



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **14100** (13) **U**  
(51) МПК (2006)  
**G01N 33/15**

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС

### ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

#### (54) СПОСІБ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ДИКЛОФЕНАКУ

1

2

(21) а200507402

(22) 25.07.2005

(24) 15.05.2006

(46) 15.05.2006, Бюл. № 5, 2006 р.

(72) Теслюк Ольга Іванівна, Бельтюкова Світлана  
Вадимівна, Єгорова Алла Володимирівна

(73) ФІЗИКО-ХІМІЧНИЙ ІНСТИТУТ ІМ. О.В. БО-  
ГАТСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК  
УКРАЇНИ, ОДЕСЬКА НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ  
ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

(57) Спосіб кількісного визначення диклофенаку, що включає приготування проби, взаємодію її з хімічними реагентами у розчині, вимірювання інтенсивності флуоресценції розчину, який **відрізняється** тим, що пробу піддають взаємодії з стандартним розчином хлориду тербію при рН 7,0-7,2 у присутності 2,2'-дипіридилу і неіоногенної поверхнево-активної речовини - Брідж-35 та вимірюють інтенсивність флуоресценції тербію (III), за величиною якої визначають концентрацію диклофенаку.

Корисна модель відноситься до аналізу матеріалів, а саме до флуоресцентного визначення лікарського препарату - диклофенаку [див. Машковский М.Д. Лекарственные средства, Харьков, Торсинг, 1998, т.2, с.251].

Відомий спосіб визначення диклофенаку у дозованих лікарських формах за допомогою екстракційно-спектрофотометричного методу [див. T.Perez-Ruiz, C.Martinez-Lozano, A.Sanz, T.San Miguel-J. Pharm. Biomed. Anal. -1997, v.16, p.249-254.]. Спосіб передбачає отримання забарвленої комплексної сполуки диклофенаку з акрідіновим жовтим у присутності фосфатного буферного розчину. Визначення проводять таким чином: близько 100мг диклофенаку розчиняють у 200мл дистильованої води при температурі 50°C. Розчин охолоджують, фільтрують і доводять об'єм дистильованою водою до 1000мл. До аліквоти розчину диклофенаку додають водний розчин акрідінового жовтого ( $8 \times 10^{-4}M$ ) та фосфатний буфер (0,2M). Отриманий іонний асоціат екстрагують хлороформом при рН 7,0 та вимірюють поглинання при  $\lambda=438nm$ . Чутливість способу визначення - 0,412мкг/мл.

Найбільш близьким до способу, що заявляється, є спектрофотометричне визначення диклофенаку у вигляді комплексної сполуки з Fe(III) у присутності амонію тіоціанату і ацетатного буферу. [див. Agatonovc-Kustrin S., Zivanovic Lj., Zecevic M., Radulovic D.-J. Pharm. Biomed. Anal. - 1997, v.16, p.147-153.]. Спосіб передбачає спочатку хімічну обробку диклофенаку для переведення його у за-

барвлену комплексну сполуку. Визначення здійснюють слідуючим чином. До 2мл диклофенаку (2,5мг/мл) додають 2мл розчину феруму хлориду (81мг/мл), 2мл амонію тіоціанату (183мг/мл), 1мл 2M розчину хлориду калію, 3мл ацетатного буферного розчину та 5мл хлороформу. Суміш струшують протягом 10хв. Відділяють хлороформний екстракт, забарвлений у оранжевий колір та вимірюють його поглинання при 481nm. Лінійність калібрувального графіку спостерігається в інтервалі 0,5-5,0мкг/мл. Чутливість способу визначення - 0,147мкг/мл.

Дане рішення обрано прототипом.

Прототип збігається із винаходом, що заявляється у тому, що містить такі операції:

- приготування проби,
- взаємодія проби з хімічними реагентами у розчині,
- вимірювання інтенсивності аналітичного сигналу,

Але спосіб за прототипом забезпечує чутливість визначення препарату - 0,147мкг/мл.

В основу корисної моделі поставлено задачу створити спосіб кількісного визначення диклофенаку, в якому за рахунок заміни реагентів забезпечується підвищення чутливості визначення, а також виключається використання токсичного органічного розчинника.

Поставлену задачу вирішено у способі кількісного визначення диклофенаку, який включає приготування проби, взаємодію її з хімічними реагентами у розчині, вимірювання інтенсивності

(13) **U**  
(11) **14100**  
(19) **UA**

флуоресценції розчину тим, що пробу піддають взаємодії з стандартним розчином хлориду тербію при рН 7,0-7,2 у присутності 2,2'-дипіриділу (Дип) і полімерної неіоногенної поверхнево-активної речовини (ПАР) - Брідж-35 з подальшим вимірюванням інтенсивності флуоресценції тербію (III) по величині якої визначають концентрацію диклофенаку.

Новим у винаході, що заявляється, є використання сенсibilізованої флуоресценції іону тербію, посиленої до 250 разів у присутності органічної основи 2,2'-дипіриділу та неіоногенної ПАР Брідж-35.

