

УДК: 615.071: 615.072: 615.074:616.441  
DOI

Ф.И. МАМЕДОВ<sup>1</sup>, А.Ф. ГУММАТОВ<sup>2</sup>, Х.Н. ШИРИНОВА<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Азербайджанский медицинский университет, кафедра фармацевтической химии,

<sup>2</sup>Азербайджанский медицинский университет, кафедра хирургических болезней, Баку, Азербайджан

## СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛЕВОТИРОКСИНА В НАНОПРЕПАРАТЕ

**Резюме:** Целью работы являлось выяснение возможности определения левотироксина в представленном нанопрепарате спектрофотометрическим методом. В качестве растворителя использовали 10%-ный раствор NaOH. Щелочной раствор нанопрепарата нагревали на водяной бане, фильтровали и охлаждали. Спектрофотометрическое определение проводили с использованием спектрофотометра «Agilent Technologies Cary 60 UV-Vis». Установлено, что максимум поглощения левотироксина в растворах (стандартный образец и нанопрепарат) наблюдается при длине волны 330 нм. Выявлено, что левотироксин из нанопрепарата в раствор переходит в малых количествах 13%. Наличие лево-изомеров в растворах подтверждено поляриметрическим методом. Предложенный спектрофотометрический метод подтверждает наличие левотироксина в нанопрепарате, но его переход в раствор щелочи происходит медленно.

**Ключевые слова:** левотироксин, стандартный образец, нанопрепарат, количественное определение, спектрофотометрия, поляриметрия.

Ф.И. Мамедов<sup>1</sup>, А.Ф. Гумматов<sup>2</sup>, Х.Н. Ширинова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Әзірбайжан медицина университеті, фармацевтикалық химия кафедрасы,

<sup>2</sup>Әзірбайжан медицина университеті, I Баку хирургиялық аурулар кафедрасы, Әзірбайжан

### НАНОПРЕПАРАТТАҒЫ ЛЕВОТИРОКСИНДИ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЯЛЫҚ АНЫҚТАУ

**Түйін:** жұмыстың мақсаты ұсынылған нанопрепаратта левотироксинді спектрофотометриялық әдіспен анықтау мүмкіндігін анықтау болды. Еріткіш ретінде 10% NaOH ерітіндісі қолданылды. Нанопрепараттың сілтілі ерітіндісі су моншасында қыздырылып, сүзіліп, салқындатылды. Спектрофотометриялық анықтау "Agilent Technologies Cary 60 UV-Vis" спектрофотометрін қолдану арқылы жүргізілді. Ерітінділерде левотироксиннің максималды сіңуі (стандартты үлгі және нанопрепарат) толқын ұзындығы 330 нм болған кезде байқалады. Левотироксин нанопрепараттан ерітіндіге 13% аз мөлшерде ауысатыны анықталды. Ерітінділерде сол жақ изомерлердің болуы поляриметриялық әдіспен расталады. Ұсынылған спектрофотометриялық әдіс нанопрепаратта левотироксиннің болуын растайды, бірақ оның сілтілік ерітіндіге ауысуы баяу жүреді.

**Түйінді сөздер:** левотироксин, стандартты үлгі, нанопрепарат, сандық анықтау, спектрофотометрия, поляриметрия.

F.I.Mamedov<sup>1</sup>, A.F.Gummatov<sup>2</sup>, Kh.N.Shirinova<sup>2</sup>,

<sup>1</sup>Azerbaijan Medical University, Department of Pharmaceutical Chemistry,

<sup>2</sup>Azerbaijan Medical University, Department of Surgical Diseases I. Baku, Azerbaijan

### SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF LEVOTHIROXINE IN A NANOPREPARATION

**Resume:** The aim of the work was to elucidate the possibility of determining levothyroxine in the presented nanopreparation by the spectrophotometric method. A 10% NaOH solution was used as a solvent. An alkaline solution of the nanopreparation was heated on a water bath, filtered, and cooled. Spectrophotometric determination was carried out using an Agilent Technologies Cary 60 UV-Vis spectrophotometer. It has been established that the maximum absorption of levothyroxine in solutions (standard sample and nanopreparation) is observed at a wavelength of 330 nm. It was revealed that levothyroxine passes from the nanopreparation into the solution in small amounts 13%. The presence of levo-isomers in solutions was confirmed by the polarimetric method. The proposed spectrophotometric method confirms the presence of levothyroxine in the nanopreparation, but its transition into the alkali solution is slow.

