

УДК 543.062

## **The Determination of the Content of the *R*-isomer of Salbutamol Sulphate in a Solution by the UV-spectroscopy Method**

**Alexandra V. Sysoeva,  
Natalya G. Bazarnova, Dmitriy A. Karpitskiy,  
Petr S. Kuznetsov, Evgeny Yu. Kushnir,  
Nikolay I. Petrin, Alexander V. Sysoev\*,  
Marina Yu. Tcheprasova and Irina V. Mikushina**  
*Altay State University  
61 Lenin, Barnaul, 656049, Russia*

Received 11.08.2018, received in revised form 11.10.2018, accepted 26.11.2018

---

*A spectroscopic method for quantifying the content of the *R*-isomer of salbutamol sulfate in a methanol solution obtained by separation of the racemic salt by preparative supercritical fluid chromatography has been developed. The proposed method is characterized by express, high sensitivity, the ability to analyze very dilute solutions and simplicity of equipment.*

*Keywords: salbutamol sulfate, supercritical fluid chromatography, quantitative determination, *R*-isomer,  $\beta_2$ -agonist, UV-spectroscopy.*

---

Citation: Sysoeva A.V., Bazarnova N.G., Karpitskiy D.A., Kuznetsov P.S., Kushnir E.Yu., Petrin N.I., Sysoev A.V., Tcheprasova M.Yu., Mikushina I.V. The determination of the content of the *R*-isomer of salbutamol sulphate in a solution by the UV-spectroscopy method, J. Sib. Fed. Univ. Chem., 2018, 11(4), 500-506. DOI: 10.17516/1998-2836-0094.

---

© Siberian Federal University. All rights reserved

\* Corresponding author E-mail address: avs\_tur1987@mail.ru

## **Определение содержания R-изомера сульфата сальбутамола в растворе методом УФ-спектроскопии**

**А.В. Сысоева, Н.Г. Базарнова, Д.А. Карпицкий,  
П.С. Кузнецов, Е.Ю. Кушнир, Н.И. Петрин,  
А.В. Сысоев, М.Ю. Чепрасова, И.В. Микушина**  
*Алтайский государственный университет  
Россия, 656049, Барнаул, пр. Ленина, 61*

---

*Разработан спектроскопический метод количественного определения содержания R-изомера сульфата сальбутамола в метанольном растворе, полученного разделением рацемической соли методом препаративной сверхкритической флюидной хроматографии. Предлагаемый метод характеризуется экспрессностью, высокой чувствительностью, возможностью анализа очень разбавленных растворов и простотой аппаратного оформления.*

*Ключевые слова: сверхкритическая флюидная хроматография, количественное определение, сальбутамол сульфат, R-изомер,  $\beta_2$ -агонист, УФ-спектроскопия.*

---

### **Введение**

Бронхиальная астма (БА) является давно известным заболеванием, однако приобретение ею статуса одной из глобальных проблем здравоохранения произошло только в середине 1970-х гг. В настоящее время заболеваемость БА остается высокой, приводит к значительному снижению качества жизни пациентов и может стать причиной различной степени инвалидизации, а также летального исхода [1].

Официальная российская статистика демонстрирует предельно низкие показатели заболеваемости БА. Неслучайно в последние годы по инициативе Российского респираторного общества были проведены современные эпидемиологические исследования, методология которых основывалась на рекомендациях Европейского респираторного общества. Исходя из этих достоверных данных, можно утверждать, что проблема БА актуальна не только в России, но и за рубежом. Согласно статистическим данным Минздрава России за 2016 г., в нашей стране официально зарегистрировано 1.5 млн пациентов с БА [2]. Однако, по различным оценкам специалистов, численность больных БА как минимум в пять-шесть раз превышает данные официальной статистики и может составлять около 9 млн заболевших [3].

Эффективными лекарственными препаратами для терапии (БА) выступают агонисты  $\beta_2$ -адренорецепторов ( $\beta_2$ -адреномиметики). Одним из них является препарат сальбутамол, который впервые был синтезирован в 1968 г. британской фармацевтической компанией «Glaxo» [4]. Сальбутамол обладает рядом преимуществ по сравнению с неселективным  $\beta$ -агонистом-изопrenalином, ранее использовавшимся для терапии БА. К его главным достоинствам, обу-

словливающим его эффективное терапевтическое применение, следует отнести, прежде всего, небольшое количество побочных эффектов, оптимальную продолжительность действия, низкую токсичность, высокую селективность и эффективность [5].

