

© КОЗЛОВА М.Б., ФРАНЦИЯНЦ Е.М., ДЖАБАРОВ Ф.Р., РОЗЕНКО Л.Я.,
КОЛЫЧЕВА Е.В.

УДК 612.4:611.21+611.329-006.6

**ТИРЕОИДНЫЙ И ГЛЮКОКОРТИКОИДНЫЙ СТАТУС БОЛЬНЫХ РА-
КОМ НОСОГЛОТКИ: ОСОБЕННОСТИ ДИНАМИКИ ПОД ВЛИЯНИЕМ
ХИМИОЛУЧЕВОЙ И ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ**

М.Б. Козлова, Е.М. Франциянц, Ф.Р. Джабаров, Л.Я. Розенко, Е.В. Колычева

Ростовский научно-исследовательский онкологический институт, директор –
д.м.н., проф. О.И. Кит.

***Резюме.** У больных раком носоглотки выявлены значительные нарушения тиреоидной и глюкокортикоидной функций. Проведена сравнительная оценка влияния на динамику гормональных показателей двух вариантов противоопухолевого лечения – разработанного метода аутомиелохимиолучевой терапии (АМХЛТ) и традиционной ДГТ. Лечение сопровождалось как однотипными при обоих вариантах изменениями уровней гормонов (снижением концентрации общего T_3 и ТТГ и, в ряде случаев, резкой гипокортизолемией), так и характерными только для АМХЛТ (нормализацией уровня свободного T_3 , более ранней нормализацией общего T_4 , менее выраженным снижением секреции ТТГ).*

***Ключевые слова:** рак носоглотки, гормоны, аутомиелохимиолучевая и лучевая терапия.*

Козлова Маргарита Борисовна – к.б.н., ст.н.с. гормональной лаборатории ФГБУ «РОСТОВСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ОНКОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ»; e-mail: super.gormon@yandex.ru.

Франциянц Елена Михайловна – д.б.н., проф., зав. гормональной лабораторией ФГБУ «РОСТОВСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ОНКОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ»; e-mail: super.gormon@yandex.ru.

Джабаров Фархад Расимович – д.м.н., зав. отделением лучевых методов лечения ФГБУ «РОСТОВСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ОНКОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ»; e-mail: D-Farik@yandex.ru.

По данным литературы, рак носоглотки в общей структуре онкологической патологии составляет 0,1-3%, а среди злокачественных новообразований глотки - 50%. Подавляющее большинство больных с данной локализацией процесса (90-95%), на момент первичного обращения, имеют III-IV стадию заболевания, а у 80% диагностируются регионарные метастазы [2,7].

В связи с анатомическими особенностями носоглотки лечебная тактика в отношении этой категории пациентов не включает хирургическое вмешательство, а ограничивает противоопухолевые мероприятия только лучевой или химиолучевой терапией. Это значительно повышает требования к их эффективности и делает актуальными как разработку новых схем и режимов лучевого воздействия и способов введения химиопрепаратов, так и детальное изучение особенностей их влияния на статус жизненно важных систем организма.

Развитие злокачественного процесса сопровождается разнообразными сбоями в функционировании всех регуляторных систем, в том числе и многих подсистем нейроэндокринной системы [3,4,6]. Проводимые противоопухолевые мероприятия, в свою очередь, также способны в разной степени изменять функциональное состояние отдельных эндокринных структур. Особое значение это имеет в тех случаях, когда подобное воздействие проявляется в отношении желез, продуцирующих биорегуляторы полифункционального назначения, каковыми являются, в частности, гормоны щитовидной железы и коры надпочечников, контролирующей состояние всех метаболических процессов в организме, обеспечивающие поддержание общего гомеостаза и развитие адаптационных реакций, обладающие многочисленными физиологическими эффектами, а

также способные влиять на такие связанные с опухолевым ростом события, как скорость пролиферации и апоптоз [1,8]. Системные нарушения уровня подобных биоактивных соединений могут быть одним из факторов, в определенной мере влияющих и на результаты лечения.

Рак носоглотки, в отличие от часто встречающихся локализаций злокачественного процесса, крайне недостаточно изучен как в отношении сопутствующего его развитию функционального статуса различных нейроэндокринных звеньев, так и в плане влияния лечебного процесса на динамику системных гормональных показателей. В то же время при локализации опухоли в носоглотке риск возникновения гормональных сбоев может возрасти в связи с близостью облучаемой области к центральным эндокринным структурам, регулирующим активность периферических звеньев нейроэндокринной системы.