Причинно-наслідковий зв'язок між сукупністю ознак, що заявляється і досягнутим результатом можна пояснити наступним. Підвищення чутливості стало можливим завдяки утворенню різнолігандної комплексної сполуки іона тербію (III) та внутрішньомолекулярної передачі енергії збудження від диклофенаку та Дип на іон лантаніду.

Диклофенак має в ультрафіолетовій зоні спектру смугу поглинання  $\lambda_{\max}=276,6\text{нм}$ . Молярний коефіцієнт поглинання  $\varepsilon=15000$  обумовлює ефективне поглинання світлової енергії лігандом. Триплетний рівень диклофенаку складає  $21280\text{см}^{-1}$ , що значно більше енергії резонансного рівня іона тербію (III) ( $20500\text{см}^{-1}$ ). Величина енергії триплетного рівня Дип становить  $20650\text{см}^{-1}$ . Можна припустити, що у даному випадку виникає передача енергії збудження з триплетного рівня диклофенаку на триплетний рівень Дип, а потім на енергетичний рівень тербію  $^5\text{D}_4$  ( $20500\text{см}^{-1}$ ). Це значно скорочує ступінь безвипромінювальних втрат енергії збудження і сприяє підвищенню інтенсивності флуоресценції, що надає можливість знизити межу визначення зрівняно з прототипом.

Використання неіоногенної ПАР Брідж-35 дозволяє підвищити інтенсивність аналітичного сигналу на 30% внаслідок стабілізації комплексу на міцелах ПАР та зменшенню безвипромінювальних втрат енергії збудження.

Взаємодія диклофенаку з тербієм відбувається при рН 3,0-8,5, максимум флуоресценції комплексу спостерігається при рН 7,0-7,2 (Фіг.1). В способі, що пропонується, для створення рН розчину (7,0-7,2) використовується уротропін (0,1мл 40%-го водного розчину).

Інтенсивність флуоресценції тербію у розчині оптимальна при вмісті Дип - 5-10мол/л (Фіг.2).

Оптимальна концентрація Брідж-35 становить  $1\cdot 10^{-3}$ моль/л (Фіг.3). Кількісне визначення вмісту диклофенаку проводили за калібрувальним графіком. Інтенсивність люмінесценції іонів тербію в широких межах концентрацій препарату прямо пропорційна їх вмісту у розчині.

Побудова калібрувального графіка

У мірні пробірки об'ємом 10мл містили 0,05; 0,1; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0 мл стандартного розчину диклофенаку (100мкг/мл). У кожену пробірку додавали по 1мл розчину хлориду тербію (0,01М), 0,5мл етанольного розчину 2,2'-дипіриділу (0,01М), 1мл водного розчину Брідж-35 і 0,1мл 40%-го водного розчину уротропіну. Об'єм розчину в кожній пробірці доводять бідистильованою водою до мітки та перемішують. Інтенсивність люмі-

несценції цих розчинів вимірюють при  $\lambda_{\max}=545\text{нм}$ . За отриманими даними будують калібрувальний графік, відкладаючи на осі абсцис концентрацію Диклофенаку, а на осі ординат - значення інтенсивності люмінесценції. Прямолінійна залежність спостерігається в інтервалі концентрацій 0,2-40мкг/мл ( $R=0,9978$ ) (Фіг.4). Приклад.

Двадцять таблеток препарату диклофенак, розтирали у ступці до стану порошку. Кількість порошку, еквівалентну середній масі таблетки кількісно переносили у мірну колбу на 100мл, розчиняли у 50мл бідистильованої води, доводили розчин до мітки та фільтрували. Отриманий фільтрат розводили бідистильованою водою до кінцевої концентрації 100мкг/мл (розчин А).

У пробірку містили 2,0мл розчину А і додавали всі реагенти, як при побудові калібрувального графіка. Проби перемішували та вимірювали інтенсивність люмінесценції тербію при  $\lambda=545\text{нм}$ .

Кількість диклофенаку в одиниці дозованої лікарської форми розраховували за формулою:

$$X = \frac{C_x \times b \times 100 \times r}{10^6 \times a}, \text{ де}$$

$C_x$  - концентрація диклофенаку, знайдена за калібрувальним графіком, мкг/мл.

$b$  - середня маса таблетки, г;

$10^6$  - перерахунок у грами;

100, г - розведення;

$a$  - наважка препарату, г;

Кількісне визначення основної речовини в дозованих лікарських формах виконували виходячи з розрахунку на середню масу таблетки. Середню масу таблеток визначали як зазначено в статті «Однорідність маси для одиниці лікарського засобу» [Державна фармакопея України, 1 вид., Харків, "PIPER" 2001, ст.2.9.5]. Результати досліджень показані в таблиці 1.