Несмотря на явные преимущества данного препарата, весьма значительным недостатком признано то, что он представляет собой рацемическую смесь *R*- и *S*-оптических изомеров, причем  $\beta_2$ -адренергетической активностью обладает только *R*-изомер [6]. В результате проведенных клинических исследований американскими фармакологами и клиницистами установлено, что *R*-изомер салбутамола обладает в 4 раза более высокой бронхолитической активностью, чем *R,S*-салбутамол. Кроме того, терапия энантиомерно чистым препаратом приводит к снижению побочных эффектов, которое обусловлено уменьшением дозировки и, как следствие, общетоксической нагрузки на организм [6, 7].

Таким образом, разделение рацемической смеси салбутамола и внедрение в промышленное фармацевтическое производство препарата на основе *R*-изомера салбутамола являются актуальной задачей. В настоящее время на базе нашего университета реализуется проект «Создание высокотехнологичного производства жизненно важного лекарственного противостматического препарата «салбутамол» в аэрозольной форме на основе энантиомерно чистой, микронизированной субстанции, получаемой с помощью сверхкритических флюидных технологий» в рамках Постановления Правительства РФ № 218.

В ходе реализации проекта неизбежно возникает задача экспресс-определения содержания *R*-изомера сульфата салбутамола в растворах. Однако, несмотря на большое количество информации, связанной с исследованиями салбутамола, описание таких методов в доступной литературе в настоящее время отсутствует. В Государственной фармакопее Республики Беларусь описан потенциометрический метод количественного определения кристаллического салбутамола сульфата [8]. Попытка применить этот метод для определения сульфата салбутамола в метанольном растворе привела к неудовлетворительным результатам. При воспроизведении данного метода использовали 0.1 М раствор  $\text{HClO}_4$  в ледяной уксусной кислоте, стеклянные электроды, комбинированные «ЭСК-10601, ЭСК-10602», потенциометр «Анион 4100», раствор сульфата салбутамола в метаноле. Титрование проводили в среде ледяной уксусной кислоты. Погрешность полученных результатов составила около 6-10 %. При определении содержания сульфата салбутамола в коммерчески доступной фармацевтической субстанции в аналогичных условиях погрешность составила 0.02 %. Однако в производственных условиях возникает потребность контроля содержания сульфата салбутамола непосредственно в растворах.

Таким образом, целью настоящей работы является разработка способа определения содержания *R*-изомера сульфата салбутамола в растворах методом УФ-спектроскопии.

### Экспериментальная часть

В качестве объекта исследования мы использовали раствор *R*-энантиомера сульфата салбутамола в метаноле, полученный разделением рацемической смеси сульфата салбутамола методом сверхкритической флюидной хроматографии [9]. В качестве растворителя использовали метанол марки ХЧ. Электронные спектры поглощения исследуемых растворов регистрировали в координатах интенсивность ( $I$ ) – длина волны ( $\lambda$ ) на сканирующем спектрофотометре

UV-VisCary 60 фирмы Agilent Technologies (USA). Спектры записаны при температуре 20 °С в диапазоне волн 200-800 нм в кюветах из кварцевого стекла толщиной 10 мм. Калибровочные растворы готовили прямым растворением салбутамола сульфата в метаноле. Концентрацию растворов варьировали в диапазоне от  $2.48 \times 10^{-6}$  до  $1.26 \times 10^{-5}$  г/мл, аликвотные части отбирали при помощи градуированных пипеток.

### Построение калибровочного графика

Для построения калибровочного графика готовили серию из восьми растворов путем разбавления аликвот стандартного раствора салбутамола в метаноле. Полученные концентрации растворов:  $2.48 \times 10^{-6}$ ;  $3.8 \times 10^{-6}$ ;  $5.0 \times 10^{-6}$ ;  $6.2 \times 10^{-6}$ ;  $7.8 \times 10^{-6}$ ;  $9.0 \times 10^{-6}$ ;  $1.0 \times 10^{-5}$ ;  $1.26 \times 10^{-5}$ . Для приготовления стандартного раствора точную навеску сульфата салбутамола 0.0010 г растворяли в 50.00 мл метанола.

УФ-спектр сульфата салбутамола имеет три полосы с максимумами поглощения при 278, 227, 204 нм (рис. 1).

Для каждого из трех максимумов поглощения проводили построение калибровочных графиков с целью выявления наиболее четкой линейной зависимости интенсивности поглощения от концентрации салбутамола (рис. 2–4).