На основании вышеизложенного целью работы было исследование у больных раком носоглотки состояния тиреоидной и глюкокортикоидной функций и сравнительная оценка влияния на гормональный статус больных разработанного в институте способа аутомиелохимиолучевой терапии (АМХЛТ) и традиционной дистанционной гамма-терапии (ДГТ).

Материалы и методы

Гормональный гомеостаз был исследован у 27 больных раком носоглотки обоего пола с III-IV стадией заболевания ($T_{1-4}N_{0-3}M_0$). Возрастная медиана составляла $59,7 \pm 2,1$ лет. По гистологической структуре опухоли были представлены преимущественно недифференцированным раком носоглоточного типа (59,3%).

Основным методом лечения для всех больных являлась методически аналогичная дистанционная гамматерапия в режиме ускоренного гиперфракционирования ($1,5\text{Гр} + 1,5\text{ Гр}$ на первом этапе и $1,3 + 1,3\text{ Гр}$ на втором этапе) с расщеплением курса облучения и 2х недельным перерывом до СОД = $65,0 \pm 5,2\text{ Гр}$ (ВДФ = 106,0 ед.) на зону первичного очага. На шейный л/коллектор облучение проводилось по одному сеансу в день РОД = 2,4 Гр в дни облучения носоглотки до СОД = 50-60 из Гр. 15 из наблюдаемых пациентов составили основную

группу, которым дополнительно к лучевой терапии проводилась аутомиелохимиотерапия [5]. Цисплатин (100 мг/м^2), инкубированный с аутокостномозговой взвесью, вводили внутривенно капельно до начала лучевого лечения и в середине планового двухнедельного перерыва. Параллельно больным проводилась полихимиотерапия с введением 5-фторурацила (1000 мг/м^2) в дни введения цисплатина, блеомицин (30 мг/м^2) вводили однократно во время планового перерыва. 12 больных были включены в контрольную группу, которая получала только ДГТ по аналогичной схеме.

Гормональные исследования проведены радиоиммунным методом с использованием стандартных тест-наборов фирмы «Иммунотех» (Чехия). В крови больных до начала лечения, на его этапах (после 1-го и 2-го этапа) и через 30 дней после лечения определяли содержание общего и свободного тироксина (T_4), общего и свободного трийодтиронина (T_3), тиреотропина (ТТГ) и кортизола. Контролем служила группа практически здоровых лиц аналогичного возраста и пола (23 человека).

Полученные результаты обработаны статистически параметрическим методом Стьюдента с применением компьютерной программы «Statistica v.6,0». Достоверность различий между сравниваемыми показателями оценивали по t-критерию. Нулевая гипотеза отвергалась при значениях $p < 0,05-0,001$; при значениях $p > 0,05$, но меньше 0,1 указывали на достоверную тенденцию к отличию показателей (T).

Результаты и обсуждение

Исследование исходных уровней циркулирующих в крови гормонов выявило у больных ряд значительных нарушений гормонального гомеостаза.

На центральном нейроэндокринном уровне развитие патологии сопровождалось существенным подавлением ТТГ-секретирующей функции гипофиза со статистически достоверным снижением концентрации ТТГ в крови в 1,7 раза (табл.1).

Одновременно с этим у больных было нарушено равновесие в системе общих T_4 – свободный T_4 за счет повышенного содержания общей фракции гор-

мона (в 1.3 раза) при выраженной недостаточности его биологически активной свободной формы (ниже нормы в 1.4 раза). Сбой физиологического равновесия обнаружен также в системе общих T_3 – свободный T_3 : в крови пациентов был значительно повышен (в 1.6 раза) уровень активной фракции T_3 на фоне нормально содержания общего T_3 . Учитывая, что все эффекты тиреоидных гормонов опосредуются в клетках-мишенях свободными формами, обнаруженные изменения их уровней могут вести к нарушению многочисленных процессов, находящихся под их регуляторным влиянием.

