

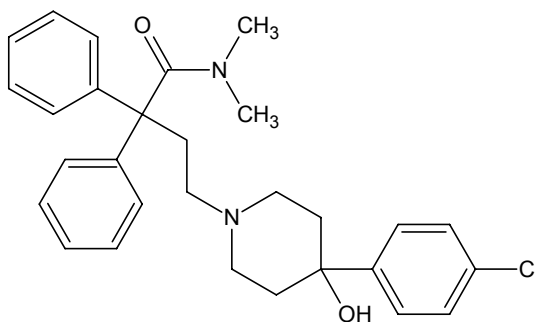
УДК 543.257.2

Р.И. АСТАПОВИЧ, Д.Л. ВЫСОЦКИЙ, В.А. НАЗАРОВ, В.В. ЕГОРОВ

**ЛОПЕРАМИД-СЕЛЕКТИВНЫЙ ЭЛЕКТРОД И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ В АНАЛИЗЕ**

The influence of plasticizer and ion exchanger nature on the principal analytical characteristics of loperamide-selective electrode was investigated. The express and precise potentiometric technique of loperamide assay was developed.

Лоперамид (рис. 1) – лекарственное средство (производное пиперидина), обладающее противодиарейным действием. В научной литературе описаны методики определения лоперамида методами спектрофотометрии [1] и жидкостной хроматографии [2]. Согласно Британской [3] и Американской [4] фармакопеям субстанцию лоперамида гидрохлорида количественно определяют методом кислотно-основного титрования в неводной среде, а для количественного определения в лекарственных формах используют метод жидкостной хроматографии. Указанные методы имеют некоторые недостатки: требуют наличия дорогостоящего оборудования и/или использования органических растворителей. В настоящее время для анализа лекарственных препаратов широко разрабатываются потенциометрические методики [5, 6], которым свойственна простота исполнения, экономичность и экспрессность. В данной работе исследовано влияние состава мембраны на аналитические характеристики лоперамид-селективного электрода (лоперамид-СЭ): pH-диапазон функционирования, селективность к неорганическим и органическим катионам, нижний предел обнаружения, линейный диапазон и наклон электродной функции, воспроизводимость потенциала, время отклика. Изучены возможности определения лоперамида в капсулах методами прямой потенциометрии и потенциометрического титрования (ПТ) тетрафенилборатом натрия (NaTФБ).



4-[4-(4-хлорфенил)-4-гидроксипиперидин-1-ил]-N,N-диметил-2,2-дифенилбутанамид

Рис. 1. Химическая формула лоперамида

## Экспериментальная часть

**Реагенты и растворы.** Для изготовления мембраны ИСЭ использовали: поливинилхлорид (ПВХ), калия тетрафторфенилборат (ТХФБ), калия *трис*-(октилокси)бензолсульфонат (ТОБС), *орто*-нитрофенилоктиловый эфир (НФОЭ), дибутилсебацат (ДБС) и *трис*-(2-этилгексил)фосфат (ТЭГФ). Все вещества были марки Fluka Selectofore, за исключением ТОБС, синтезированного и очищенного на кафедре аналитической химии согласно [7]. В качестве растворителя мембранного коктейля был взят свежеперегранный тетрагидрофуран производства «Реахим».

Таблица 1

Основные аналитические параметры исследованных лоперамид-СЭ

Параметры	Электрод					
	1	2	3	4	5	6
Ионообменник	ТХФБ	ТХФБ	ТХФБ	ТОБС	ТОБС	ТОБС
Пластификатор	ТЭГФ	ДБС	НФОЭ	ТЭГФ	ДБС	НФОЭ
$S$ , мВ/декада	57,5	57,9	56,0	57,8	57,8	58,2
$NPO \cdot 10^7$ , моль/л	9,8	7,1	7,0	8,7	6,5	6,0
Линейный диапазон, моль/л	$1,0 \cdot 10^{-3} \div 2,0 \cdot 10^{-6}$	$1,0 \cdot 10^{-3} \div 2,3 \cdot 10^{-6}$	$1,0 \cdot 10^{-3} \div 3,9 \cdot 10^{-6}$	$1,0 \cdot 10^{-3} \div 1,9 \cdot 10^{-6}$	$1,0 \cdot 10^{-3} \div 2,1 \cdot 10^{-6}$	$1,0 \cdot 10^{-3} \div 2,2 \cdot 10^{-6}$
Рабочий диапазон рН	$2,0 \div 7,5$	$2,0 \div 7,5$	$2,0 \div 7,5$	$2,0 \div 7,5$	$2,0 \div 7,5$	$2,0 \div 7,5$
Воспроизводимость потенциала, мВ ( $C = 1 \cdot 10^{-3}$ моль/л)	$\pm 0,23$	$\pm 0,21$	$\pm 0,38$	$\pm 0,12$	$\pm 0,24$	$\pm 0,20$
Воспроизводимость потенциала, мВ ( $C = 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л)	$\pm 0,20$	$\pm 0,20$	$\pm 0,28$	$\pm 0,09$	$\pm 0,21$	$\pm 0,18$
Время отклика, с	30	40	30	15	45	30

