

РОЗДІЛ I

Аналітична хімія

УДК 543.4

Жолт Кормош

Визначення гепарину методом резонансної світлової спектроскопії

Установлено, що гепарин із поліметиновим барвником ДНАФ утворює іонний асоціат. У його резонансних спектрах випромінювання спостерігається аналітичний сигнал при 595 нм. Оптимізовано умови утворення та розроблено методику визначення гепарину.

Ключові слова: іонний асоціат, гепарин, резонансна світлова спектроскопія.

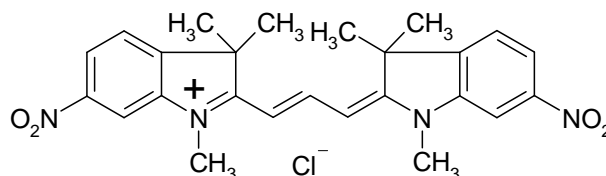
Постановка наукової проблеми та її значення. Збільшення асортименту фармацевтичних препаратів потребує розширень наукових досліджень у галузі розроблення нових, а також удосконалення наявних методів їх хіміко-аналітичного контролю. Розроблення методів хімічного та токсикологічного аналізу лікарських засобів є актуальним завданням аналітичної, фармацевтичної і токсикологічної хімії, оскільки перелік імпортованих та вітчизняних лікарських препаратів, що пропонуються на фармацевтичному ринку України, постійно розширюється.

Один із методів, що відповідає вимогам щодо можливості надійного визначення компонентів в аналіті, – це резонансна світлова спектроскопія (РСС). Резонансна світлова спектроскопія належить до нових аналітичних методів, розроблених у 90-х роках минулого століття. Цей метод відразу привернув до себе увагу через високу чутливість і відносну простоту у виконанні експерименту. Останнім часом РСС дедалі частіше застосовується для визначення біомакромолекул, наркотичних речовин, органічних та неорганічних іонів і дослідження наночастинок [2].

Гепарин (Геп) є природним глікозаміноглікановим полісахаридом. Він складається із повторюваних дісахаридних одиниць уронової/глюкуронової кислоти та залишків глюкозаміну. Середня молекулярна маса комерційних препаратів становить 12 000. Це один із найбільш важливих біохімічних препаратів. Крім своєї антикоагулянтної, антитромботичної, антилімемічної дії, він також проявляє протизапальну та протиалергічну активність [1]. Всілякі хвороби потребують різних оптимальних дозувань, що вимагає клінічного контролю вмісту гепарину та розроблення надійних і простих методів його аналітичного визначення.

Мета роботи полягає в дослідженні взаємодії гепарину із 6,6'-динітро-астрафлосином методом резонансної світлової спектроскопії та розроблення методики його визначення.

Матеріали і методи. У роботі використовували гепарин фармакопейної чистоти. Як реагент використовували катіонний поліметиновий барвник (ПБ) – 6,6'-динітро-астрафлосин (ДНАФ):



Цей реагент має інтенсивне забарвлення і стійкий до протолітичних перетворень у широких межах рН. Вихідний стандартний розчин реагенту (10^{-3} моль/л) готували розчиненням його точної наважки в дистильованій воді. Робочі розчини готували послідовним розведенням вихідного розчину в день експерименту.

Спектри поглинання реєстрували за допомогою спектрофотометра СФ-2000 виробництва «ЛОМО» (Росія) у кварцових кюветах 1×1 см. Резонансні спектри реєстрували за допомогою спектрофлуориметра «Флюорат ПАНОРАМА» виробництва «ЛОМО» (Росія) у кварцових кюветах 1×1 см у режимі синхронного сканування із кроком 5 нм ($\lambda_{зб} = \lambda_{випр}$).

Виклад основного матеріалу й обґрунтування отриманих результатів дослідження. Під час взаємодії гепарину з ДНАФ у спектрах поглинання з'являється «плече» при 540–560 нм. Це свідчить про утворення іонних асоціатів (ІА) у J-агрегатів за рахунок іонно-асоціативного зв'язку за атомом Нітрогену індоленіна ДНАФ та сульфатної групи Геп. Поява «плеча» у спектрі поглинання ІА може бути використана як аналітичний сигнал для визначення гепарину. Однак через значне поглинання самого реагенту при цій же довжині хвилі контрастність реакції залишає бажати кращого.

