок електростатичних та гідрофобних взаємодій, що зумовлює екранізацію флуорофора від гасіння молекулами води, зни-

жуючи безвипромінювальні втрати енергії. При цьому характер спектрів збудження та люмінесценції не змінюється, збільшується тільки їхня інтенсивність, максимуми смуг не зміщуються та не розщеплюються, що може бути доказом того, що молекули БСА не входять у внутрішню сферу комплексу.

Авторами експериментально встановлено, що тартрат-іони, також як і платифіліну гідротартрат, зменшують $I_{\text{люм}}$ комплексу Y (III)–рутин у присутності БСА.

Спектр люмінесценції комплексу Y (III)–рутин у присутності БСА має максимум при $\lambda_{\text{люм}} = 570$ нм (рис. 2), у присутності тартрату калію $I_{\text{люм}}$ цієї полоси зменшується та зростає $I_{\text{люм}}$ полоси люмінесценції рутину.

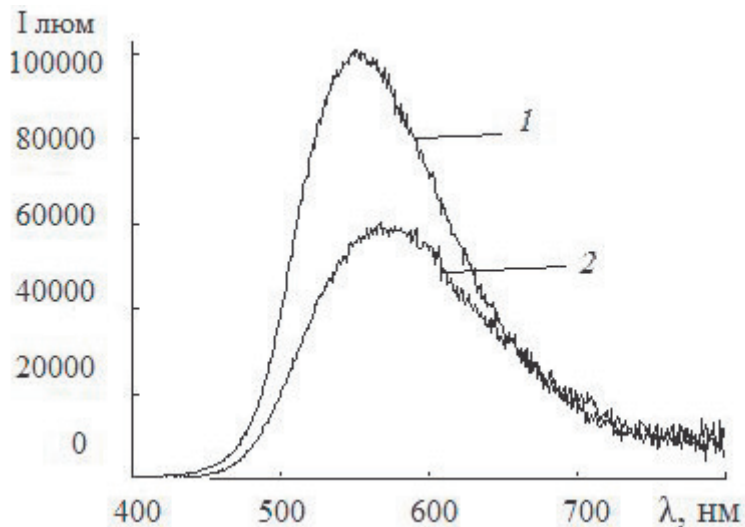


Рис. 2. Спектр люмінесценції комплексу Y (III)–Rut у присутності БСА, у відсутності (1) та в присутності (2) тартрат-іонів

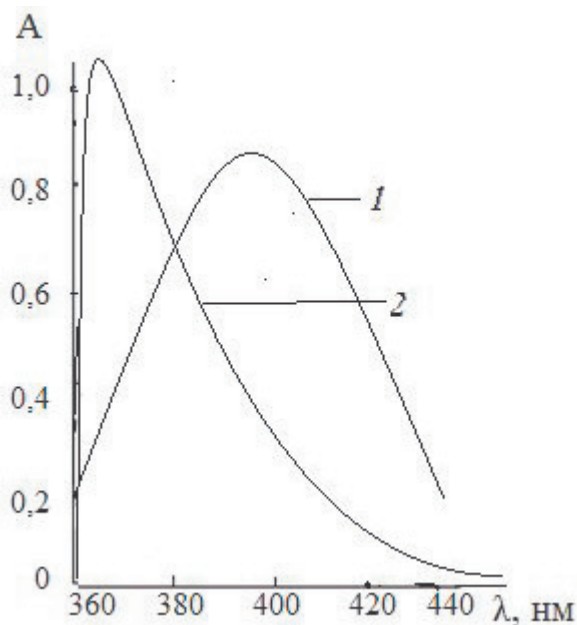


Рис. 3. Спектр поглинання комплексу Y (III)–Rut у відсутності (1) та в присутності (2) тартрат-іонів

На рис. 3 наведено спектри поглинання комплексу Y (III)–Rut у відсутності та в присутності тартрат-іонів, з яких видно, що в присутності тартрат-іонів смуга світлопоглинання комплексу Y (III)–Rut ($\lambda = 405$ нм) зникає, і замість неї з'являється смуга поглинання не зв'язаного (вільного) рутину ($\lambda = 365$ нм). Водночас у розчині з'являється осад тартрату ітрію (III). Комплекси Y (III) із тартрат-іонами у водних розчинах описано раніше [10, 11]. Наведені данні дають можливість зробити висновок – у присутності тартрат-онів (або платифіліну гідротартрату) відбувається руйнування комплексу Y (III)–Rut, що призводить до гасіння люмінесценції.