Соли алифатических аминов и четвертичных аммониевых оснований, а также хлориды калия и натрия, гидроксид лития и NaТФБ были квалификации не ниже «ч. д. а.», все ФАА – фармакопейной чистоты. Растворы соляной кислоты необходимой концентрации были приготовлены из фиксанала.

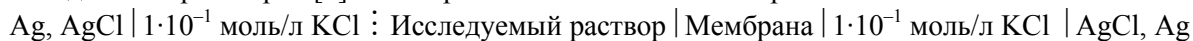
Концентрированный раствор NaТФБ готовили следующим образом. Приблизительно 35 г NaТФБ растворяли в мерной колбе объемом 1 л, предварительно добавив 5 мл раствора хлорида алюминия (концентрация 5 г/л), полученную суспензию отстаивали. Через 12 ч отстоявшийся раствор фильтровали через бумажный фильтр «синяя лента» и хранили при температуре  $2 \div 4$  °С не более 14 сут. Раствор титранта ( $\sim 2 \cdot 10^{-4}$  моль/л) получали разбавлением концентрированного раствора с последующей стандартизацией по раствору лоперамида известной концентрации ( $3,90 \cdot 10^{-5}$  моль/л) непосредственно в день измерений.

Препарат Лоперамида гидрохлорид (Борисовский завод медпрепаратов) с номинальным заявленным содержанием лоперамида 2 мг/капсулу приобретали в аптеке.

**Подготовка электродов и потенциометрические измерения.** Были исследованы аналитические характеристики шести составов мембран электродов (табл. 1), изготовление которых осуществляли по методике, описанной в [8]. Мембраны содержали ПВХ и пластификатор в соотношении 1:2, а также 0,01 моль/кг ионообменника.

Потенциал и рН растворов регистрировали иономером И-130М. В качестве электрода сравнения использовали хлоридсеребряный электрод марки ЭВЛ-1М3.1, для измерения рН – стеклянный электрод ЭСЛ-43-01. Определение всех характеристик для каждого состава мембраны проводили параллельно на трех электродах.

Потенциометрические коэффициенты селективности ( $K_{ij}^{Pot}$ ) определяли модифицированным методом отдельных растворов [9] в электрохимической ячейке с переносом:



Изучение остальных характеристик электродов проводили в электрохимической ячейке следующего типа:



При проведении ПТ с целью предотвращения попадания из электрода сравнения в исследуемый раствор ионов калия (также осаждающихся тетрафенилборатом) раствор хлорида калия в электроде был заменен эквимольярной смесью хлорида и сульфата натрия (1 моль/л каждого компонента).

Влияние рН на величину потенциала ИСЭ изучали путем добавления небольших количеств растворов LiOH с концентрациями ( $1 \div 1 \cdot 10^{-3}$ ) моль/л к  $1 \cdot 10^{-4}$  моль/л раствору лоперамида, приготовленному на фоне  $1 \cdot 10^{-2}$  моль/л HCl.

Характеристики электродной функции определяли путем последовательного двукратного разбавления  $1 \cdot 10^{-3}$  М раствора лоперамида деионизованной водой. Графическим методом [10] находили наклон электродной функции и линейный диапазон функционирования ИСЭ, а также величину нижнего предела обнаружения (НПО) как концентрацию лоперамида, соответствующую точке пересечения линейных фрагментов полученной зависимости  $E - \lg C$ .

