



МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **130734** (13) **U**
(51) МПК
G01N 33/15 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2018 06183	(72) Винахідник(и): Бельтюкова Світлана Вадимівна (UA), Малинка Олена Валентинівна (UA), Бойченко Валентина Дмитрівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 04.06.2018	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 26.12.2018	(73) Власник(и): ОДЕСЬКА НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ, вул. Канатна, 112, м. Одеса, 65039 (UA)
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 26.12.2018, Бюл.№ 24	

(54) СПОСІБ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ПЛАТИФІЛІНУ ГІДРОТАРТРАТУ

(57) Реферат:

Спосіб кількісного визначення платифіліну гідротартрату, при якому виконують відбір і приготування проби, взаємодію її з хімічними реагентами у розчині і вимірювання аналітичного сигналу. Пробу піддають взаємодії із розчинами хлориду ітрію (III), рутину, бичачого сироваткового альбуміну при рН 6,0-7,0 з подальшим вимірюванням гасіння люмінесценції комплексу рутину з ітрієм (III) при $\lambda_{\text{випр}}=570$ нм.

UA 130734 U

Корисна модель належить до аналітичної хімії, зокрема до способу визначення платифіліну гідротартрату у дозованих лікарських формах.

Відомий спосіб кількісного визначення платифіліну гідротартрату (ПГТ) методом високоефективної рідинної хроматографії [Зинченко А.А., Колесник А.В., Новиков О.О., Жиликова 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]. Спосіб передбачає використання хроматографічної системи моделі LC-20 Prominence виробництва "Shimadzu" зі спектрометричним детектором. Хроматографічне розділення проводять на колонці "Spherisorb" R 5, заповненій сорбентом з привитими октильними або октадецильними групами. В якості рухомої фази використовують суміш: вода - ацетонітрил - кислота фосфатна (920:79:1). Ідентифікацію піків проводять порівнюючи час утримання піків досліджуваних і стандартних зразків. Кількісне визначення проводять із застосуванням методу зовнішнього стандарту, використовуючи градувальні графіки. Однак, цей спосіб потребує складного апаратурного оформлення та наявності дорогих стандартних зразків складу.

Найбільш близьким до корисної моделі, що заявляється, є спосіб кількісного визначення ПГТ у лікарських засобах [Александрова Д.И., Егорова А.В., Скрипинец Ю.В., Антонович В.П., Украинец 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]. Спосіб заснований на люмінесцентном визначенні ПГТ по сенсibiliзованій люмінесценції комплексу Eu(III) з похідним фторвмісного аміда гідроксигінолінокарбонової кислоти і тартрат-іоном. Визначення проводили наступним чином.

2,5 мл ін'єкційного розчину "Платифіліну гідротартрату" переносили в мірну колбу ємністю 100 мл і розводили дистильованою водою до мітки. Аліквоту 3,0 мл отриманого розчину вводили в мірну колбу ємністю 10 мл, додавали 1,0 мл $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л розчину хлориду європію (III), 0,5 мл розчину фторвмісного аміда гідроксигінолінокарбонової кислоти, 0,5 мл 40 % розчину уротропіну. Розчини розбавляли до 10 мл дистильованою водою і перемішували. Через 5 хвилин вимірювали інтенсивність люмінесценції розчинів при $\lambda_{\text{випр}}=614$ нм ($\lambda_{\text{зб}}=320$ нм). Паралельно готували розчин холостого зразка, який містить усі компоненти, окрім платифіліну гідротартрату. Вміст ПГТ визначали по градувальному графіку.

Це рішення вибрано як аналог.

Аналог і корисна модель, що заявляється, мають такі спільні операції:

- 1) відбір і приготування проби;
- 2) взаємодія проби з хімічними реагентами у розчині;
- 3) вимірювання аналітичного сигналу.

