

# Применение вольтамперометрии для количественного определения L-тироксина

Доме С.В., Ивановская Е.А.

## Voltammetry application for quantitative definition of L-Thyroxine

Dome S.V., Ivanovskaya Ye.A.

Новосибирский государственный медицинский университет, г. Новосибирск

© Доме С.В., Ивановская Е.А.

С целью разработать методики количественного определения L-тироксина в модельном растворе и индивидуальном препарате с помощью инверсионной вольтамперометрии проведено исследование рабочих условий вольтамперометрического поведения L-тироксина, а именно оценено влияние различных факторов (потенциал накопления, время накопления, скорость развертки, природы фоновое электролита) на потенциал и величину тока восстановления тироксина. Объект исследования — L-тироксин (Sigma, США). В результате исследования установлены рабочие характеристики количественного определения L-тироксина в модельном растворе и монопрепарате.

**Ключевые слова:** вольтамперометрия, L-тироксин.

The technique of quantitative determination of L-thyroxin in a model solution and an individual preparation with the aid of inversion voltammetry is developed. For this purpose, it is necessary to study working conditions of the voltammetric behavior of L-thyroxin, namely, to estimate the influence of different factors (accumulation potential, accumulation time, scanning rate, nature of background electrolyte) on the potential and current of thyroxin recovery. The object of study is L-thyroxin (Sigma, USA). As a result, working characteristics of quantitative determination of L thyroxin in a model solution and monopreparation are determined.

**Key words:** voltammetry, L-thyroxin.

УДК 577.175.444:543.552

### Введение

L-тироксин — один из гормонов щитовидной железы. Образуется в щитовидной железе под контролем тиреотропного гормона. Тироксин прямо или опосредованно регулирует практически все процессы обмена. По химической структуре представляет собой L-2-амино-3-[4-(3,5-дийод-4-гидрокси-фенокси)-3,5-ди-идфенил] пропионовую кислоту.

В контроле качества лекарственного препарата «L-тироксин» (далее — тироксин) для количественной оценки его содержания используется высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) (фармакопейный метод) [3]. Этот метод является длительным и трудоемким (экстракция лекарственного вещества из таблетки — около 2 ч), с применением таких токсичных веществ, как ацетонитрил и метанол [1].

Кроме этого классического метода в научной литературе встречаются упоминания об электрохимических способах определения тироксина в модельных растворах с использованием различных типов электродов (ртутный капаящий, графитовый, модифицированный графитовый, стеклоуглеродный). Однако эти разработки в большинстве своем обладают чисто научным характером, имеющим своей целью развитие физической электрохимии, изучение поведения L-тироксина при использовании того или иного электрода и электрохимического метода [4, 5]. Методики, имеющие практическое значение, как правило, опираются на предварительную хроматографическую очистку пробы с применением как самых простых вариантов колоночной хроматографии, так и ВЭЖХ со спектрофотометрической детекцией.

Описанные в литературе методики не нашли практического применения в медицине из-за своей трудоемкости и длительности определения [6, 7].

Цель работы — разработка методики количественного определения L-тироксина в модельном растворе и препарате с помощью инверсионной вольтамперометрии.

## Материал и методы

Использовали вольтамперометрический анализатор ТА-4 (ООО «Техноаналит», г. Томск). В двух-электродной ячейке индикаторным электродом служил ртутно-пленочный (пленка ртути, нанесенная электрохимически на отшлифованную серебряную подложку, закрепленную во фторопласте), электродом сравнения — хлорид-серебряный. Для деаэрирования и перемешивания раствора использовали азот с содержанием кислорода не более 0,001%. Стандартный раствор  $2 \cdot 10^{-1}$  мг/л готовили из субстанции L-тироксина (Sigma, Lot 70K1844) растворением точной навески в NaOH концентрацией 0,01 моль. Стандартные растворы меньшей концентрации получали последовательным разбавлением исходного раствора.

Статистическую обработку результатов исследования проводили в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи.