**Keywords:** levothyroxine, standard sample, nanopreparation, quantitative determination, spectrophotometry, polarimetry.

**Вступление.**

Тироксин (тетрайодтиронин, 2-амино-3-[4-(4-гидрокси-3,5-диоксифенокси)-3,5-дйодфенил]пропионовая кислота, Т4) – является гормоном щитовидной железы (тиреоидный гормон), прогормон дийодтиронина (более активная форма). В организме образуется в результате присоединения йода к L-тироzinу.

Тироксин впервые был выделен как индивидуальное вещество из щитовидных желез крупного рогатого скота Е.К.Кендаллом (Edward Calvin Kendall) в 1914 году. В 1926-1927 годах Ч.Р.Харингтоном (Charles Robert Harrington) была установлена его структура. Тироксин существует в форме 2 оптических (l-лево и d-право вращающих) изомеров (антиподов) или в виде рацемата (d,l-форма). Природный l-изомер тироксина в 3 раза более активный чем d-изомер. Поэтому в медицинской практике применяют синтетический аналог природного гормона l-тироксин (левотироксин), в основном в форме натриевой соли.

Применение тироксина в медицинской практике начато ещё в 1926 году. Он впервые был выпущен Г.Р.Хенингом (Georg Rfiedrich Henning) под названием «Thyroxin Henning», а в 1927 году был произведён синтез тироксина (Harrington & Barger).

Левотироксин широко применяется в заместительной и вспомогательной терапии гипотиреоза. Список препаратов содержащих левотироксин и зарегистрированных Министерством Здравоохранения Азербайджанской Республики представлен в таблице 1 [1].

Для анализа левотироксина в субстанции и в лекарственных формах в литературе предлагаются различные методы [2-4]. Для определения подлинности левотироксина устанавливают его температуру плавления (223 °C); удельный показатель вращения (для 5%-ного раствора в соляной кислоте и этаноле находится в ин-

тервале +16 +20°); определяют наличие органического йода; проводят нингидриновую пробу; реакцию окисления с натрия нитритом; используют метод тонкослойной хроматографии; спектроскопии в инфракрасной области; для лекарственных форм метод Высокоэффективной Жидкостной Хроматографии (ВЭЖХ. Количественное определение левотироксина можно проводить различными методами: окислительной минерализацией; аргентометрией (метод Фаянса), методом ВЭЖХ. В литературе для определения левотироксина предлагается также метод спектрофотометрии [5-9]. Максимумы поглощения левотироксина в зависимости от вида соли и используемых растворителей представлены в таблице 2.

**Целью работы** является выяснение возможности определения левотироксина в представленном нанопрепарате спектрофотометрическим методом.

**Методы.**

Объектом исследования был нанопрепарат (условное название) приготовленный сотрудниками Института Катализа и Неорганической Химии им. М.Нагиева и представленный сотрудниками кафедры хирургических болезней I Азербайджанского медицинского университета. Состав нанопрепарата: левотироксин – 8 мг, хитозан – 5 мг. Нанопрепарат представляет собой порошок желтовато-кремового цвета.

В качестве стандартного образца использовалась субстанция левотироксина: производитель “Sigma-Aldrich” (США), серия: LRAB9086, CAS номер: 51-48-9, годен до: 12.2022.

Для исследований использовали электронно-аналитические весы марки “Aoste Precision Balance” HS 2009 (КНР), спектрофотометр марки «Agilent Technologies Cary 60 UV-Vis» (США), поляриметр марки «Rudolph Research Analytical. Autopol-I» (США).