Время отклика согласно [10] определяли как время, в течение которого потенциал изменяется от величины  $E_1$  до  $E_1 + 0,95(E_2 - E_1)$  при варьировании концентрации ФАА от  $1 \cdot 10^{-5}$  до  $1 \cdot 10^{-4}$  моль/л. В этих же растворах определяли воспроизводимость потенциала по результатам 10 последовательных измерений.

**Методики определения лоперамида.** Чтобы установить количество лоперамида в лекарственном препарате Лоперамида гидрохлорид, содержащее 5 капсул растворяли в дистиллированной воде и раствор доводили в мерной колбе до метки 500 мл. Часть полученного раствора отфильтровывали через бумажный фильтр «синяя лента». Лоперамид определяли в обоих (фильтрованном и нефилтрованном) растворах методами прямой потенциометрии и ПТ с NaТФБ, используя лоперамид-СЭ в качестве индикаторного электрода.

Прямое потенциометрическое определение лоперамида проводили методами ограничивающих растворов (МОР) и стандартного раствора (МСР), которые заключаются в следующем. Согласно МОР находили значение потенциала в градуировочных растворах ( $E_1$  и  $E_2$ ), а также в исследуемом растворе ( $E_x$ ) в порядке возрастания концентрации ( $C_1 < C_x < C_2$ ), содержание определяемого иона рассчитывали по формуле

$$C_x = 10^{\frac{E_x (\lg C_2 - \lg C_1) + E_2 \lg C_1 - E_1 \lg C_2}{E_2 - E_1}}$$

Согласно МСР предварительно устанавливали наклон электродной функции ( $S$ ) в диапазоне исследуемых концентраций аналита, который затем считали постоянным. Измеряли значение потенциала в стандартном ( $E_1$ ) и в исследуемом растворах в порядке возрастания концентрации ( $C_1 < C_x$ ) и содержание определяемого иона находили по формуле

$$C_x = C_1 \cdot 10^{\frac{E_x - E_1}{S}} \quad (2)$$

Точку эквивалентности рассчитывали методом второй производной в программном пакете Origin 8.0.

### Результаты и их обсуждение

Было исследовано влияние основности пластификатора и природы ионообменника на основные аналитические характеристики лоперамид-СЭ: наклон электродной функции, линейный диапазон функционирования, нижний предел обнаружения (НПО), рабочий диапазон рН, воспроизводимость потенциала, время отклика и селективность (табл. 1 и 2). Из данных табл. 1 видно, что все исследованные составы мембран электродов демонстрируют близкий к нернстовскому наклон электродной функции с нижним пределом обнаружения менее  $1 \cdot 10^{-6}$  моль/л (типичная электродная функция представлена на рис. 2). Также все электроды характеризуются быстрым временем отклика (менее 1 мин) и хорошей воспроизводимостью потенциала. Было установлено, что потенциал исследованных электродов не зависит от величины рН в диапазоне от 2,0 до 7,5 (типичная зависимость  $E - \text{pH}$  приведена на рис. 3), резкое падение потенциала при рН выше 7,5 обусловлено выпадением в осадок менее растворимой молекулярной формы амина (рКа лоперамида 8,7 [11]). В то же время ширина плато на кривой  $E - \text{pH}$  достаточна для изучения характеристик лоперамид-СЭ и определения содержания лоперамида без специального регулирования рН.

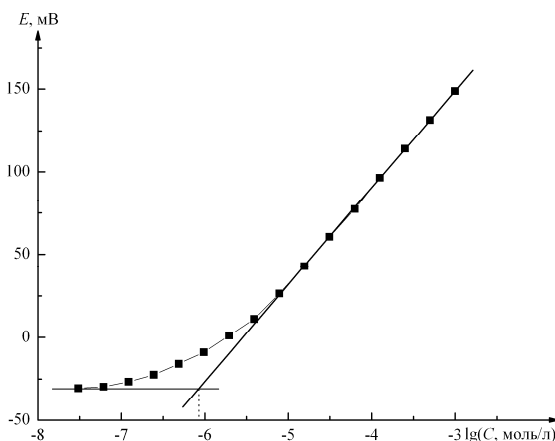


Рис. 2. Электродная функция (электрод № 4)

Селективность исследованных лоперамид-СЭ относительно ряда неорганических катионов, алкиламмониевых катионов, а также катионов ФАА