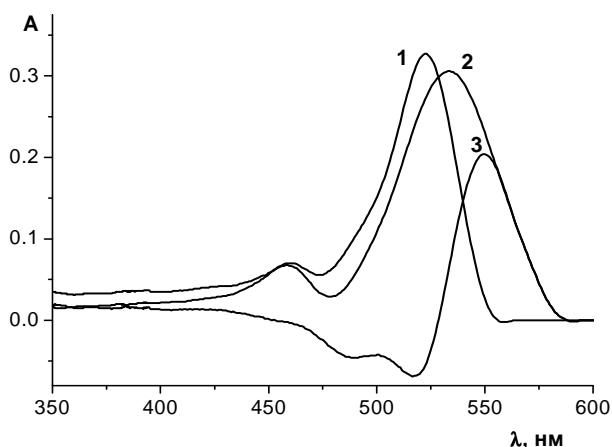


Рис. 1. Спектри поглинання ДНАФ (1), іонного асоціату ДНАФ із гепарином (2) та різницевий спектр (3)

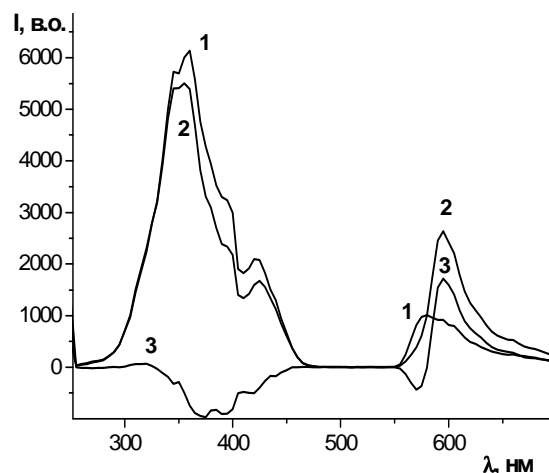


Рис. 2. Резонансний спектр ІА ДНАФ з ХС (1), ДНАФ (2) та різницевий спектр (3)

У резонансних спектрах випромінювання ІА іонного асоціату ДНАФ із Геп у зоні 590–610 нм спостерігається контрастний аналітичний сигнал (рис. 2, спектр 3). Для отримання стабільного в часі аналітичного сигналу оптимізовано умови. Установлено, що надійний аналітичний сигнал утворюється в присутності неіоногенної поверхнево-активної речовини тритон Х-100. Це пов'язано з тим, що під час утворення іонного асоціату отримуємо нанодисперсну систему, здатну до агрегації. Уведенням тритону Х-100 забезпечуємо необхідну агрегативну стійкість системи та відтворюваність аналітичного сигналу. Задовільна солубілізація забезпечується при вмісті $(0,4\text{--}2,5)\cdot 10^{-4}$ % (ваг.) тритону Х-100. Аналітичний сигнал стабільний при концентрації ДНАФ у межах $(0,4\text{--}1,6)\cdot 10^{-4}$ моль/л (рис. 3).