**Таблица 1** - Препараты содержащие левотироксин зарегистрированные Министерством Здравоохранения Азербайджанской Республики

N	Торговое название препарата	Действующее вещество и дозировка	Форма выпуска
1	Тезарин	Левотироксин натрия 25, 50 и 100 мкг	Таблетки
2	Эутирокс	Левотироксин натрия 25, 50, 75, 100, 125 и 150 мкг	Таблетки
3	L-тироксин Берлин Хеми	Левотироксин натрия 50, 75 и 100 мкг	Таблетки
4	T4	Левотироксин натрия 50 и 100 мкг	Таблетки
5	Тиреофарм	Левотироксин натрия 50 и 100 мкг	Таблетки

**Таблица 2** – Спектрофотометрическая характеристика левотироксина

N	Вещество	Растворитель	Длина волны соответствующая максимуму поглощения, нм	Источник литературы
1	Левотироксина йодид	8 М мочевины (рН 9.0)	325, 350 и 360	5
2	Левотироксин натрия	Реактив Фолина+натрия карбонат	730	6
3	Левотироксин	Метанол	230	7
4	Левотироксин натрия	Метанол-вода (50:50)	253	8
5	Левотироксин натрия	4-Аминантипирин	444	9



Рисунок 1 - Нанопрепарат

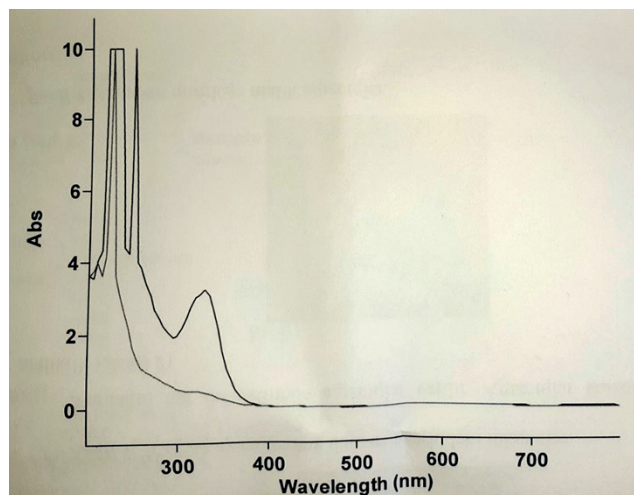


Рисунок 2 - Спектры поглощения левотироксина в стандартном образце (1) и нанопрепарате (2) (растворитель - 10%-ный раствор NaOH, толщина кюветы – 10 мм).

**Результаты.**

Были сняты спектры поглощения растворов стандартного образца левотироксина и нанопрепарата на спектрофотометре в интервале длин волн 190-800 нм, в кювете с толщиной слоя 1 см. В качестве растворителей использовались 1 М раствор соляной кислоты и 10%-ный раствор NaOH. В солянокислых растворах стандартного образца левотироксина и нанопрепарата максимумы поглощения не наблюдались, а щелочные растворы и стандартного образца левотироксина и нанопрепарата имели максимумы поглощения при длине волны 330 нм (рисунок). Это подтверждало, что, переход левотироксина из нанопрепарата наблюдается в щелочной среде.

Были установлены условия проведения спектрофотометрического определения левотироксина в нанопрепарата. Была разработана методика определения левотироксина в нанопрепарата.

Методика спектрофотометрического определения левотироксина в нанопрепарате:

Порошок содержимого 1 флакона нанопрепарата помещают в мерную колбу ёмкостью 25 мл, затем прибавляют 10 мл 10%-ного раствора NaOH, энергично перемешивают. Затем раствор нагревают на водяной бане при температуре 60 °С в течении 10 минут. Затем раствор охлаждают, фильтруют с использованием бумажного фильтра и доводят объём раствора до метки 10%-ным раствором NaOH. Определяют оптическую плотность полученного раствора при длине волны 330 нм, в кювете с толщиной слоя 1 см. В качестве раствора сравнения используют раствор стандартного образца левотироксина.