Однак, спосіб за аналогом має суттєві недоліки. Він передбачає використання флуоресцентного спектрометра для реєстрації інтенсивності люмінесценції іона Eu(III); реагент, який використовують в якості ліганда -сенсibiliзатора не є комерційним і потребує його синтезу по методиці [Ukrainets I.V., Sidorenko L.V., Gorokhova O.V., Shishkin O.V., Turov A.V. //Chem. Heterocyclic Compoun. - 2006. - Т. 42, № 9. - Р. 1208], що викликає необхідність залучення до синтезу органіка-синтетика. Все це значно збільшує час проведення аналізу та підвищує складність способу.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити спосіб кількісного визначення платифіліну гідротартрату, у якому за рахунок заміни реагентів, застосуванню реакції гасіння люмінесценції комплексу ітрію (III) з рутином в присутності бичачого сироваткового альбуміну (БСА) платифіліном гідротартратом, забезпечити спрощення аналізу, скорочення часу проведення аналізу.

Поставлена задача вирішена в способі кількісного визначення платифіліну гідротартрату, що включає відбір і приготування проби, взаємодію її з хімічними реагентами у розчині і вимірювання аналітичного сигналу тим, що пробу піддають взаємодії із розчинами хлориду ітрію (III), рутину, бичачого сироваткового альбуміну при рН 6,0-7,0 з подальшим вимірюванням гасіння люмінесценції комплексу рутину з ітрієм (III) при $\lambda_{\text{випр}}=570$ нм.

Новим у корисної моделі, що заявляється є використання гасіння люмінесценції комплексу ітрію (III) з рутином платифіліном гідротартратом в присутності БСА.

Причинно-наслідковий зв'язок між сукупністю ознак, що заявляються, і досягненням технічного результату полягає в наступному.

Спрощення і скорочення часу проведення аналізу, підвищення чутливості стало можливим завдяки використанню ефекту гасіння люмінесценції комплексу ітрію (III) з рутином платифіліном гідротартратом в присутності БСА.

Відомо, що етанольний розчин рутина при опроміненні УФ-світлом ртутної лампи проявляє люмінесцентні властивості, але інтенсивність його люмінесценції невелика. Проте, інтенсивність люмінесценції ($I_{\text{люм}}$) ліганда в деяких випадках може зростати при комплексоутворенні з іонами металів, наприклад, з іонами $Y(III)$, $La(III)$, $Sc(III)$, $Al(III)$. При цьому було виявлено, що найбільш високу інтенсивність люмінесценції мають комплекси з іонами $Y(III)$. Найбільша $I_{\text{люм.}}$ комплексу спостерігається при концентрації $Y(III)$ - $5 \cdot 10^{-3}$ моль/л, рутина - $5 \cdot 10^{-3}$ моль/л. Встановлено, що інтенсивність люмінесценції комплексу збільшується на порядок в присутності БСА, який відноситься до глобулярних білків, в даному випадку відбувається солюбілізація рутина в мікрофазу глобулярного білка за рахунок електростатичних та гідрофобних взаємодій, що обумовлює екранізацію флуорофору від гасіння молекулами води, що знижує безвипромінювальні втрати енергії. При цьому характер спектрів збудження та люмінесценції не змінюється, збільшується тільки їх інтенсивність, максимумами смуг не зміщуються та не розщеплюються, що може бути доказом того, що молекули БСА не входять у внутрішню сферу комплексу.

Експериментально встановлено, що тарtrat - іони, а також платифілін гідротарtrat, зменшують $I_{\text{люм.}}$ комплексу $Y(III)$ - рутин у присутності БСА. Тому в якості люмінесцентного маркера для визначення платифіліна гідротарtrата запропоновано використати комплекс $Y(III)$ - рутин в присутності БСА.