Таблица 1

Содержание тиреоидных гормонов и кортизола в крови больных раком носоглотки до лечения и на его этапах

Гормоны, ед.	Здоровые	Больные			
		До лечения	после 1 -го этапа лечения	после 2-го этапа лечения	через 1 месяц после лечения
T_4 общий, нмоль/л	124,67±5,30	161,67±15,92 ¹	117,25±13,61 ²	110,0±12,89 ²	120,0±8,67 ²
			165,0±16,17 ^{1,5}	126,67±21,88	-----
T_4 свободный, пмоль/л	17,0±1,39	11,88±0,72 ¹	8,88±1,78 ¹	11,50±1,29 ¹	16,0±2,60 ³
			9,95±0,92 ¹	10,67±0,67 ¹	-----
T_3 общий, нмоль/л	2,11±0,12	2,24±0,38	1,37±0,25 ^{1,2}	0,60±0,11 ^{1,2,3}	1,55±0,09 ^{1,2,4}
			1,40±0,22 ^{1,12}	1,37±0,20 ^{1,2,5}	-----
T_3 свободный, пмоль/л	3,90±0,29	6,35±0,78 ¹	3,87±0,51 ²	3,70±0,17 ²	5,70±0,40 ^{1,3,4}
			5,71±0,48 ^{1,5}	5,20±0,21 ^{1,5}	-----
ТТГ, мМЕ/л	1,81±0,19	1,07±0,25 ¹	0,73±0,13 ¹	1,16±0,07 ^{1,3}	1,08±0,12 ^{1,13}
			0,79±0,13 ¹	0,74±0,08 ^{1,5}	-----
Кортизол, нмоль/л	342,31±17,36	515,0±57,95 ¹	585,17±57,37 ¹ (n12)	580,0±49,11 ¹ (n12)	565,0±44,45 ¹
			48,0±6,11 ^{1,2} (n3)	51,60±7,17 ^{1,2} (n3)	49,51±5,16
			430,0±36,03 ^{1,5} (n8)	640,0±61,17 ^{1,3} (n8)	-----
			50,0±4,96 ^{1,2} (n4)	36,0±2,31 ^{1,2} (n4)	-----

Примечание: статистически достоверное отличие от показателя 1 – у здоровых людей; 2 – до начала лечения; 3 – после 1-го этапа лечения; 4 – после 2-го этапа лечения; 5 – после аналогичного этапа АМХЛТ. Т – тенденция к изменению. Больные после лечения: верхняя строка – показатели в основной группе, нижняя – в контрольной группе.

Реакция надпочечников на злокачественный процесс выражалась повышением кортизолпродуцирующей функции с полуторакратным увеличением уровня циркулирующего гормона. Известно, что активация коры надпочечников является одной из приспособительных реакций, поддерживающих резистентность организма. Однако длительное гиперактивное состояние может вес-

ти к истощению синтетических возможностей кортикоцитов и к развитию отрицательного влияния повышенной концентрации кортизола на активность иммунной системы, что имеет особое значение у больных с онкопатологией.

АМХЛТ вызывала у больных неоднозначные изменения гормонального гомеостаза. Так, уровень в крови общего T_4 уже после 1-го этапа полностью нормализовался и оставался на уровне физиологической нормы и после 2-го этапа, и через месяц после окончания лечения. Следует отметить, что снижение до нормы его исходно высокой концентрации происходило на фоне отсутствия достоверных изменений в содержании ТТГ, секреция которого на всех этапах исследования, особенно после 1-го этапа, была значительно подавлена. Это свидетельствует, вероятно, о том, что в изменении общего уровня циркулирующего T_4 у больных ведущая роль принадлежала не механизму отрицательной обратной связи, являющегося у здоровых людей основным фактором, регулирующим функциональные взаимоотношения в звене гипофиз – щитовидная железа. В отличие от общего T_4 , концентрация свободной формы гормона в процессе лечения оставалась, как и до его начала, сниженной, однако через 30 дней ее уровень в крови также нормализовался.

В динамике содержания общего T_3 под влиянием АМХЛТ была выявлена иная направленность – его исходно нормальная концентрация после 1-го курса лечения существенно снизилась (в 1,6 раза) и в еще большей степени (в 2,3 раза) она уменьшилась под влиянием дальнейшего лечебного воздействия. Через месяц после лечения уровень общего T_3 у больных основной группы имел направленность к повышению, однако его нормализации в течение этого срока не произошло. Поскольку главным источником циркулирующего T_3 являются различные ткани организма, в которых осуществляется дейодирование T_4 , снижение уровня в крови общего T_3 свидетельствует о выраженном ингибирующем влиянии данного вида лечения на тканевой метаболизм тироксина. Содержание свободного T_3 , напротив, снизилось до нормы после 1-го этапа и не подвергалось изменению после 2-го, однако спустя месяц вновь был отмечен его статистически достоверный рост.

Реакция на лечение кортизолобразующей функции коры надпочечников у пациентов основной группы имела резко различающийся индивидуальный характер. В подавляющем большинстве случаев (12) уровень кортизола на всех исследованных этапах достоверно превышал норму в среднем в 1,7 раза, однако у 3 больных он резко снижался уже после 1-го этапа лечения и по сравнению с исходным показателем (в 9,6 раза), и по сравнению со здоровыми людьми (в 7,1 раза). На низком уровне содержание кортизола в крови сохранялось у этих пациентов и в дальнейшем.

