

Н. Ю. БОНДАРЕНКО, М. Є. БЛАЖЕЄВСЬКИЙ

*Національний фармацевтичний університет***КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ІБУПРОФЕНУ МЕТОДОМ ХЕМІЛЮМІНЕСЦЕНЦІЇ**

Мета роботи – опрацювання методики кількісного визначення ібупрофену (*Ibu*) в лікарських препаратах з використанням нової аналітичної системи H_2L (люмінол) – H_2O_2 – *Hb* (гемоглобін), в якій *Ibu* виступає як інгібітор хемілюмінесценції.

Матеріали та методи. Об'єктами досліджень були: субстанція ібупрофену та лікарські форми, які містять ібупрофен: таблетки «Ібупрофен» виробництва ПрАТ «Технолог» (м. Умань, Україна) і таблетки «Нурофен», вкриті оболонкою, виробництва Reckitt Benckiser Healthcare International Limited, Thane Road, Nottingham, Nottinghamshire, United Kingdom. Інтенсивність хемілюмінесценції вимірювали на «Хемілюмінометрі – ХЛ 01» з фотоелектронним помножувачем ФЭУ-84-А, вимірювачем малих струмів ИМТ-0,5 і швидкодіючим потенціометром-самописцем.

Результати. Опрацьована методика та показана можливість кількісного визначення ібупрофену у таблетках методом інгібування хемілюмінесценції системи H_2L – H_2O_2 – *Hb*. Відносне стандартне відхилення середнього становило $\pm 1,56\%$ ($\delta = -0,75\%$) та $\pm 1,68\%$ ($\delta = -0,35\%$) для таблеток «Ібупрофен» та «Нурофен» відповідно. LOQ становить $3 \cdot 10^{-5}$ моль/л.

Висновки. Запропонована методика є перспективною для подальших досліджень на предмет застосування для визначення малих кількостей ібупрофену в промивних водах під час здійснення контролю відмивки обладнання.

Ключові слова: ібупрофен; люмінол; інгібітор; метод хемілюмінесценції

N. YU. BONDARENKO, M. YE. BLAZHEYEVSIIY

QUANTITATIVE DETERMINATION OF IBUPROFEN BY CHEMILUMINESCENT METHOD

Aim. The development of quantitative determination of *Ibu* using a new analytical system H_2L (luminol) – H_2O_2 – *Hb* (hemoglobin), where *Ibu* is chemiluminescence inhibitor.

Materials and Methods. The objects of research were: the substance of Ibuprofen and drugs containing Ibuprofen: the tablets of “Ibuprofen” produced by PC “Technolog” (Uman, Ukraine) and the tablets “Nurofen” was covered the shell produced by Reckitt Benckiser Healthcare International Limited, Thane Road, Nottingham, Nottinghamshire, United Kingdom. The intensity of chemiluminescence was measured on the device with “Chemiluminometer – CL 01” photoelectric multiplier FEU-84-A, using measurement of low currents IMT-0.5 and quick-acting automatic potentiometer.

Results. The method of Ibuprofen was studied and showed the quantitative determination in tablets based on reaction of inhibition of chemiluminescence system H_2L – H_2O_2 – *Hb*. RSD $\pm 1.56\%$ ($\delta = -0.75\%$) and $\pm 1.68\%$ ($\delta = -0.35\%$) for the tablets of “Ibuprofen” and the tablets of “Nurofen” tablets respectively, LOQ is $3 \cdot 10^{-5}$ mol·L⁻¹.

Conclusions. The proposed method is promising for further research for their application, for the determination of small amounts of Ibuprofen in the wash water, when washing control equipment held on pharmaceutical companies.

Key words: Ibuprofen; luminol; inhibitor; chemiluminescence method

Н. Ю. БОНДАРЕНКО, Н. Е. БЛАЖЕЕВСКИЙ

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИБУПРОФЕНА МЕТОДОМ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ

Цель работы – разработка методики количественного определения ибупрофена в лекарственных препаратах с использованием новой аналитической системы H_2L (люминол) – H_2O_2 – *Hb* (гемоглобин), в которой ибупрофен выступает как ингибитор хемілюмінесценції.