Зроблені нами висновки підтверджують і спектри збудження комплексу (рис. 4). В спектрі збудження комплексу у відсутності тартрат-іона спостерігається велика смуга з $\lambda_{\text{збудж}} = 300$ нм, у той час як у спектрі збудження комплексу Y (III)–рутин у присутності тартрат-іона є широка, розмита смуга в області 290–380 нм із максимумами при $\lambda_{\text{збудж}}$ 315 нм і 355 нм. Такі зміни в спектрі збудження люмінесценції свідчать про те, що в розчині з'явилися інші форми сполук, які здатні до люмінесценції.

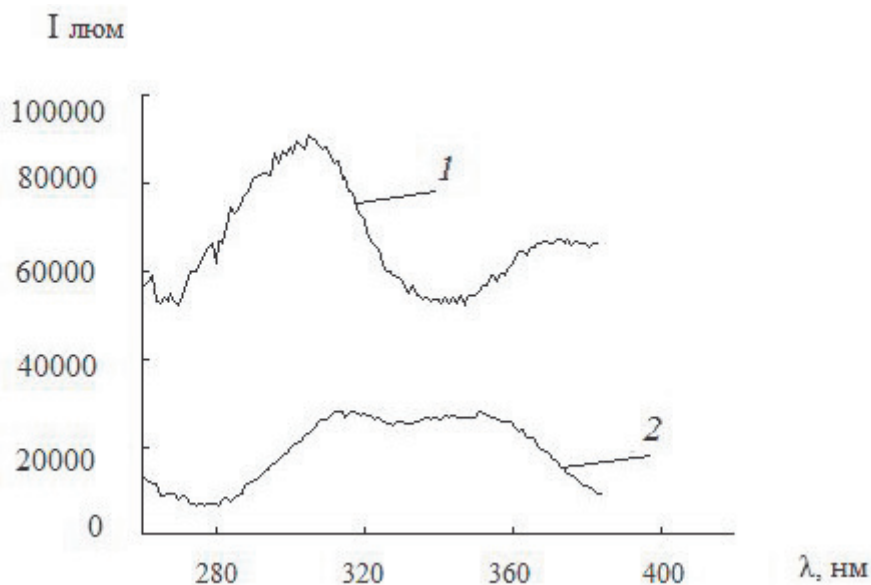


Рис. 4. Спектр збудження комплексу Y (III)–Rut у присутності БСА, у відсутності (1) та в присутності (2) тартрат-іонів

Максимальний ефект гасіння $I_{\text{люм}}$ комплексу Y (III)–рутин у присутності БСА спостерігається при рН 6,0–7,0, що створювали в розчині за допомогою уротропіну. Найбільше гасіння $I_{\text{люм}}$ спостерігається за концентрації Y (III) $5 \cdot 10^{-3}$ моль/л, рутину – $5 \cdot 10^{-3}$ моль/л.

Залежність I_0/I від концентрації тартрат-іонів визначали рівнянням Штерна–Фольмера:

$$\frac{I_0}{I} = 1 + K \cdot c,$$

де I_0 і I – інтенсивність люмінесценції проби у відсутності й присутності гасника, відповідно;

K – константа гасіння Штерна–Фольмера, л/моль;

c – молярна концентрація гасника, моль/л.

Значення константи гасіння Штерна–Фольмера, розраховане з рівняння, становило 1 230 л/моль.