Катион	$\lg K_{\text{Lop}^+, j^+}^{\text{Pot}}$					
	ТХФБ			ТОБС		
	ТЭГФ	ДБС	НФОЭ	ТЭГФ	ДБС	НФОЭ
Лоперамид	$\approx 0,00$	$\approx 0,00$	$\approx 0,00$	$\approx 0,00$	$\approx 0,00$	$\approx 0,00$
Li	-5,47	-7,43	-11,29	-5,59	-7,27	-7,41
Na	-6,30	-7,08	-10,86	-6,32	-7,16	-7,24
K	-6,85	-6,48	-9,10	-6,99	-7,08	-6,91
Бутиламин	-3,68	-5,32	-6,98	-3,77	-5,42	-5,04
Диэтиламин	-4,78	-5,41	-6,34	-4,89	-5,56	-5,23
Триэтиламин	-5,09	-5,38	-5,64	-5,22	-5,22	-4,48
Октиламин	-1,93	-2,99	-4,74	-1,93	-3,32	-3,56
Тетраэтиламмоний	-5,86	-4,30	-3,81	-5,97	-4,95	-4,17
Диамиламин	-1,61	-2,44	-3,33	-1,68	-2,28	-2,69
Трибутиламин	-2,18	-2,20	-2,26	-2,29	-2,34	-2,32
Тетрабутиламмоний	-1,89	-0,74	0,03	-2,06	-1,83	-0,51
Мидантан	-2,36	-3,70	-5,34	-2,40	-3,67	-3,97
Триметоприм	-3,04	-4,06	-5,37	-2,93	-3,92	-3,94
Амброксол	-1,92	-3,70	-5,38	-1,98	-3,60	-3,90
Анаприлин	-1,40	-2,45	-3,65	-1,45	-2,32	-2,62
Метоклопрамид	-3,42	-2,98	-2,43	-3,45	-3,39	-2,21
Кетоконазол	-2,85	-2,52	-2,14	-2,76	-2,67	-2,13
Папаверин	-2,40	-1,97	-1,66	-2,47	-2,29	-1,85
Бромгексин	-0,42	-1,20	-1,44	-0,48	-1,10	-1,04
Винпоцетин	-1,57	-1,67	-1,59	-1,49	-1,23	-0,88
Дрогаверин	-1,52	-0,86	-0,58	-1,66	-1,25	-0,89

Из табл. 2 видно, что изученные лоперамид-СЭ характеризуются высокой селективностью относительно всех приведенных посторонних катионов, что обусловлено высокой гидрофобностью исследуемого амина ( $\lg P_{\text{октанол/вода}} = 5,2$  [12]). Следует отметить, что характер изменения коэффициентов селективности при увеличении основности пластификатора ( $\text{НФОЭ} < \text{ДБС} < \text{ТЭГФ}$ ), а также замены неселективного ионообменника (ТХФБ) на ионообменник, способный к образованию водородных связей (ТОБС), в целом соответствует ранее найденным закономерностям [13]: при указанных изменениях увеличивается сродство мембраны к аминам с меньшей степенью замещенности у солеобразующего атома азота. Влияние природы ионообменника наиболее сильно проявляется для мембран,

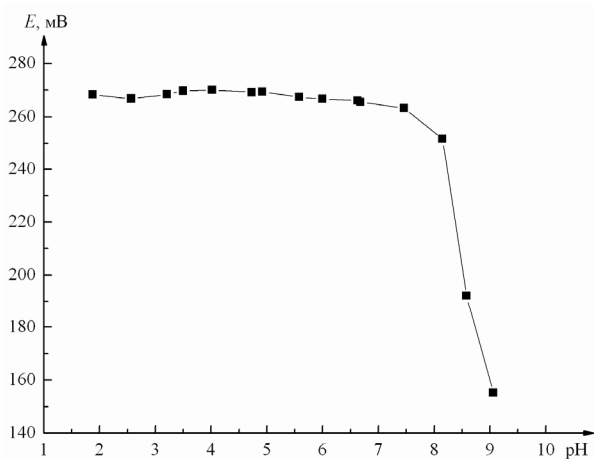


Рис. 3. Зависимость потенциала лоперамид-СЭ от pH (электрод № 4)