Материалы и методы. Объектами исследований были: субстанция ибупрофена и лекарственные формы, его содержащие: таблетки «Ибупрофен» производства ЧАО «Технолог» (г. Умань, Украина) и таблетки «Нурофен», покрытые оболочкой, производства Reckitt Benckiser Healthcare International Limited, Thane Road, Nottingham, Nottinghamshire, United Kingdom. Интенсивность хемілюмінесценції измеряли на «Хемілюмінометре – ХЛ 01» с фотоэлектронным умно-

жителем ФЭУ-84-А, измерителем малых токов ИМТ-0,5 и быстродействующим потенциометром-самописцем.

Результаты. Разработана методика и показана возможность количественного определения ибупрофена в таблетках методом ингибирования хемилюминесценции системы $H_2L - H_2O_2 - Hb$. Относительное стандартное отклонение составило $\pm 1,56\%$ ($\delta = -0,75\%$) и $\pm 1,68\%$ ($\delta = -0,35\%$) для таблеток «Ибупрофен» и «Нурофен» соответственно. LOQ составляет $3 \cdot 10^{-5}$ моль/л.

Выводы. Предложенная методика является перспективной для дальнейших исследований на предмет ее применения для определения малых количеств ибупрофена в промывных водах при контроле отмывки оборудования на фармацевтических предприятиях.

Ключевые слова: ибупрофен; люминол; ингибитор; метод хемилюминесценции

ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ

Ибупрофен (*Ibu*) – нестероидный протизапальный препарат, чинить анальгезуючу, протизапальну та помірно жарознижуючу дію, обумовлену пригніченням біосинтезу простагландинів шляхом інгібування ферменту циклооксигенази. Його випускають у вигляді таблеток різного дозування, вкритих оболонкою, капсул, гранул, сиропів, супозиторіїв тощо і використовують як симптоматичний засіб при лікуванні дітей та дорослих.

АНАЛІЗ ОСТАННІХ ДОСЛІДЖЕНЬ І ПУБЛІКАЦІЙ

Ibu за хімічною будовою є (\pm) -2-(*p*-ізобутилфеніл)пропіоновою кислотою.

У науковій літературі описані різноманітні методики кількісного визначення *Ibu* методами спектрофотометрії [5], ВЕРХ [8], а також хемилюминесценції (ХЛ): в системі *Ibu* – H_2O_2 – Fe (II)/(III) – Eu(III) [4], за активуванням ХЛ системи $KMnO_4 - Na_2SO_3$ [6] або інгібуванням ХЛ у міцелярних середовищах у присутності іонів Tb^{3+} [7].

Раніше нами у низці праць були показані переваги застосування методу ХЛ для кількісного визначення різноманітних лікарських та біологічно активних речовин за ефектом інгібування ХЛ системи H_2L (люмінол) – H_2O_2 – *Hb* (гемоглобін) [1, 2].

Актуальною вбачається розробка нової методики кількісного визначення *Ibu* з використанням цього високочутливого методу ХЛ.

ВИДІЛЕННЯ НЕ ВИРІШЕНИХ РАНІШЕ ЧАСТИН ЗАГАЛЬНОЇ ПРОБЛЕМИ

Більшість методик, що використовуються для кількісного визначення *Ibu* в субстанції та лікарських формах, потребує використання спеціального висококоштовного обладнання, здійснення попередньої відносно складної пробопідготовки та передбачає використання органічних розчинників у методах ВЕРХ, ГХ та РХ тощо.

ФОРМУЛЮВАННЯ ЦІЛЕЙ СТАТТІ

Метою роботи було опрацювання методики кількісного визначення *Ibu* в лікарських препаратах з використанням нової аналітичної сис-

теми, а саме H_2L (люмінол) – H_2O_2 – *Hb* (гемоглобін), в якій *Ibu* виступає як інгібітор хемилюминесценції.

ВИКЛАДЕННЯ ОСНОВНОГО МАТЕРІАЛУ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єктами досліджень були: субстанція ібупрофену ((\pm) -2-(*p*-ізобутилфеніл)пропіонова кислота) виробництва Hubei Biocause Pharmaceutical Co., Ltd, серія C100-0704007M (вміст основної речовини становив 100,0 %) та лікарські форми, які містять ібупрофен: таблетки «Ибупрофен» виробництва ПрАТ «Технолог» (м. Умань, Україна), 200 мг діючої речовини, серія 20300 та таблетки «Нурофен», вкриті оболонкою, виробництва Reckitt Benckiser Healthcare International Limited, Thane Road, Nottingham, Nottinghamshire, серія NG 902DB, United Kingdom.