Ефект гасіння $I_{\text{люм}}$ комплексу $Y(III)$ –рутин у присутності БСА тартрат-іонами використано як аналітичний сигнал для визначення платифіліну гідротартрату у дозованих лікарських формах.

Визначення платифіліну гідротартрату у дозованих лікарських формах. Визначення здійснювали методом градуувального графіка. В мірні пробірки об'ємом 10 мл вміщували 0,2; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0 мл стандартного розчину платифіліну гідротартрату (100 мкг/мл). У кожну пробірку додавали по 0,2 мл розчину хлориду ітрію ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л), 0,2 мл розчину рутину ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л), 0,2 мл розчину уротропіну з масовою часткою 40%, 0,2 мл БСА (1 мг/мл) і додавали дистильовану воду до 10 мл. Паралельно готували розчин контрольного досліду, який містить усі компоненти, окрім платифіліну гідротартрату. Інтенсивність люмінесценції розчинів вимірювали при $\lambda_{\text{люм}} = 570$ нм ($\lambda_{\text{зб}} = 310$ нм). За отриманими даними будували градуувальний графік.

Методика визначення. 2,5 мл ін'єкційного розчину «Платифіліну гідротартрат» переносили в мірну колбу ємністю 100 мл і розбавляли дистильованою водою до мітки. Аліквоту 5,0 мл отриманого розчину вводили в мірну пробірку ємністю 10 мл, додавали всі реактиви як у разі побудови градуувального графіка і вимірювали інтенсивність люмінесценції розчинів при $\lambda_{\text{люм}} = 570$ нм. Вміст платифіліну гідротартрату визначали по градуувальному графіку.

У розчині для ін'єкцій «Платифіліну гідротартрат» – гідротартрату платифіліну 2,0 мг/мл (ТОВ «Здоров'я», Україна), було знайдено $1,98 \pm 0,05$ мг/мл відповідної субстанції за $S_r = 0,03$.

Правильність результатів аналізу перевіряли методом «введено–знайдено» на модельних розчинах препаратів. Результати наведено в таблиці.

Т а б л и ц я

Результати визначення платифіліну гідротартрату (мкг/мл) у модельних розчинах методом «введено–знайдено» ($n = 5, P = 0,95$)

Введено	Знайдено	S_r
10,00	$10,3 \pm 0,4$	0,04
20,00	$20,2 \pm 0,6$	0,03
30,00	$30,3 \pm 0,9$	0,03

Як випливає з таблиці, у разі $n = 5$ і $P = 0,95$ величина відносного стандартного відхилення S_r становить не більше 4%. Розроблена методика визначення платифіліну гідротартрату вигідно відрізняється від тих, що існують, відсутністю токсичних реагентів, дорогого оснащення, нетривалим часом аналізу, дає змогу здійснювати швидкий скринінг зразків лікарських препаратів.

В и с н о в к и

1. Для визначення платифіліну гідротартрату запропоновано використати комплекс ітрій (III)–рутин у присутності бичачого сироваткового альбуміну.

2. Встановлено, що тартрат-іони, також як і платифіліну гідротартрат, зменшують інтенсивність люмінесценції комплексу $Y(III)$ –рутин у присутності бичачого сироваткового альбуміну.

3. Вивчено спектрально-люмінесцентні характеристики (максимуми довжин хвиль люмінесценції і збудження) комплексу $Y(III)$ із рутином в присутності бичачого сироваткового альбуміну.

4. Розглянуто механізм гасіння люмінесценції комплексу в присутності тартрат-іонів. Встановлено, що в присутності тартрат-іонів (або платифіліну гідротартрату) відбувається руйнування комплексу Y (III)–Rut, що призводить до гасіння люмінесценції. Розраховано константу гасіння Штерна–Фольмера, яка становить 1 230 л/моль.

5. Розроблено методику люмінесцентного визначення платифіліну гідротартрату у дозованій лікарській формі – розчині для ін'єкцій. Методика заснована на гасінні молекулярної люмінесценції комплексу Y (III)–рутин в присутності бичачого сироваткового альбуміну тартрат-іонами, зв'язаними з протонованою формою органічної основи – платифіліном.