## Результаты и обсуждение

Выбор ртутно-пленочного электрода в качестве индикаторного обусловлен способностью органических соединений образовывать с ртутью устойчивые или малорастворимые соединения. Еще одним преимуществом такого электрода является возможность получения более четкого аналитического сигнала тироксина, служащего количественной характеристикой определяемого вещества, что повышает разрешающую способность метода. Тироксин легко адсорбируется на рабочей поверхности ртутно-пленочного электрода, что позволяет концентрировать его на рабочем электроде.

В качестве фоновых электролитов были исследованы растворы солей KCl, NaCl,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{KNO}_3$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  и NaOH, боратные буферы (pH 8–11). Исходя из полученных результатов, в качестве фонового электролита был выбран боратный буфер с pH 10, так как при его использовании на вольтамперограмме наблюдалась четкая волна восстановления тироксина. Кроме того, данный раствор обеспечивал широкую рабочую область, хорошую электропроводность и необходимую площадь для обработки сигнала. В кислой

среде при подобранных условиях сигнал тироксина отсутствовал, а в нейтральной и слабощелочной резко сужалась рабочая область и возрастала величина остаточного тока, при этом невозможно было зафиксировать высоту волны тироксина. Результаты эксперимента показали, что оптимальным решением является электролиз без добавления дополнительных электролитов. На вольтамперограмме наблюдается четкий пик при  $-0,18$  В (рис. 1).

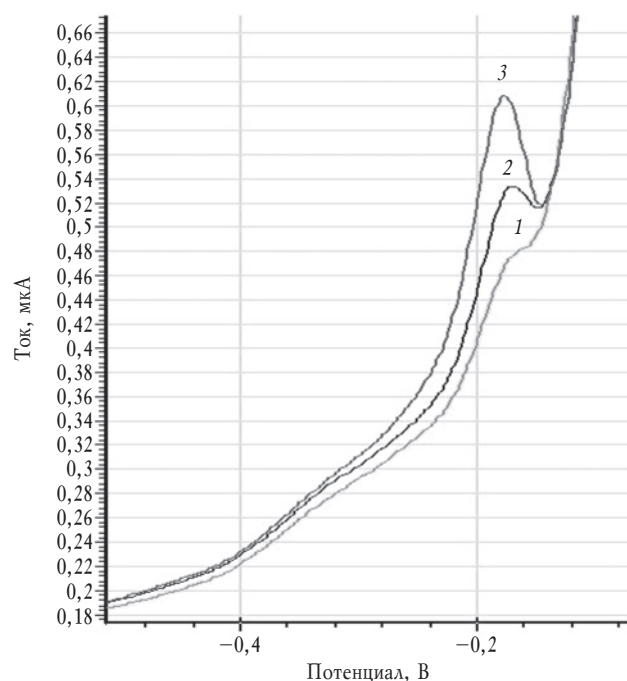


Рис. 1. Вольтамперограмма тироксина на фоне боратного буфера концентрацией 0,05 моль, pH 10,  $E_{\text{н}} = -1,8$  В,  $c_{\text{тир}} (\cdot 10^{-2})$  М: 1 — 0; 2 — 2; 3 — 4

Оптимальным потенциалом концентрирования экспериментально подобран  $-1,8$  В (рис. 2). При повышении значения потенциала концентрирования появлялся дополнительный пик в области  $-0,6 \dots -0,4$  В. Основной же пик тироксина при  $0,18$  В становился искаженным и практически нерегистрируемым, также снижалась величина аналитического сигнала.

Для определения оптимального времени электролиза, с целью получения более выраженного сигнала была апробирована область значений данного показателя от 20 до 240 с. Высота сигнала возрастала пропорционально времени пропускания до 150 с, при этом достигалось максимальное значение величины тока растворения накопленных осадков с поверхности

ртутно-пленочного электрода и хорошая воспроизводимость результатов. При времени накопления менее 150 с величина тока растворения не достигала максимального значения, что снижало чувствительность определения исследуемого вещества. При увеличении времени накопления более 150 с происходило насыщение осадка на электроде, аналитический сигнал тироксина искажался и затруднялась обработка вольтамперограмм (рис. 3).