Розчини готували об'ємно-ваговим методом при 293 К. Для приготування розчинів в усіх випадках використовували двічі дистильовану воду (ДДВ).

Приготування вихідного розчину $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л люмінолу (5-аміно-2,3-дигідро-1,4-фгалазидіон, H_2L , НВФ «Сімбіас», Україна). Наважку 0,217 г гідразиду 3-амінофталевої кислоти кваліфікації «ЧДА» розчиняли у 10 мл $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л розчину натрію гідроксиду в мірній колбі на 100 мл і доводили до позначки ДДВ. Розчин зберігали у темному місці.

Для підтримки необхідної кислотності середовища використовували 1,0 моль/л розчину натрію гідроксиду, рН розчинів контролювали за допомогою скляного індикаторного електроду ЭСЛ-43-07 в парі з насиченим хлоридсрібним електродом та іонміру лабораторного И-130 (ЗИП, Гомель, Беларусь).

Вихідний розчин гідрогену пероксиду (H_2O_2) 5,8% (мас.) готували з 58 % препарату о.с.ч. (виробництва ТОВ «Інтер-Синтез», м. Борислав, Україна) розбавленням його у 100 разів ДДВ: 10,00 мл переносили у мірну колбу на 100 мл і доводили об'єм розчину до позначки при 293 К. Готовий розчин зберігали при пониженій температурі (281–283 К).

Вміст гідрогену пероксиду в розчині контролювали перманганатометрично [3]. Робочий

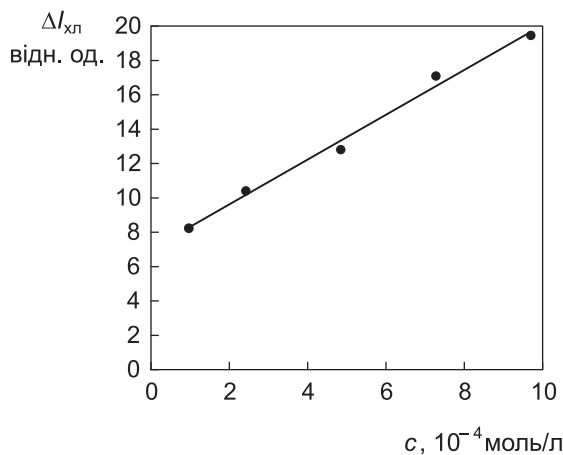


Рис. Градувальний графік кількісного визначення **Ibu** за ефектом інгібування ХЛ в системі $H_2L - H_2O_2 - \text{Ibu} - Hb$

розчин H_2O_2 0,058 % (мас.) ($1,7 \cdot 10^{-2}$ М) отримували відповідним розбавленням вихідного розчину точно у 100 разів. Робочий розчин придатний до вживання протягом доби.

Як каталізатор використовували гемоглобін крові людини (**Hb**) виробництва фірми «Simko Ltd», м. Львів, Україна. Вихідний розчин гемоглобіну 100 мкг/мл готували розчиненням у мірній колбі на 100 мл 10 мг гемоглобіну в 50 мл ДДВ при додаванні 1 мл 1,0 М розчину натрію гідроксиду. Об'єм доводили до позначки ДДВ при 293 К і перемішували. Робочий розчин гемоглобіну готували розбавленням вихідного ДДВ точно у 100 разів. Робочий розчин придатний до застосування протягом доби.