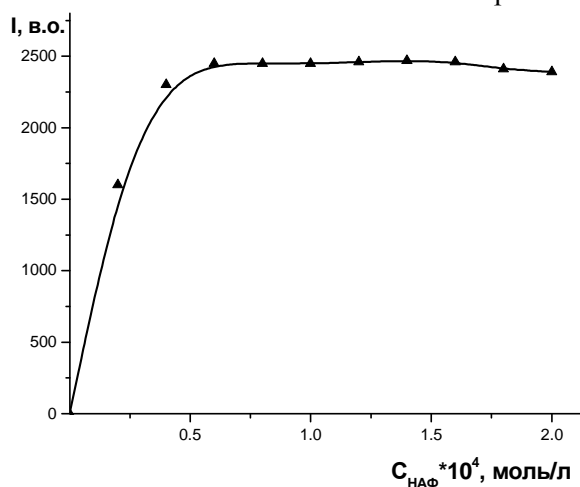


Рис. 3. Залежність інтенсивності аналітичного сигналу від умісту ДНАФ

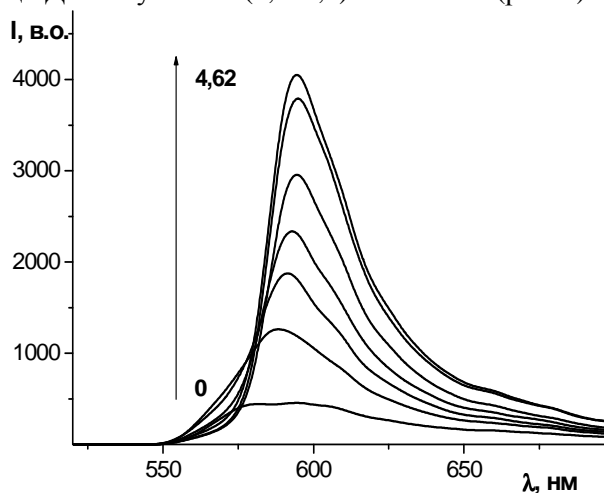


Рис. 4. Залежність інтенсивності аналітичного сигналу від умісту Геп у мкг/мл

Для розроблення методики визначення будь-якої речовини важливим є знання інтервалу лінійності зміни аналітичного сигналу від концентрації визначуваного компонента. Як видно з рисунка 4, у дослідженій системі аналітичний сигнал зростає зі збільшенням Геп у межах до 3,9 мкг/мл (19,5 мкг).

В оптимальних умовах утворення ІА й аналітичного сигналу побудований калібрувальний графік для визначення гепарину. З рисунка 4 видно, що він лінійний 3,9 мкг/мл гепарину й описується рівнянням $I = 528 + 821 \cdot C_{\text{геп}}$.

На основі отриманих результатів розроблено методику визначення гепарину, яка апробована на модельних розчинах. У градувальну пробірку вносять аналіт, що містить до 19,5 мкг гепарину, додають 0,5 мл $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л ДНАФ, 0,5 мл 0,01 % розчину тритону X-100, доводять дистильованою водою до 5 мл і перемішують. Інтенсивність аналітичного сигналу вимірюють за допомогою спектрофлуориметра в режимі синхронного сканування при 595 нм. Уміст гепарину визначають за калібрувальним графіком, побудованим в ідентичних умовах. Результати визначення гепарину в модельних розчинах наведено в таблиці 1.

Таблиця 1

Результати визначення Геп у модельних розчинах методом «уведено–знайдено»

№ проби	Уведено Геп, мкг	Знайдено Геп, мкг	Sr
1	15	15,2 ± 0,4	0,03
2	12	12,1 ± 0,3	0,04
3	10	10,1 ± 0,2	0,05

Як видно з таблиці 1, методика характеризується задовільними метрологічними параметрами, Sr не перевищує 0,05 і може бути використана під час визначення гепарину в лікарських препаратах.

Висновки й перспективи подальших досліджень. Установлено, що гепарин із поліметиновим барвником ДНАФ утворює іонний асоціат. У його резонансних спектрах випромінювання спостерігається аналітичний сигнал при 595 нм. Оптимізовано умови утворення та розроблено методику визначення гепарину.

Джерела та література

1. Лекарственные средства. В 2 т. Т. 1. – 14-е изд., перераб., испр. и доп. – М. : ООО «Изд-во “Новая волна”»; изд. С. Б. Дивов, 2002. – 540 с.
2. Resonance light scattering and derived techniques in analytical chemistry: past, present and future / Wei Lu, Beatriz S. Fema'ndez Band, Yu Yu et all. // Microchim Acta. – 2007. – Vol. 158. – P. 29–58.

Кормош Жолт. Определение гепарина методом резонансной световой спектроскопии. Установлено, что гепарин с полиметиновым красителем ДНАФ образует ионный ассоциат. В его резонансных спектрах излучения наблюдается аналитический сигнал при 595 нм. Оптимизированы условия образования и разработана методика определения гепарина.

Ключевые слова: ионный ассоциат, гепарин, резонансная световая спектроскопия.

Kormosh Zholt. The Heparin Determination by Light Resonance Spectroscopy Methode. Found that heparin of polymethine dyes DNAF forms of ion associates. In his resonant emission spectra observed analytical signal at 595 nm. Optimized conditions for the formation and developed a method of heparine determination.

Key words: ion associate, heparin, resonance light spectroscopy.

Східноєвропейський національний університет
імені Лесі Українки

Стаття надійшла до редколегії
22.02.2013 р.

УДК 543.422:543.361:546.15

Анна Трохименко
Ольга Запорожець
Василь Сухан

Визначення тіоціанату у фізіологічних рідинах і об'єктах довкілля електрохімічними сенсорами

Систематизовано та здійснено критичний огляд відомих аналітичних методик із застосування електрохімічних сенсорів для визначення тіоціанату у фізіологічних рідинах і об'єктах довкілля. Зазначено переваги та