Исходя из коэффициента корреляции, наиболее четко выраженную линейную зависимость имеет максимум поглощения при длине волны 227 нм. Таким образом, для определения содержания *R*-изомера соли салбутамола используется калибровочный график, имеющий линейную зависимость  $y = 31538.2726 \times x - 0.0069$ .

### Определение содержания *R*-изомера сульфата салбутамола

Аликвоту метанольного раствора *R*-изомера сульфата салбутамола ( $V=0.3$  мл) переносили с помощью градуированной пипетки в мерную колбу объемом 25 мл. Раствор в колбе разбавляли метанолом до метки и тщательно перемешивали. Далее проводили измерение интенсивности поглощения. Кратность эксперимента равна 3.

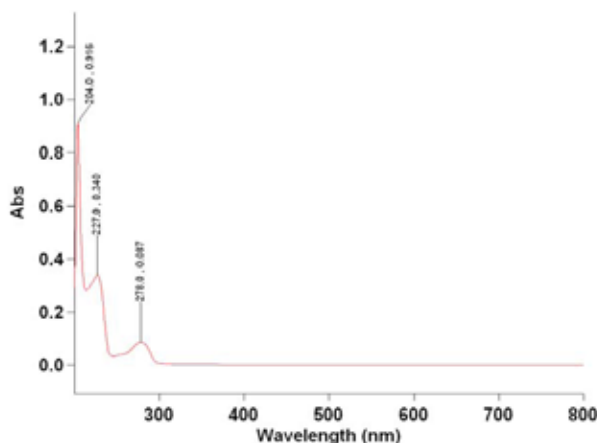


Рис. 1. УФ-спектр сульфата салбутамола

Fig. 1. UV-spectrum of salbutamol sulfate

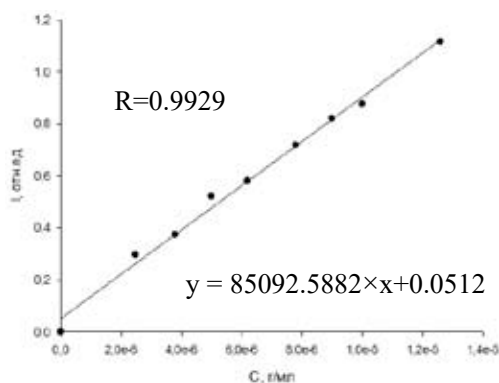


Рис. 2. Зависимость интенсивности от концентрации салбутамола сульфата при максимуме поглощения 278-279 нм

Fig. 2. The dependence of the intensity on the concentration of salbutamol sulfate at an absorption maximum of 278-279 nm

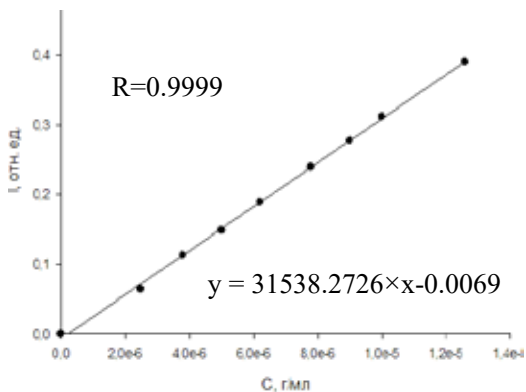


Рис. 3. Зависимость интенсивности от концентрации салбутамола сульфата при максимуме поглощения 227 нм

Fig. 3. The dependence of the intensity on the concentration of salbutamol sulfate at an absorption maximum of 227 nm

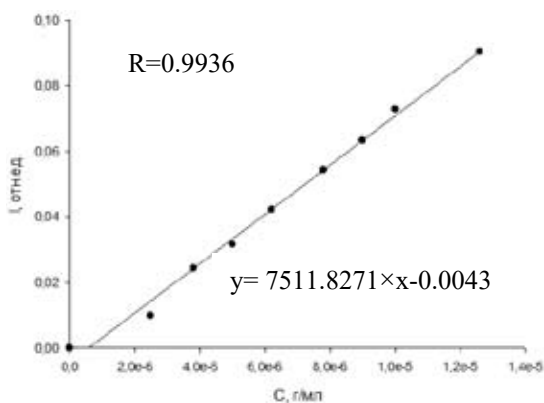


Рис. 4. Зависимость интенсивности от концентрации салбутамола сульфата при максимуме поглощения 203-204 нм

Fig. 4. The dependence of the intensity on the concentration of salbutamol sulfate at an absorption maximum of 203-204 nm

По калибровочному графику (рис. 2) находили концентрацию *R*-энантиомера сульфата салбутамола. Результаты измерений и статистическая обработка данных представлены в табл. 2.