Методика приготовления раствора стандартного образца левотироксина:

Около 0.008 гр (точная масса) порошка стандартного образца левотироксина помещают в мерную колбу ёмкостью 25 мл, затем прибавляют 10 мл 10%-ного раствора NaOH, энергично перемешивают. Затем раствор нагревают на водяной бане при температуре 60 °С в течении 10 минут. Затем раствор охлаждают и доводят объём раствора до метки 10%-ным раствором NaOH.

Содержание левотироксина в нанопрепарате (X) в граммах вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D_{\text{пр}} \times a_{\text{ст}}}{D_{\text{ст}}}$$

где,

Dст – оптическая плотность раствора стандартного образца левотироксина;

Dпр – оптическая плотность раствора нанопрепарата; Aст – навеска стандартного образца левотироксина в граммах.

Средние значения оптических плотностей левотироксина в растворе стандартного образца и в нанопрепарате, а также содержания левотироксина в нанопрепарате (средние значения 6 измерений) представлены в таблице 3.

Проведённый анализ показывает что, переход левотироксина из нанопрепарата в раствор щелочи приблизительно составляет 13%. Так как полученные результаты были невысокими, статистическая обработка результатов количественного определения не проводилась.

Таблица 3 - Результаты спектрофотометрического определения левотироксина

N	Образец	Растворитель	Длина волны соответствующая максимуму поглощения, нм	Среднестатистическое значение оптической плотности	Среднее значение количественного определения
1	Стандартный образец левотироксина	10%-ный раствор NaOH	330 нм	3.2	-
2	Нанопрепарат	10%-ный раствор NaOH	330 нм	0.41	0001025 г

**Обсуждение.**

Приготовленные растворы (стандартный образец и нанопрепарат) также были определены поляриметрически. В обоих растворах было установлено наличие левовращающих изомеров. Что подтверждает переход левотироксина из нанопрепарата в раствор.

Полученные результаты показывают что, переход левотироксина из нанопрепарата в щелочную среду происходит медленно. Это и имеет значение в том понимании что нанопрепарат предлагается для пролонгированного действия левотироксина, и поэтому процесс высвобождения из нанопрепарата должно происходить

медленно. Для установления процесса высвобождения левотироксина из нанопрепарата необходимо провести соответствующие фармакокинетические исследования. После этих исследований можно будет подготовить окончательную методику количественного определения левотироксина в предлагаемом нанопрепарате.

**Выводы.**

1) Выявлена возможность количественного определения левотироксина в нанопрепарате спектрофотометрическим методом.

2) Полученные результаты показывают медленное высвобождения левотироксина из нанопрепарата.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1 <http://www.tariffcouncil.gov.az/documents/DVA.pdf>  
 2 Levothyroxine Sodium. Official monograph. The United States Pharmacopeia, 2010;USP 29;NF 24:1248-1249.  
 3 Левотироксин натрия, таблетки. Фармакопейная статья. Фармакопея Российской Федерации. 6.  
 4 Levothyroxine Sodium. EUROPEAN PHARMACOPOEIA 6.0. <http://www.uspbpep.com/ep60/levothyroxine%20sodium%200401e.pdf>  
 5 Sondack D.L. Spectrophotometric Determination of Thyroxine Iodine in Thyroid Preparations // Journal of Pharmaceutical Sciences, 1973;62:1342-1344.  
 6 Sekaran C.B., Rani A.P., Mahesh P.V.S., Kumar D.K., Kiran Y.S. Spectrophotometric determination of thyroxine sodium with Folin Ciocalteu reagent in bulk and pharmaceutical formulations // Biosciences, Biotechnology Research Asia, 2008;5(2):871-873.  
 7 Eide M.E. I –Thyroxine. Methods Development Team Industrial Hygiene Chemistry Division OSHA Salt Lake Technical Center Salt Lake City UT 84115-1802:10.  
 8 Gregorini A., Ruiz M.E., Volonte M.G. A Derivative UV spectrophotometry method for the determination of levothyroxine sodium in tablets // Journal of Analytical Chemistry, 2010;USP 29;NF 24:1248-1249.  
 9 Othman N.S., Hussein A.M. Determination of thyroxine by spectrophotometric and High Performance Liquid Chromatographic methods // International Journal of Recent Research and Review, 2018;XI:30-38.