У больных контрольной группы исследования были проведены после 1-го и 2-го этапов лечения. Сравнение полученных данных с показателями у пациентов основной группы позволили выявить как однонаправленные, так и отличающиеся изменения гормонального статуса. Так, 2-й этап лечения при обоих вариантах терапии завершался нормализацией высокого фонового содержания в крови общего T_4 , сохранением исходно сниженного уровня свободного T_4 и повышенной у большинства обследованных кортизолобразующей функции надпочечников, а также снижением в результате лечения исходно нормальной концентрации общего T_3 и резким падением в ряде случаев уровня кортизола (у 3 больных основной группы и у 4 – контрольной). При этом у больных контрольной группы, в отличие от получивших комплексное лечение, была в большей степени снижена секреция ТТГ, в меньшей степени подавлялась продукция общего T_3 и не происходило нормализации уровня его свободной формы. АМХЛТ по сравнению с ДГТ сопровождалась более ранней (уже после 1-го этапа лечения) нормализацией исходно высокого уровня общего T_4 .

При оценке влияния обоих видов лечения на динамику гормональных показателей обратил на себя внимание факт неоднозначного изменения глюкокортикоидного статуса больных, проявившегося резким снижением у части пациентов уровня циркулирующего кортизола. В ходе дальнейшего наблюдения за 12 из пролеченных обоими видами терапии больных было установлено, что у 7 пациентов с возникшей на фоне лечения выраженной гипокортизолемией через 2-7 месяцев после его окончания отмечалась генерализация процесса, в то время как

у 5 больных, у которых концентрация гормона в ходе лечения оставалась повышенной, признаки прогрессирования заболевания отсутствовали в течение 14-25 месяцев. Полученные результаты свидетельствуют о том, что недостаточная кортизолпродуцирующая активность надпочечников является одним из значимых сбоев гормонального гомеостаза, сочетающихся, независимо от варианта противоопухолевой терапии, с меньшей продолжительностью бессимптомного периода. Это указывает на целесообразность включения в схему ведения больных раком носоглотки повторных определений в процессе лечения уровня кортизола в крови с целью его возможной своевременной коррекции, направленной на улучшение результатов лечения.

Таким образом, обобщая в целом результаты проведенного исследования, можно заключить, что далеко зашедшие стадии развития рака носоглотки сопряжены с существенными нарушениями у больных тиреоидной и глюкокортикоидной функций. АМХЛТ и ДГТ вызывали в основном однонаправленные изменения исходного гормонального статуса. Это позволило рассматривать лучевое воздействие в качестве основного повреждающего гормональный гомеостаз фактора, тогда как его сочетание с АМХТ наряду с более высокой эффективностью [5], способствовало развитию менее выраженных нарушений секреции ТТГ, нормализации содержания свободного T_3 и более ранней по сравнению с ДГТ нормализацией общего T_3 .

THYROID AND GLUCOCORTICOID STATUS IN PATIENTS WITH NASOPHARYNGEAL CANCER: FEATURES OF THE DYNAMICS UNDER THE INFLUENCE OF CHEMO- AND RADIOTHERAPY

M.B. Kozlova, E.M. Frantsiyants, F.R. Dgabarov, L.Ya. Rozenko, E.V. Kolycheva

Federal State Institution "Rostov Cancer Research Institute" Ministry of Health and Social Development of Russian Federation

Abstract. In patients with nasopharyngeal cancer were revealed significant alterations in thyroid and glucocorticoid functions. It was made a comparative evaluation of the impact on the dynamics of the hormonal parameters of two variants in anti-tumor treatment - developed method automielochemoradiation therapy (AMCRT) and traditional DHT . The treatment was accompanied by the same type in both cases changes in hormone levels (decrease of the concentration of total T_3 and TSH and, in some cases, a sharp hypocortizolemia), and typical only to AMCRT (normalization

of the free T3 level, an earlier normalization of the total T4, less pronounced decrease in the secretion of TSH .)