Результати визначення диклофенаку наведені у таблиці 2. Аналіз таблетованих лікарських форм, які наведені у таблиці 2, проводили за аналогією. Чутливість способу, яка визначена за допомогою стандартних розчинів диклофенаку, складає 0,05мкг/мл.

Точність і достовірність визначення диклофенаку у розчині перевірена шляхом статистичної обробки результатів визначення. При  $n=5$ ,  $P=0,95$  величина відносної похибки визначення становить 3%.

Таким чином, спосіб дозволяє підвищити чутливість визначення диклофенаку у 3 рази, а також уникнути використання токсичних органічних розчинників.

Таблиця 1

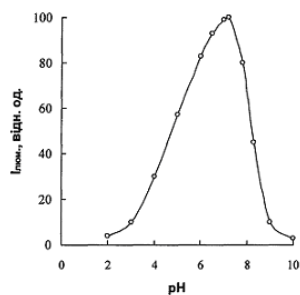
Результати визначення однорідності маси для одиниці лікарського засобу

Препарат	Маса основної діючої речовини, г	Середня маса таблетки, г
Диклофенак	0,050	0,500±0,0250
Ортофен-3Т	0,025	0,100±0,0750
Діклоберл	0,100	0,215±0,0161
Наклофен	0,100	0,260±0,0130
Доларен	0,050	0,635±0,0317

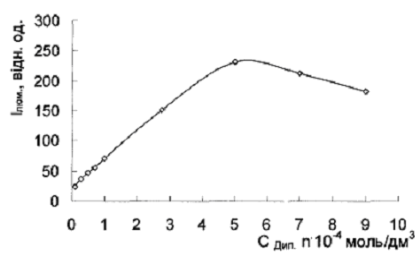
Таблиця 2

Результати визначення Диклофенаку  
в таблетованих лікарських формах (P = 0,95; n = 5)

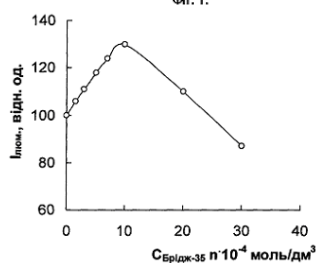
Регламентований вміст диклофенаку, г	Знайдено		Метрологічні характеристики
	г	%	
«Диклофенак» по 0,05 г (Україна, ВАТ "ХФЗ "Червона зірка", м. Харків)			
0,05	0,0505	101,0	$\bar{X}=0,0502(100,4 \%)$ $S= \pm 0,000543$ $\Delta X= \pm 0,0015099$ $\varepsilon= \pm 3,01\%$
	0,0500	100,0	
	0,0510	102,0	
	0,0497	99,4	
	0,0498	99,6	
«Наклофен таблетки ретард» по 0,1г (KRKA, Novo mesto, Slovenia)			
0,1	0,1000	100,0	$\bar{X}=0,1013 (101,3\%)$ $S= \pm 0,00113$ $\Delta X= \pm 0,00314$ $\varepsilon= \pm 3,10\%$
	0,1020	102,0	
	0,1000	100,0	
	0,1030	103,0	
	0,1015	101,5	
«Диклоберл ретард» по 0,1г ( Berlin-Chemie AG)			
0,1	0,1010	101,0	$\bar{X}=0,0998 (99,8 \%)$ $S= \pm 0,001036$ $\Delta X= \pm 0,00288$ $\varepsilon= \pm 2,89\%$
	0,1000	100,0	
	0,0985	98,5	
	0,0990	99,0	
	0,1005	100,5	
«Ортофен-ЗТ» по 0,025г (Україна, ТОВ "Фармацевтична компанія "ЗДОРОВ'Я", Харків)			
0,025	0,0260	104,0	$\bar{X}=0,0252 (100,8 \%)$ $S= \pm 0,00045$ $\Delta X= \pm 0,00125$ $\varepsilon= \pm 4,96\%$
	0,0255	102,0	
	0,0250	100,0	
	0,0248	99,2	
	0,0247	99,0	
«Долорен» Диклофенак-Натрія 0,05; Парацетамол 0,5 (Індія, "НабросФарма" Национал Хайвей, Кеда)			
0,05	0,0497	99,4	$\bar{X}=0,04974 (99,5\%)$ $S= \pm 0,000559$ $\Delta X= \pm 0,00155$ $\varepsilon= \pm 3,13\%$
	0,0500	100,0	
	0,0505	101,0	
	0,0490	98,0	
	0,0495	99,0	



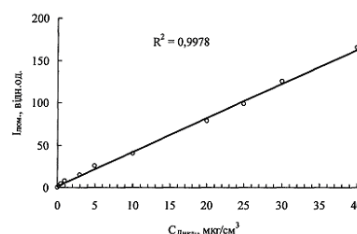
Фіг. 1.



Фіг. 2.



Фіг. 3.



Фіг. 4.

Комп'ютерна верстка Н. Лисенко

Підписне

Тираж 26 прим.

Міністерство освіти і науки України

Державний департамент інтелектуальної власності, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

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