**REFERENCES**

1 <http://www.tariffcouncil.gov.az/documents/DVA.pdf>  
 2 Levothyroxine Sodium. Official monograph. The United States Pharmacopeia, 2010, USP 29, NF 24, p.1248-1249.  
 3 Levotiroksin natriya, tabletki. Farmakopeinaya stat'ya. Farmakopeya Rossiiskoi Federatsii. 6.  
 4 Levothyroxine Sodium. EUROPEAN PHARMACOPOEIA 6.0. <http://www.uspbpep.com/ep60/levothyroxine%20sodium%200401e.pdf>  
 5 Sondack D.L. Spectrophotometric Determination of Thyroxine Iodine in Thyroid Preparations // Journal of Pharmaceutical Sciences, 1973;62:1342-1344.  
 6 Sekaran C.B., Rani A.P., Mahesh P.V.S., Kumar D.K., Kiran Y.S. Spectrophotometric determination of thyroxine sodium with Folin Ciocalteu reagent in bulk and pharmaceutical formulations // Biosciences, Biotechnology Research Asia, 2008;5(2):871-873.  
 7 Eide M.E. I –Thyroxine. Methods Development Team Industrial Hygiene Chemistry Division OSHA Salt Lake Technical Center Salt Lake City UT 84115-1802:10.  
 8 Gregorini A., Ruiz M.E., Volonte M.G. A Derivative UV spectrophotometry method for the determination of levothyroxine sodium in tablets // Journal of Analytical Chemistry, 2013;68:510-515.  
 9 Othman N.S., Hussein A.M. Determination of thyroxine by spectrophotometric and High Performance Liquid Chromatographic methods // International Journal of Recent Research and Review, 2018;XI:30-38.

**Авторлардың үлесі.** Барлық авторлар осы мақаланы жазуға тең дәрежеде қатысты.

**Мүдделер қақтығысы** – мәлімделген жоқ.

Бұл материал басқа басылымдарда жариялау үшін бұрын мәлімделмеген және басқа басылымдардың қарауына ұсынылмаған. Осы жұмысты жүргізу кезінде сыртқы ұйымдар мен медициналық өкілдіктердің қаржыландыруы жасалған жоқ.

**Қаржыландыру** жүргізілмеді.

**Вклад авторов.** Все авторы принимали равное участие при написании данной статьи.

**Конфликт интересов** – не заявлен.

Данный материал не был заявлен ранее, для публикации в других изданиях и не находится на рассмотрении другими издательствами.

При проведении данной работы не было финансирования сторонними организациями и медицинскими представительствами.

**Финансирование** – не проводилось.

**Authors' Contributions.** All authors participated equally in the writing of this article.

**No conflicts of interest** have been declared.

This material has not been previously submitted for publication in other publications and is not under consideration by other publishers.

There was no third-party funding or medical representation in the conduct of this work.

**Funding** - no funding was provided.

*Сведения об авторах*

**Мамедов Фуад Ильхам** оглы, доктор философии по фармации, доцент, Азербайджанский медицинский университет, кафедра фармацевтической химии, 2-й Учебный корпус АМУ, Азербайджан, г.Баку, ул. А.Гасымзаде, 14, тел: (+994) 507490626, e-mail: doctorfuad@yandex.ru

**Гумматов Азер Фарахим** оглы, доктор философии по медицине, ассистент, Азербайджанский медицинский университет, кафедра хирургических болезней I, Учебно-Хирургическая Клиника АМУ, Азербайджан, г.Баку, ул. Самеда Вургунга 167, тел: (+994) 503157173, e-mail: azer\_h\_30@mail.ru

**Ширинова Хатира Новрузали** кызы докторант, Азербайджанский медицинский университет, кафедра хирургических болезней I, Учебно-Хирургическая Клиника АМУ, Азербайджан, г.Баку, ул. Самеда Вургунга 167, тел: (+994) 507662395, e-mail: dr.xatireshirinova@hotmail.com