Інтенсивність хемілюмінесценції вимірювали на «Хемілюмінометрі – ХЛ 01» з фотоелектронним помножувачем ФЭУ-84-А, вимірювачем малих струмів ИМТ-0,5 і швидкодіючим (постійна часу – 0,1 с) потенціометром-самописцем. Реакцію, що супроводжується хемілюмінесценцією, проводили у кварцовій кюветі циліндричної форми діаметром 30 мм з робочим об'ємом 10 мл. При проведенні дослідів зберігали такий порядок змішування реагентів: до суміші індикатора H_2L в розчині луку та H_2O_2 (з розчином **Ibu** або без нього у контрольному досліді) додавали за допомогою дозувача П-1 0,50 мл розчину **Hb** і реєстрували кінетичну криву інтенсивності ХЛ у відносних одиницях (відн. од.) ($I_{\text{хл}}$) – час (с). Дозатор влаштований у зйомний тримач, який ізолює фотокатод фотоелектронного помножувача від стороннього світла, а відтак дозволяє працювати при звичайному освітленні. Усі досліді виконували при температурі 293 К. Для характеристики інгібіторної дії **Ibu** на максимальну інтенсивність світіння розраховували величину $\Delta I_{\text{хл}} = I_0 - I_{\text{хл}}$, де I_0 – максимальна інтенсивність ХЛ в системі $H_2L -$

$H_2O_2 - Hb$ (за відсутності **Ibu**, контрольний дослід), $I_{\text{хл}}$ – максимальна інтенсивність ХЛ у тій же системі з додаванням інгібітора: $H_2L - H_2O_2 - \text{Ibu} - Hb$ (робочий дослід).

У ході досліджень встановлено, що в оптимальних умовах **Ibu** виявляє помітний інгібіторний ефект на виникнення ХЛ в системі $H_2L - H_2O_2 - Hb$. Це явище було використано нами для розробки нової методики кількісного визначення **Ibu** у розчинах субстанції та лікарських препаратів.

Приготування розчину робочого стандартного зразка (РСЗ) **Ibu** 2 мг/мл: в мірній колбі на 100 мл розчиняли 0,2000 г субстанції **Ibu** (100,0 %) у 10 мл 1 М розчину натрію гідроксиду і доводили об'єм до позначки ДДВ.

Методика визначення

У кварцову кювету хемілюмінометра послідовно вносили розчини у такому порядку: 1,00 мл $1 \cdot 10^{-3}$ М H_2L , 0,50 мл 1 М розчину натрію гідроксиду, $(10 - x)$ мл ДДВ (де x – сумарний об'єм усіх реагентів і розчину проби, мл), 0,50 мл $1,7 \cdot 10^{-2}$ М H_2O_2 і 0,50 мл РСЗ **Ibu**. Кювету з отриманою сумішшю встановлювали у світлонепроникну камеру хемілюмінометра і приливали за допомогою дозувача 0,50 мл робочого розчину **Hb** з концентрацією 1 мкг/мл. Аналогічно виконували контрольний дослід з використанням замість розчину РСЗ ібупрофену такого ж об'єму ДДВ.

Градувальний графік ХЛ визначення **Ibu** представлений на рисунку.

Лінійна залежність $\Delta I_{\text{хл}}$ (відн. од.) від концентрації **Ibu** (моль/л) зберігалась в інтервалі концентрацій $(1 - 10) \cdot 10^{-4}$ моль/л. Рівняння градуального графіка має вигляд $\Delta I_{\text{хл}} = 1,30 \cdot 10^4 c + 7,01$ ($r = 0,996$).

Кількісне визначення **Ibu** в препаратах виконували методом порівняння зі стандартом, використовуючи лінійні ділянки згаданої вище концентраційної залежності $\Delta I_{\text{хл}}$.

Методика кількісного визначення **Ibu** в таблетках «Ібупрофен» по 200 мг. Біла 290 мг розтертих таблеток (точна наважка) розчиняли у мірній колбі на 100 мл у 10 мл 1 М розчину натрію гідроксиду і доводили об'єм до позначки ДДВ. Аналогічно готували об'ємно-ваговим методом розчин РСЗ **Ibu** з концентрацією 2 мг/мл.