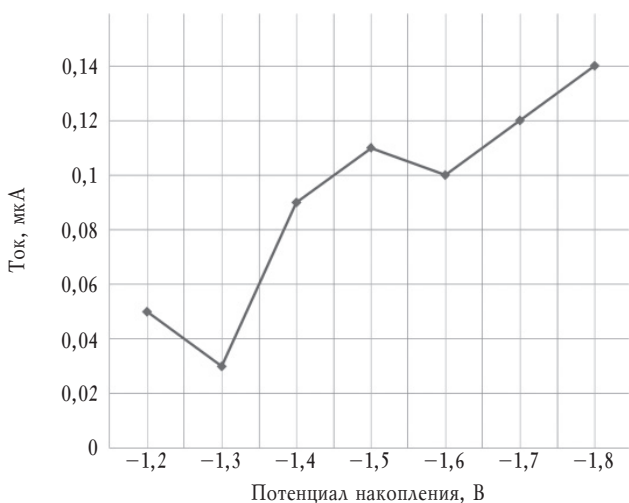


Рис. 2. Зависимость силы тока от потенциала накопления в модельном растворе. Условия определения: фон — боратный буфер (pH 10);  $t_s$  — 150 с;  $w_p$  — 50 мВ/с; концентрация тироксина в ячейке —  $2 \cdot 10^{-2}$  мг/л

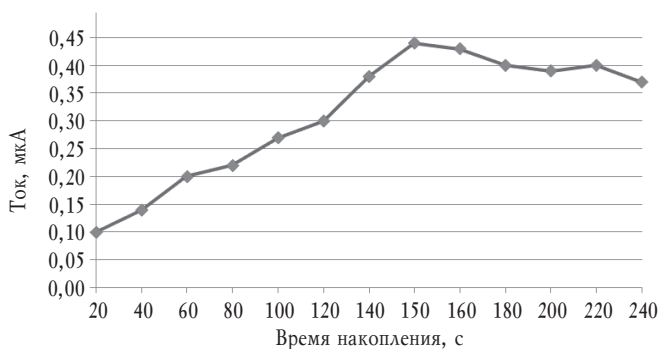


Рис. 3. Зависимость силы тока от времени накопления в модельном растворе. Условия определения: фон — боратный буфер (pH 10);  $E_s$  — (-1,800);  $w_p$  — 50 мВ/с; концентрация тироксина в ячейке —  $2 \cdot 10^{-2}$  мг/л

Наряду с имеющимися параметрами экспериментальным путем была определена рациональная скорость развертки потенциала, равная 50 мВ/с, при замедлении или ускорении которой границы аналитического сигнала становились нечеткими, что затрудняло обработку поляризационных кривых (рис. 4).

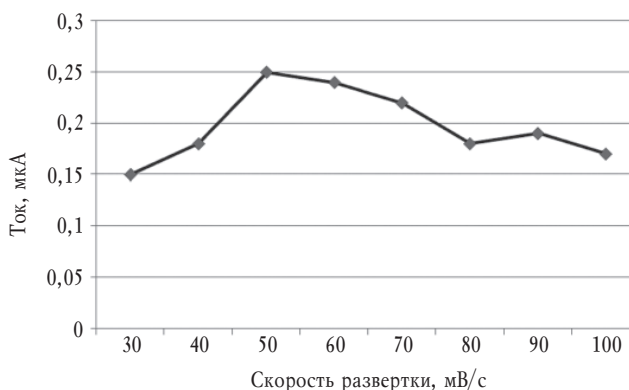


Рис. 4. Зависимость силы тока от скорости развертки в модельном растворе. Условия определения: фон — боратный буфер (pH 10);  $E_s$  — (-1,800);  $t_s$  — 150 с; концентрация тироксина в ячейке —  $2 \cdot 10^{-2}$  мг/л

Таким образом, в результате проведенных исследований была установлена способность и подобраны рациональные условия концентрирования тироксина на поверхности ртутно-пленочного электрода, сопровождающиеся регистрацией сигнала вещества на вольтамперограмме.

Зависимость величины силы тока от логарифма концентрации тироксина в водных растворах имела прямолинейный характер в интервале концентраций  $2 \cdot 10^{-8}$ — $2 \cdot 10^{-2}$  мг/л (рис. 5), следовательно, в данном диапазоне концентраций аналитический сигнал прямо пропорционален концентрации.