### Заключение

Разработана аналитическая методика определения количественного содержания *R*-изомера сульфата салбутамола в метанольном растворе. Относительная погрешность определения составила 1.39 %, что является допустимым для УФ-спектроскопии. На основании полученных результатов можно сделать вывод о ее пригодности для экспресс-анализа концентрации растворов *R*-изомера сульфата салбутамола. Разработанный метод характеризуется экспрессно-

Таблица 1. Построение калибровочных графиков

Table 1. Making of the calibration curves

№	C, мг/мл	I при $\lambda=278-279$ нм, отн.ед.	I при $\lambda=227$ нм, отн.ед.	I при $\lambda=203-204$ нм, отн.ед.
1	$2.48 \times 10^{-6}$	0.0099	0.0640	0.2961
2	$3.8 \times 10^{-6}$	0.0243	0.1130	0.3742
3	$5.0 \times 10^{-6}$	0.0315	0.1481	0.5212
4	$6.2 \times 10^{-6}$	0.0422	0.1887	0.5802
5	$7.8 \times 10^{-6}$	0.0543	0.2391	0.7174
6	$9.0 \times 10^{-6}$	0.0633	0.2771	0.8205
7	$1.0 \times 10^{-5}$	0.0729	0.3118	0.8756
8	$1.26 \times 10^{-5}$	0.0904	0.3904	1.1156

Таблица 2. Результаты проведенных измерений и статистическая обработка данных

Table 2. The results of measurements and statistical data processing

№	I, отн.ед.	C, г/мл	C <sub>ср</sub> , г/мл	d <sup>2</sup>	$\sigma$ , г/мл	$\epsilon$ , г/мл	C <sub>ср</sub> ± $\epsilon$ , г/мл	$\delta$ , %
1	0.265	$8.621 \times 10^{-6}$		$1.792 \times 10^{-15}$				
2	0.268	$8.716 \times 10^{-6}$	$8.66 \times 10^{-6}$	$2.774 \times 10^{-15}$	$4.83 \times 10^{-8}$	$1.2 \times 10^{-7}$	$(8.7 \pm 0.1) \times 10^{-6}$	1.39
3	0.266	$8.653 \times 10^{-6}$		$1.068 \times 10^{-16}$				

стью, высокой чувствительностью, возможностью исследования очень разбавленных растворов и простотой аппаратного оформления.

***Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации, проект № 03.G25.31.0273.***

#### Список литературы

1. From the Global Strategy for Asthma Management and Prevention, Global Initiative for Asthma (GINA), 2015 // [www.ginasthma.org/](http://www.ginasthma.org/)
2. Статистический сборник Министерства здравоохранения Российской Федерации, 2016. Часть II. [Statistical compilation of the Ministry of Health of the Russian Federation, 2016. Part II. (In Russ.)].
3. [Pulmonology.ru/about/gard/totals.php](http://Pulmonology.ru/about/gard/totals.php).
4. Brittain R.T, Farmer J.B., Jack D., Martin L.E., Simpson W.T. Alpha-[(t-Butylamino)methyl]-4-hydroxy-m-xylene-alpha 1,alpha 3-diol (AH3365): a selective beta-adrenergic stimulant. *Nature* 1968. Vol. 219, P. 862–863.
5. Cullum V.A., Farmer J.B., Jack D., Levy G.P. Salbutamol: a new, selective beta-adrenoceptive receptor stimulant. *Br. J. Pharmacol* 1969. Vol. 35, P. 141–151.

6. Dhand R., Goode M., Reid R. Preferential pulmonary retention of (*S*) – albuterol after inhalation of racemic albuterol. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* 1999. Vol. 160, P. 1136–1141.

7. Handley D. The asthma-like pharmacology and toxicology of (*S*)-isomers of beta agonists. *J. Allergy Clin. Immunol* 1999. Vol. 104, P. 69–76.

8. Государственная фармакопея республики Беларусь. Том 3. Минск, 2009. 1345 с. [State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus. Volume 3. Minsk, 2009. 1345 p. (in Russ)].

9. Pokrovskiy O.I., Kayda A.S., Usovich O.I., Parenago O.O., Lunin V.V. Effect of additives on eremomycin sorbent selectivity in separation of salbutamol enantiomers using supercritical fluid chromatography. *Russian Journal of Physical Chemistry A* 2017. Vol. 91, P. 1999-2002.