У кварцову кювету послідовно приливали 1,00 мл $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л розчину H_2L , 0,50 мл 1,0 М розчину натрію гідроксиду, $(10 - x)$ мл ДДВ (де x – сумарний об'єм усіх реагентів і проби, мл), 0,50 мл $1,7 \cdot 10^{-2}$ М H_2O_2 і 0,50 мл досліджуваного розчину **Ibu**. Одержану суміш перемішували і встановлювали кювету у світлозахисну камеру хемілюмінометра. Відкривали шторку і вливали за допомогою дозувача 0,50 мл розчину **Hb** з концентрацією 1,0 мкг/мл. Аналогічного по-

Таблиця

**РЕЗУЛЬТАТИ КІЛЬКІСНОГО
ВИЗНАЧЕННЯ ІБУПРОФЕНУ В ТАБЛЕТКАХ
($n = 5, P = 0,95$)**

Лікарська форма, склад	Знайдено ібупрофену, г	Метрологічні характеристики
«Ібупрофен» (Україна) ібупрофену 0,200 г *($a = 0,201$ г)	0,1963 0,2012 0,1975 0,2040 0,1983	$\bar{X} = 0,1995$ $S = \pm 3,11 \cdot 10^{-3}$ $S_{\bar{X}} = \pm 1,39 \cdot 10^{-3}$ $\Delta \bar{X} = \pm 3,87 \cdot 10^{-3}$ $RSD = \pm 1,56 \%$ $**\delta = -0,75 \%$
«Нурофен» ібупрофену 0,200 г *($a = 0,200$ г)	0,1994 0,1983 0,1977 0,1963 0,2050	$\bar{X} = 0,1993$ $S = \pm 3,36 \cdot 10^{-3}$ $S_{\bar{X}} = \pm 1,50 \cdot 10^{-3}$ $\Delta \bar{X} = \pm 4,16 \cdot 10^{-3}$ $RSD = \pm 1,68 \%$ $**\delta = -0,35 \%$

Примітки: * a – вміст **Ibu**, вказаний у сертифікаті, г;
** $\delta = (-a)100/a$.

рядку додавання розчинів дотримувались при виконанні дослідів з розчином РСЗ **Ibu**. Також виконували контрольний дослід з використанням замість розчину РСЗ ібупрофену такий же об'єм ДДВ.

Вміст ібупрофену (г) до однієї таблетки (X) розраховували за формулою:

$$X = \frac{m_{cm} \cdot \Delta I_{xl} \cdot 100 \cdot \bar{m}}{\Delta I_{cm} \cdot m_n \cdot 100},$$

де: m_{cm} – маса ібупрофену у розчині РСЗ, г;
 ΔI_{xl} – максимальне значення ΔI_{xl} у робочому досліді, відн. од.;

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

- Бондаренко, Н. Ю. Визначення кофеїну у каві методом хемілюмінесценції / Н. Ю. Бондаренко, М. Є. Блажеєвський // Укр. біофармац. журн. – 2016. – № 3. – С. 14–17.
- Блажеєвський, М. Є. Кількісне визначення амлодипіну бесилату методом інгібування хемілюмінесценції / М. Є. Блажеєвський, Н. Ю. Бондаренко, М. М. Івашура // Укр. мед. альманах. – 2012. – № 6. – С. 24–26.
- Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – Х.: РІРЕГ, 2001. – 556 с.
- Kaczmarek, M. Chemiluminescence determination of ibuprofen and ketoprofen using the Fenton system in the presence of europium (III) ions / M. Kaczmarek, S. Lis // Anal. Methods. – 2012. – № 4. – P. 1964. doi: 10.1039/c2ay25230a
- Simultaneous spectrophotometric determination of paracetamol, ibuprofen and caffeine in pharmaceuticals by chemometric methods / M. R. Khoshayand, H. Abdollahi, M. Shariatpanahi et al. // Spectrochimica Acta. – 2008. – № 3. – P. 491–499. doi: 10.1016/j.saa.2007.07.033
- Li, Y. Direct chemiluminescence determination of ibuprofen by the enhancement of the $KMnO_4$ -sulphite reaction / Y. Li, J. Lu // Luminescence. – 2007. – № 4. – P. 326–330. doi: 10.1002/bio.966
- Selivanova, N. Luminescent complexes of terbium ion for molecular recognition of ibuprofen / N. Selivanova, K. Vasilieva, Yu. Galyametdinov // Luminescence. – 2013. – № 3. – P. 202–210. doi: 10.1002/bio.2526
- Simultaneous determination of hyoscine, ketoprofen and ibuprofen in pharmaceutical formulations by HPLC-DAD / R. A. Shaalan, R. S. Haggag, S. F. Belal, M. Agami // J. of Applied Pharmaceutical Sci. – 2013. – № 7. – P. 38–47.