Спектр люмінесценції комплексу $Y(III)$ - рутин у присутності БСА має максимум при $\lambda_{\text{люм.}}=570$ нм (фіг. 1), в присутності платифіліну гідротарtrату $I_{\text{люм.}}$ комплексу $Y(III)$ - рутин зменшується. Можна припустити, що виявлений ефект гасіння молекулярної люмінесценції рутина в комплексі $Y(III)$ - рутин, обумовлений утворенням комплексної сполуки ітрію (III) з тарtrat-іонами та руйнуванням комплексу $Y(III)$ - рутин. Наші припущення підтверджуються і спектрами поглинання: в присутності тарtrat-іонів інтенсивність світлопоглинання комплексу зменшується ($\lambda=405$ нм), в той же час зростає смуга поглинання вільного рутина ($\lambda=365$ нм).

Руйнування комплексу $Y(III)$ - рутин підтверджується і спектром збудження. В спектрі збудження комплексу у відсутності платифіліну гідротарtrату спостерігається велика смуга з $\lambda_{\text{збудж.}}=300$ нм, у той час як в спектрі збудження комплексу $Y(III)$ - рутин у присутності платифіліну гідротарtrату є широка, розмита смуга в області 290-380 нм з максимумами при $\lambda_{\text{збудж.}}$ 315 нм і 355 нм (фіг. 2), що свідчить про руйнування комплексної сполуки $Y(III)$ - рутин.

Максимальний ефект гасіння $I_{\text{люм.}}$ комплексу $Y(III)$ - рутин у присутності БСА спостерігається при pH 6,0-7,0, що створювали в розчині за допомогою уротропіну.

Ефект гасіння $I_{\text{люм.}}$ комплексу $Y(III)$ - рутин у присутності БСА платифіліном гідротарtrатом використано в якості аналітичного сигналу для визначення платифіліну гідротарtrату у дозованих лікарських формах.

Спосіб ілюструється графічними матеріалами, де:

фіг. 1 - спектр люмінесценції комплексу $Y(III)$ - рутин в присутності БСА у відсутності (1) та у присутності (2) платифіліну гідротарtrату;

фіг. 2 - спектр збудження комплексу $Y(III)$ - рутин в присутності БСА у відсутності (1) та у присутності (2) платифіліну гідротарtrату.

Приклад.

Визначення платифіліну гідротарtrату проводили в розчині для ін'єкцій "Платифіліна гідротарtrат" (ТОВ "Здоров'я", Україна).

Для цього 2,5 мл ін'єкційного розчину "Платифіліна гідротарtrат" 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 по 0,2 мл розчину хлориду ітрію ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л), 0,2 мл розчину рутина ($1 \cdot 10^{-2}$ 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 зразка, який містить усі компоненти окрім платифіліну гідротарtrату. Інтенсивність люмінесценції розчинів вимірювали при $\lambda_{\text{люм.}}=570$ нм ($\lambda_{\text{зб}}=310$ нм). Вміст платифіліну гідротарtrату визначали за градувальним графіком.

В розчині для ін'єкцій "Платифіліна гідротарtrат" було знайдено $1,98 \pm 0,05$ мг/мл відповідної субстанції при $S_r=0,03$. Правильність результатів аналізу перевіряли методом "введено-знайдено на модельних розчинах препаратів. Результати приведені в таблиці.