Список використаної літератури

1. *Машковский М. Д.* Лекарственные средства. – М: Новая волна, 2006. – 1200 с.
2. *Basavaiah K., Somashekar B.* Titrimetric and Spectrophotometric Determination of Metoprolol tartrate in Pharmaceuticals Using N-Bromosuccinimide // E-J. Chemistry. – 2007. – V. 4, N 1. – P. 117–127.
3. *Badulescu M., Balalau D., Cacovean D.* UV-VIS spectrophotometric assay of metoprolol // Farmacia. – 2008. – V. 56. – P. 4.
4. *Saadet D.* Voltammetric Behaviour of Rivastigmine Hydrogen Tartrate and its Determination in Capsule Dosage Form // Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy. – 2006. – V. 26, N 1. – P. 1–12.
5. *Deshpande G. R., Rao B. M., Someswararao N.* Quantitative determination of tartaric acid in tolterodine tartrate by ion chromatography using conductivity detection // Rasayan J. Chem. – 2009. – V. 2, N 1. – P. 101–107.
6. *Зинченко А. А., Колесник А. В., Новиков О. О., Жилиякова Е. Т., Писарев Д. И.* Количественное определение платифиллина гидротартрата и сопутствующих примесей в 0,2% растворе для инъекций методом ВЭЖХ // Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация. – 2016. – Т. 233, № 12. – С. 194–204.
7. *Александрова Д. И., Егорова А. В., Скрипинец Ю. В., Антонович В. П., Украинац И. В.* Определение лекарственных препаратов – солей органических оснований – по влиянию их анионов на люминесценцию комплексов лантанидов // Журн. аналит. химии. – 2009. – Т. 64, № 7. – С. 724–732.
8. *Паустовська А., Сушко В., Бойко Г., Зінько Л., Запорожець О.* Методи молекулярної спектроскопії для визначення оксалатів і тартратів // Вісн. Київського нац. ун-ту імені Тараса Шевченка. Хімія. – 2014. – Вип. 1. – С. 13–17.
9. *Серебренников В. В.* Химия редкоземельных элементов. – Томск: ТГУ, 1961. – 813 с.
10. *Pastorek R.* Yttriumtartrate in neutralen und alkalischen Bereich // Monatshefte für Chemie / Chemical Monthly. – 1968. – V. 99, N 4. – P. 1551–1559.
11. *Pastorek R., Březina F., Rosický J.* Yttriumtartratkomplexe in sauren Bereich // Monatshefte für Chemie und verwandte Teile anderer Wissenschaften. – 1966. – V. 97, N 2 – P. 452–459.

Надійшла до редакції 6 квітня 2018 року.

С. В. Бельтюкова, Е. В. Малинка

Одесская национальная академия пищевых технологий

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПЛАТИФИЛЛИНА ГИДРОТАРТРАТА ПО ТУШЕНИЮ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ КОМПЛЕКСА ИТТРИЯ (III) С РУТИНОМ

Ключевые слова: платифиллина гидротартрат, люминесценция, иттрий, рутин
А Н Н О Т А Ц И Я

Лекарственные препараты, применяемые в форме солей органических оснований, часто определяют по анионной части этих солей. Так, для определения различных препаратов по тартрат-иону предложены титриметрический, спектрофотометрический, электрохимический, хроматографический и люминесцентный методы анализа.

Целью этого исследования была разработка методики люминесцентного определения платифиллина гидротартрата в дозированных лекарственных формах с использованием люминесцентного зонда – комплекса иттрия (III) с рутином (Rut).