ΔI_{cm} – максимальне значення ΔI_{cm} у розчині РСЗ, відн. од.;
100 – об'єм мірної колби, використаної для аналізу, мл;
 \bar{m} – середня маса таблетки ($n = 20$), г;
 m_n – маса наважки розтертих таблеток однієї серії, взята для аналізу, г.

Методика кількісного визначення **Ibu** в таблетках «Нурофен» по 200 мг. Біля 400 мг розтертих таблеток (точна наважка) розчиняли у мірній колбі на 100 мл у 10 мл 1 М розчину натрію гідроксиду і доводили об'єм до позначки ДДВ при 293 К. Аналогічно готували об'ємно-ваговим методом розчин РСЗ **Ibu** з концентрацією 2 мг/мл. Далі виконували аналіз як при визначенні вмісту **Ibu** в таблетках «Ібупрофен» по 200 мг, а вміст **Ibu** в г на таблетку (X) розраховували за аналогічною формулою. Результати кількісного визначення **Ibu** в таблетках наведені в таблиці.

ВИСНОВКИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Опрацьована методика та показана можливість кількісного визначення ібупрофену у таблетках методом інгібування хемілюмінесценції системи $H_2L - H_2O_2 - Hb$. $RSD = \pm 1,56 \%$ ($\delta = -0,75 \%$) та $RSD = \pm 1,68 \%$ ($\delta = -0,35 \%$) для таблеток «Ібупрофен» та «Нурофен» відповідно, $LOQ 3 \cdot 10^{-5}$ М моль/л. Враховуючи достатньо високу чутливість, запропонована методика є перспективною для подальших досліджень на предмет її використання для визначення малих кількостей ібупрофену в промивних водах під час здійснення контролю відмивки обладнання на фармацевтичних підприємствах.

Конфлікт інтересів: відсутній.

REFERENCES

1. Bondarenko, N. Yu., Blazheievskii, M. Ye. (2016). *Ukrainskyi biofarmatsevtichnyi zhurnal – Ukrainian biopharmaceutical journal*, 44, (3), 14–17.
2. Blazheievskii, M. Ye., Bondarenko, N. Yu., Ivashura, M. M. (2012). *Ukrainskyi medychnyi almanakh – Ukrainian medical almanac*, 15, (6), 24–26.
3. *State Pharmacopeia of Ukraine*. (2001). Kharkiv, 556.
4. Kaczmarek, M., Lis, S. (2012). Chemiluminescence determination of ibuprofen and ketoprofen using the Fenton system in the presence of europium(III) ions. *Analytical Methods*, 4, 1964. doi: 10.1039/c2ay25230a
5. Khoshayand, M. R., Abdollahi, H., Shariatpanahi, M. (2008). Simultaneous spectrophotometric determination of paracetamol, ibuprofen and caffeine in pharmaceuticals by chemometric methods. *Spectrochimica Acta*, 70, (3), 491–499. doi: 10.1016/j.saa.2007.07.033
6. Li, Y., Lu, J. (2007). Direct chemiluminescence determination of ibuprofen by the enhancement of the KMnO_4 -sulphite reaction. *Luminescence*, 22, (4), 326–330. doi: 10.1002/bio.966
7. Selivanova, N., Vasilieva, K., Galyametdinov, Yu. (2014). Luminescent complexes of terbium ion for molecular recognition of ibuprofen. *Luminescence*, 29, (3), 202–210. doi: 10.1002/bio.2526
8. Shaalan, R. A., Haggag, R. S., Belal, S. F. (2013). Simultaneous determination of hyoscine, ketoprofen and ibuprofen in pharmaceutical formulations by HPLC–DAD. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3, (7), 38–47.

Адреса для листування:

61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4.

Тел. (0572) 67-91-70. E-mail: tropikana2003@ukr.net.

Національний фармацевтичний університет

Бондаренко Н. Ю. (ORCID iD 0000-0001-6610-7722)

Блажеевский М. Е. (ORCID iD 0000-0001-9953-814X)

Надійшла до редакції 02.11.2016 р.