Таблиця

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

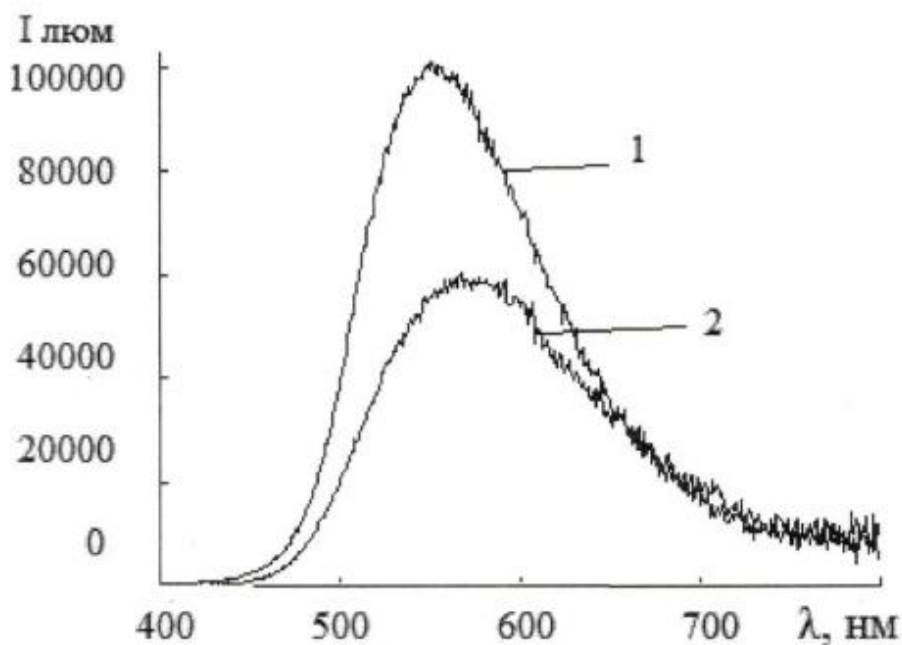
Введено	Знайдено	S_r
10,00	$10,3 \pm 0,4$	0,04
20,00	$20,2 \pm 0,6$	0,03
30,00	$30,3 \pm 0,9$	0,03

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

5

Спосіб кількісного визначення платифіліну гідротартрату, при якому виконують відбір і приготування проби, взаємодію її з хімічними реагентами у розчині і вимірювання аналітичного сигналу, який **відрізняється** тим, що пробу піддають взаємодії із розчинами хлориду ітрію (III), рутину, бичачого сироваткового альбуміну при рН 6,0-7,0 з подальшим вимірюванням гасіння люмінесценції комплексу рутину з ітрієм (III) при $\lambda_{\text{випр}}=570$ нм.

10



Фіг. 1

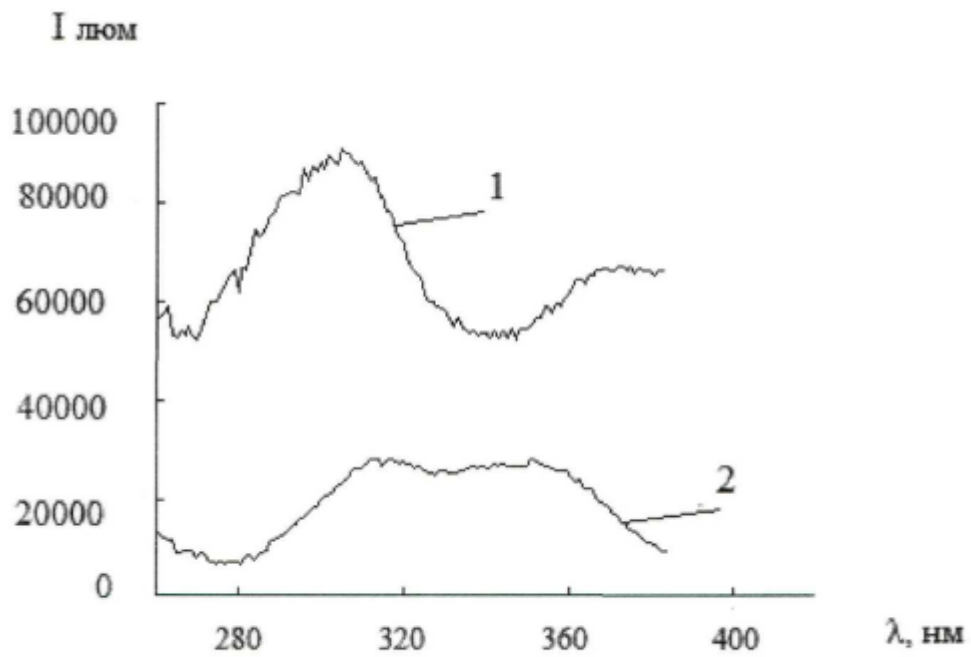


Fig. 2

Комп'ютерна верстка Л. Литвиненко

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601