Для люминесцентного определения платифиллина гидротартрата предложено использовать комплекс иттрий (III)–рутин в присутствии бычьего сывороточного альбумина (БСА). Экспериментально установлено, что тартрат-ионы уменьшают интенсивность люминесценции комплекса Y (III)–Rut в присутствии БСА. Изучены спектрально-люминесцентные характеристики комплекса. Спектр люминесценции комплекса Y (III)–Rut в присутствии БСА имеет максимум при $\lambda_{\text{люм}} = 570$ нм, в присутствии платифиллина гидротартрата интенсивность люминесценции комплекса Y (III)–Rut уменьшается и максимум люминесценции сдвигается в длинноволновую область спектра ($\lambda_{\text{люм}} = 590$ нм). Максимальный эффект тушения интенсивности люминесценции комплекса Y (III)–рутин в присутствии БСА наблюдается при pH 6,0–7,0, которое создавали в растворе с помощью уротропина. Рассмотрен механизм тушения люминесценции комплекса в присутствии платифиллина гидротартрата. Показано, что в присутствии тартрат-ионов (или платифиллина гидротартрата) происходит разрушение комплекса Y (III)–Rut, что приводит к тушению люминесценции. Тушение люминесценции комплекса Y (III)–Rut в присутствии БСА с помощью платифиллина гидротартрата подчиняется соотношению Штерна–Фольмера. Константа Штерна–Фольмера составляет 1 230 л/моль.

Разработана методика люминесцентного определения платифиллина гидротартрата в дозированной лекарственной форме – растворе для инъекций. Полученные результаты проверены методом «введено–найдено». Методика основана на использовании тушения молекулярной люминесценции рутина в комплексе Y (III)–Rut тартрат-ионами, связанными с протонированной формой платифиллина.

S. V. Beltyukova, O. V. Malinka

Odesa National Academy of Food Technologies

DETERMINATION OF PLATYPHYLLINE HYDROTARTRATE BY
LUMINESCENCE QUENCHING OF THE COMPLEX YTTRIUM (III) WITH RUTIN

Key words: platyphylline hydrotartrate, luminescence, yttrium, rutin

A B S T R A C T

Drugs used in the form of salts of organic bases are often determined by the anionic portion of these salts. Thus, titrimetric, spectrophotometric, electrochemical, chromatographic and luminescent methods of analysis are proposed for the determination of various tartrate-ion preparations.

The purpose of this study was to develop a method of luminescent determination of platyphylline hydrotartrate in dosage forms using a luminescent probe-yttrium complex (III) with rutin (Rut).

The luminescent determination of platyphylline hydrotartrate is offered to use a complex of yttrium (III)–rutin in the presence of bovine serum albumin (BSA). It has been experimentally established that tartrate ions quench of luminescence intensity of the Y (III)–Rut complex in the presence of BSA. The spectral and luminescent properties of the Y (III)–Rut complex in the presence of BSA were studied. The luminescence spectrum of the Y (III)–Rut complex in the presence of BSA has a maximum at $\lambda = 570$ nm, in the presence of platyphylline hydrotartrate of luminescence intensity of the Y (III)–Rut complex decreases and the maximum luminescence shifts to the long wavelength region of the spectrum ($\lambda = 590$ nm). It was established that the maximum quenching effect of the luminescence intensity of the Y (III)–rutin complex in the presence of BSA could be observed at the pH 6.0–7.0, which was created in solution with the help of urotropine. It is known that the luminescence quenching may be caused by various processes, including reactions in the excited state, energy transfer, formation of complexes and collisional quenching. It can be assumed that the quenching effect of Y (III)–Rut complex due to the complexation reaction of Y (III) with platyphylline hydrotartrate, that leads to the destruction of the Y (III)–Rut complex. Luminescence quenching of the Y (III)–Rut complex in the presence of BSA by platyphylline hydrotartrate follows the Stern–Volmer relationship. The Stern–Volmer constant is 1 230 l/mol.

The luminescence method of the determination of platyphylline hydrotartrate in the dosage form (solution for injection) was developed. The received results were verified by method of spiked samples. The method is based on quenching of a rutin's molecular luminescence in the complex of the Y (III)–rutin by tartrate ions associated with the protonated form of platyphylline.

Електронна адреса для листування з авторами: onahtan@ukr.net