пластифицированных НФОЭ, и практически полностью нивелировано для мембран, пластифицированных ТЭГФ. Поскольку лоперамид является третичным амином, в целом лучшую селективность к нему относительно большинства мешающих катионов проявляет электрод с мембраной на основе неселективного ионообменника ТХФБ и наименее основного пластификатора НФОЭ. Исключение составляют четвертичные аммониевые катионы, по отношению к которым замена НФОЭ на ТЭГФ приводит к снижению коэффициентов селективности примерно на 2 порядка (при этом селективность относительно остальных катионов сохраняется на приемлемом уровне). Учитывая, что электроды с мембранами, пластифицированными ТЭГФ, характеризуются наилучшей воспроизводимостью потенциала, что крайне важно с точки зрения обеспечения высокой точности измерений, для исследования возможности потенциометрического определения лоперамида были выбраны электроды с мембранами № 1 и № 4.

Результаты определения лоперамида в модельных растворах I и II ( $3,61 \cdot 10^{-5}$  и  $4,19 \cdot 10^{-5}$  моль/л соответственно) различными методами ( $P = 0,95$ )

Метод	Электрод 1				Электрод 4			
	I		II		I		II	
	Найдено, $10^{-5}$ моль/л	$S_r$ , %	Найдено, $10^{-5}$ моль/л	$S_r$ , %	Найдено, $10^{-5}$ моль/л	$S_r$ , %	Найдено, $10^{-5}$ моль/л	$S_r$ , %
МСП ( $n = 7$ )	$3,56 \pm 0,01$	0,3	$4,25 \pm 0,01$	0,3	$3,57 \pm 0,01$	0,2	$4,23 \pm 0,01$	0,2
МОР ( $n = 7$ )	$3,57 \pm 0,01$	0,1	$4,24 \pm 0,01$	0,2	$3,56 \pm 0,01$	0,2	$4,23 \pm 0,01$	0,2
ПТ ( $n = 3$ )	$3,60 \pm 0,01$	0,1	$4,21 \pm 0,01$	0,1	$3,59 \pm 0,01$	0,1	$4,20 \pm 0,01$	0,1

В табл. 3 представлены результаты определения лоперамида в модельных растворах методами МСП, МОР и ПТ. Видно, что найденные с помощью всех трех методов содержания амина хорошо согласуются друг с другом, однако данные потенциометрического титрования характеризуются несколько большей точностью и правильностью. Из типичной кривой титрования (рис. 4) видно, что, несмотря на низкую концентрацию определяемого вещества, она имеет хорошо выраженный скачок потенциала. Это позволяет четко найти точку эквивалентности.

Таблица 4

Результаты определения лоперамида в таблетках в фильтрованной и нефильтованной аликвотах различными методами ( $P = 0,95$ )

Метод	Электрод 1			Электрод 4		
	Найдено, мг/табл.	$S_r$ , %	ООЗЗ*, %	Найдено, мг/табл.	$S_r$ , %	ООЗЗ, %
	Фильтрованная					
МСП ( $n = 5$ )	$1,38 \pm 0,01$	0,3	-31,0	$1,45 \pm 0,01$	0,2	-27,5
МОР ( $n = 5$ )	$1,39 \pm 0,01$	0,2	-30,5	$1,44 \pm 0,01$	0,2	-28,0
ПТ ( $n = 3$ )	$1,50 \pm 0,01$	0,2	-25,0	$1,49 \pm 0,01$	0,3	-25,5
Нефильтрованная						
МСП ( $n = 5$ )	$1,82 \pm 0,01$	0,4	-9,0	$1,87 \pm 0,01$	0,2	-6,5
МОР ( $n = 5$ )	$1,83 \pm 0,01$	0,3	-8,5	$1,86 \pm 0,01$	0,1	-7,0
ПТ ( $n = 3$ )	$1,96 \pm 0,01$	0,2	-2,0	$2,02 \pm 0,01$	0,1	+1,0
Нефильтрованная**						
ПТ ( $n = 3$ )	–	–	–	$2,00 \pm 0,01$	0,1	+0,2

Примечание. \*ООЗЗ  $\equiv$  отклонение от заявленного значения; \*\*декантированная после 24-часового отстаивания нефильтованная проба.