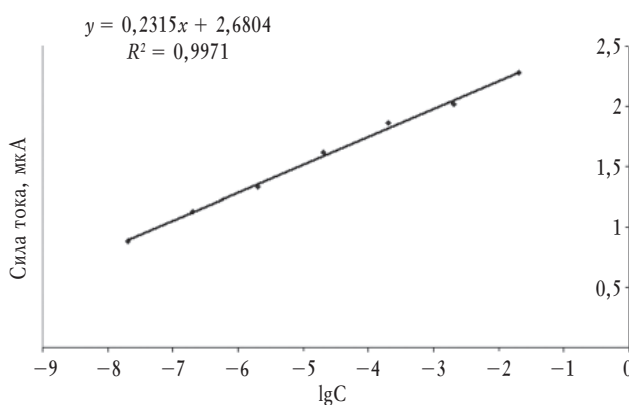


Рис. 5. Зависимость величины силы тока от логарифма концентрации тироксина

Правильность методики определяли методом «введено — найдено». Статистическая обработка полученных результатов, представленная в табл. 1, показывает, что относительная ошибка методики в модельном растворе не превышает 3,03%.

Таблица 1

Результаты теста «введено — найдено» при количественном определении тироксина в модельном растворе ( $n = 10$ ;  $f = 9$ ;  $p = 0,95$ ; боратный буфер концентрацией 0,05 моль;  $E_n = -1,8$  В)

№	X, мг/л	X <sub>ср</sub> , мг/л	S <sub>r</sub>	ε, %
1	$2 \cdot 10^{-8}$	$1,988 \cdot 10^{-8}$	0,028730315	2,05
2	$2 \cdot 10^{-7}$	$2,02 \cdot 10^{-7}$	0,042393507	3,03
3	$2 \cdot 10^{-6}$	$1,976 \cdot 10^{-6}$	0,027739278	1,98
4	$2 \cdot 10^{-5}$	$2,002 \cdot 10^{-5}$	0,033449548	2,39
5	$2 \cdot 10^{-4}$	$1,969 \cdot 10^{-4}$	0,025047011	1,79
6	$2 \cdot 10^{-3}$	$1,981 \cdot 10^{-3}$	0,032493049	2,32
7	$2 \cdot 10^{-2}$	$1,973 \cdot 10^{-2}$	0,036941203	2,64

Таблица 2

Результаты теста «введено — найдено» при количественном определении тироксина в препарате ( $n = 10$ ;  $f = 9$ ;  $p = 0,95$ ; боратный буфер концентрацией 0,05 моль;  $E_n = -1,8$  В)

Введено	Найдено $C_x \cdot 10^{-4}$ мг/л									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
$2 \cdot 10^{-4}$ мг/л	2,12	2,06	1,978	1,996	2,04	2,04	1,992	1,99	1,974	2,1
0,1 мг*	0,106	0,103	0,0989	0,0998	0,102	0,102	0,0996	0,0995	0,0987	0,105

\* — пересчет на одну таблетку с учетом разведения, т.е. полученный результат единичного измерения умножали на разведение и делили на количество таблеток, взятых для приготовления анализируемого раствора.

Полученные условия методики определения тироксина в модельном растворе адаптировали на таблетки, при этом избавлялись от содержащихся в них вспомогательных веществ.

20 таблеток тироксина растирали в ступке [4]. Полученный порошок растворяли в 200 мл раствора гидроксида натрия концентрацией 0,01 моль при перемешивании магнитной мешалкой в течение 10 мин. Раствор фильтровали, фильтрат переносили в мерную колбу вместимостью 1 л. Доводили объем жидкости до метки «0,01 моль» раствором гидроксида натрия и перемешивали. Отбирали 1 мл полученного раствора, переносили в мерную колбу и доводили объем до метки (также раствором гидроксида натрия). Процедуру повторяли еще раз. Из полученного раствора вновь отбирали 1 мл и переносили в мерную колбу на 10 мл, объем доводили до метки водой. Затем проводили измерение с теми же параметрами, как и в модельном растворе. Метрологические характеристики методики, адаптированной на лекарственный монопрепарат, представлены в табл. 2 и 3, из которых видно, что ошибка определения тироксина в лекарственном препарате составляет 1,82%.

Таблица 3

Расчет относительной ошибки методики при определении тироксина в лекарственном препарате

m, мг	0,106; 0,103; 0,0989; 0,0998; 0,102; 0,102; 0,0996; 0,0995; 0,0987; 0,105
P	0,95
n	10
X <sub>ср</sub>	0,10145
S	$2,588 \cdot 10^{-2}$
ΔX	$1,8503 \cdot 10^{-3}$
X <sub>ср</sub> ± ΔX	$0,10145 \pm 1,8503 \cdot 10^{-3}$
ε	1,8238%

Правильность разработанной методики оценивали методом «введено — найдено» с добавлением стандартного раствора. Погрешность анализа рассчитывали в соответствии с Государственной фармакопеей [1].

## Выводы

1. Экспериментально определены оптимальные условия электролиза: состав и рН фонового электролита; потенциал и время пропускания азота; границы и скорость развертки потенциала.

2. На основе разработанной методики подобраны оптимальные условия определения тироксина в лекарственном препарате.

## Литература

1. Государственная фармакопея СССР. XI издание. М.: Медицина, 1987. Вып. I. Общие методы анализа. 337 с.
2. Органическая электрохимия: книга 1 / под ред. М. Бейзера, Х. Лунда. Пер. с англ. / под ред. В.А. Петросяна и Л.Г. Феоктистова. М.: Химия, 1988. 469 с.
3. ФС № 42-912-90.
4. Amir G. Kazemifard, Douglas E. Moore, Aghazadeb A. Identification and quantitation of sodium-thyroxine and its degradation products by LC using electrochemical and MS detection // Journ. of Pharm. and Biomed. Analysis. 2001. V. 25, №. 5—6. P. 697—711.
5. Fang Wang, Junjie Fei, Shengshui Hu. The influence of cetyltrimethyl ammonium bromide on electrochemical properties of thyroxine reduction at carbon nanotubes modified electrode, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 39. 2004. P. 95—101.
6. Hernlindez P., Hernhdez and Nieto, Determination of Thyroxine in Urine by Cathodic Stripping Square-wave Voltammetry // Analyst. July 1994. V. 119.
7. Mizuko Iwamoto, Andrew Webber, and Robert A. Osteryoung. Cathodic Reduction of Thyroxine and Related Compounds on Silver // Anal. Chem. 1984. № 56. P. 1202—1206.

Поступила в редакцию 08.04.2011 г.

Утверждена к печати 01.06.2011 г.

## Сведения об авторах

С.В. Доме — аспирант кафедры фармацевтической химии НГМУ (г. Новосибирск).

Е.А. Ивановская — д-р фарм. наук, профессор кафедры фармацевтической химии НГМУ (г. Новосибирск).

## Для корреспонденции

Доме Сергей Владимирович, тел. 8-913-455-0427; e-mail: dome\_s@mail.ru

---

## Уважаемые читатели!

### Предлагаем вам подписаться на наш журнал с любого номера

В 2011 году стоимость подписки на полугодие — 1500 рублей, на год — 3000 рублей.

Как оформить подписку на журнал «Бюллетень сибирской медицины»

На почте во всех отделениях связи

Подписной индекс **46319** в каталоге агентства Роспечати «Газеты и журналы 2011, 1-е и 2-е полугодие».

В редакции

• Без почтовых наценок.

• С любого месяца.

• Со своего рабочего места.

По телефону (382-2) 51-41-53; факс (382-2) 51-53-15.

На сайте <http://bulletin.tomsk.ru>

Если вы являетесь автором публикаций или хотите приобрести наш журнал, он будет выслан вам наложенным платежом при заполнении заявки. Стоимость приобретения одного номера 400 рублей.

Заявку на приобретение журнала нужно выслать по адресу редакции:

634050, г. Томск, пр. Ленина, 107,

Научно-медицинская библиотека Сибирского государственного медицинского университета,

редакция журнала «Бюллетень сибирской медицины»,

тел. (8-3822) 51-41-53. E-mail: [bulletin@bulletin.tomsk.ru](mailto:bulletin@bulletin.tomsk.ru)