В табл. 4 приведены результаты определения лоперамида в капсулах в вариантах с предварительным фильтрованием раствора пробы лекарственного препарата и без фильтрования. Видно, что в случае фильтрованной пробы для всех методов наблюдается значительное (свыше 25 %) занижение результатов анализа относительно заявленного производителем номинального значения. Очевидно, это связано с сорбцией лоперамида на бумажном фильтре. В случае нефильтованной пробы результаты определения лоперамида методами прямой потенциометрии занижены на 7–9 %, что может быть обусловлено взаимодействием амина с компонентами матрицы, приводящим к снижению его активности в растворе. В то же время ошибка определения методом потенциометрического титрования не превышает 2 %. Интересно, что разница в результатах титрования взмученной и декантированной после 24-часового отстаивания проб составляет менее 1 %. Это свидетельствует о том, что компоненты матрицы не оказывают влияния на определение лоперамида методом ПТ, что позволяет упростить пробоподготовку и сократить время выполнения анализа. Разработанная методика пригодна для количественного определения лоперамида мето-

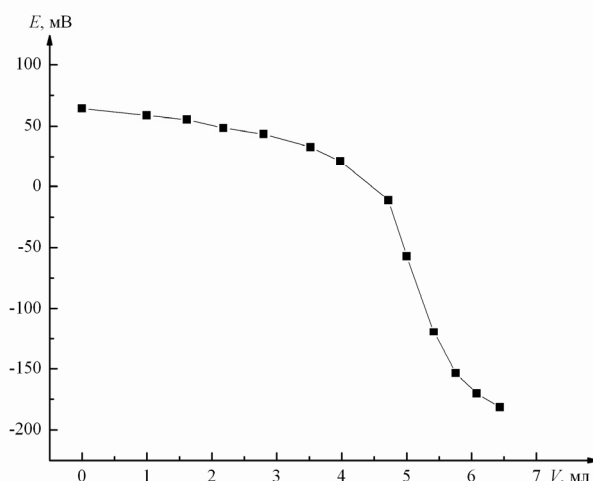


Рис. 4. Кривая титрования стандартного раствора лоперамида ( $3,90 \cdot 10^{-5}$  моль/л) раствором NaТФБ ( $\sim 2 \cdot 10^{-4}$  моль/л)

дом ПТ как в субстанции, так и в лекарственных препаратах и может быть рекомендована в качестве альтернативы существующим фармакопейным методикам.

1. El Sherif Z.A., Mohamed A.O., Walash M.I., Tarras F.M. // J. Pharm. Biomed. Anal. 2000. Vol. 22. P. 13.
2. Chen H., Gaul F., Gou D., Maycock A. // Ibid. 2000. Vol. 22. P. 555.
3. British Pharmacopoeia 2007. Stationary Office, 2006.
4. United States Pharmacopoeia 30 – National Formulary 25. Rockville, MD, USA, 2007.
5. Stefan R.I., van Staden J.F., Aboul-Enein H.Y. Electrochemical Sensors in Bioanalysis. New York, 2001.
6. Харитонов В.С. // Успехи химии. 2007. Т. 76. № 4. С. 398.
7. Лущик Я.Ф. Некоторые закономерности функционирования и аналитическое применение катионселективных электродов на основе высших сульфокислот и их композиций с нейтральными переносчиками: Автореф. дис. ... канд. хим. наук. Мн., 1988.
8. Егоров В.В., Назаров В.А., Свирщевский С.Ф. // Вестн. БГУ. Сер. 2. 2007. № 2. С. 13.
9. Bakker E., Pretsch E., Bühlmann P. // Anal. Chem. 2000. Vol. 72. P. 1127.
10. Buck R., Lindner E. // Pure Appl. Chem. 2000. Vol. 72. P. 1127.
11. Crowe A., Wong P. // Drug Development and Industrial Pharmacy. 2004. Vol. 30. P. 449.
12. Clarke's Analysis of Drugs and Poisons / Eds.: A.C. Moffat, M.D. Osselton, B. Widdop, L.Y. Galichet. Pharmaceutical Press, 2004.
13. Егоров В.В., Болотин А.А., Короневич О.С. // Журн. аналит. химии. 2006. Т. 61. № 11. С. 1218.

Поступила в редакцию 12.12.08.

**Роман Иванович Астапович** – младший научный сотрудник кафедры микробиологии.

**Денис Леонидович Высоцкий** – студент 5-го курса химического факультета.

**Валентин Александрович Назаров** – научный сотрудник сектора ионометрии и химической метрологии НИИФХП БГУ.

**Владимир Владимирович Егоров** – доктор химических наук, профессор кафедры аналитической химии.