Key words: nasopharyngeal cancer, hormones, automielochemoradiation and radiation therapy

Литература

1. Абдувалиев А.А., Гильдиева М.С., Саатов Т.С. Тироксиновая регуляция пролиферации эстроген- и прогестеронотрицательных клеток рака молочной железы. // Рос. онкол. журн. – 2006. – №2. – С. 15-18.
2. Белоусова Н.В., Поддубный Б.К., Унгадзе Г.В. и др. Современная диагностика рака носоглотки // Соврем. онкол. – 2000. – Т. 2, № 3. – С. 3-11.
3. Берштейн Л.М. Онкоэндокринология: традиции, современность и перспективы. СПб.: Наука, 2004. – 343 с.
4. Козлова М.Б., Верещак М.А., Кашубина М.В. и др. Физиологически активные соединения и хирургический стресс: динамика содержания в крови больных с абдоминальными опухолями при анестезии на аутокрови // Актуальные вопросы теоретической, экспериментальной и клинической онкологии. М., 2006. – С. 249-254.
5. Колычева Е.В., Джабаров Ф.Р. Непосредственная эффективность химиолучевого лечения местно-распространенного рака носоглотки. //Сиб. онкол. журн. – 2009. – №1. – С.101-102.
6. Сидоренко Ю.С., Козлова М.Б., Айрапетов К.Г., Франциянц Е.М. Влияние метастатической болезни мозга на состояние тиреодной и глюкокортикоидной функций у онкологических больных // Вестн. Южн. Научн. Центра. – 2007. – Т.3. № 1. – С. 67-73.
7. Чиссов В.И., Старинский В.В., Ременник Л.В. Злокачественные новообразования в Российской Федерации в 2003 г. (Заболеваемость и смертность). – М., 2004. – С. 3-128.

8. Lissoni P., Messina G., Balestra A. et al. Efficacy of cancer chemotherapy in relation to synchronization of cortisol rhythm, immune status and psychospiritual profile in metastatic non-small cell lung cancer/ // *In vivo*. – 2008. – T. 22, № 2. – P. 257-262.

© ДОМЕ С.В.

УДК 543.552.054.1

ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ L-ТИРОКСИНА

С.В. Доме

Новосибирский государственный медицинский университет, ректор – д.м.н., проф. И.О. Маринкин, кафедра фармацевтической химии, зав. – д.фарм. н., проф. Е.А. Ивановская.

***Резюме.** Цель данной работы – разработка методики количественного определения L-тироксина в модельном растворе и индивидуальном препарате с помощью инверсионной вольтамперометрии. Для этого исследовали рабочие условия вольтамперометрического поведения L-тироксина, а именно оценили влияние различных факторов (потенциал накопления, время накопления, скорость развертки, природы фонового электролита) на потенциал и величину тока восстановления тироксина. Объект исследования – L-тироксин («Sigma», Италия). В результате выполнения работы определены рабочие характеристики количественного определения L-тироксина в модельном растворе и монопрепарате.*

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

Доме Сергей Владимирович – преподаватель каф. фармацевтической химии НГМУ; e-mail: dome_s@mail.ru.

L-тироксин – гормон щитовидной железы, который образуется под контролем тиреотропного гормона. Регулирует практически все процессы обмена, прямо или опосредованно. По химической структуре представляет

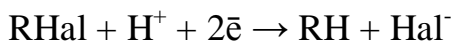
собой L-2-амино-3-[4-(3,5-дйод-4-гидрокси-фенокси)-3,5-дйодфенил] пропионовую кислоту.

На сегодняшний день в контроле качества лекарственного препарата L-тироксин (далее – тироксин) для количественной оценки его содержания используется высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) [3]. Этот метод является длительным и трудоемким (экстракция лекарственного вещества из таблетки – около двух часов) с применением таких ядовитых и токсичных веществ как ацетонитрил и метанол [1].

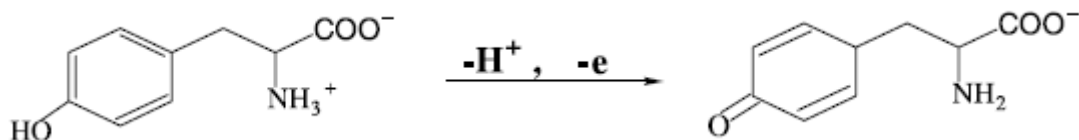
Кроме этого классического метода, в научной литературе встречаются упоминания об электрохимических способах определения тироксина в модельных растворах с использованием различных типов электродов (ртутный капающий, графитовый, модифицированный графитовый, стеклоуглеродный электроды). Однако эти разработки в большинстве своем обладают чисто научным характером, имеющим своей целью развитие физической электрохимии, изучение поведения L-тироксина при использовании того или иного электрода [2,3,4]. Методики, имеющие практическое значение, как правило, опираются на предварительную хроматографическую очистку пробы с применением как самых простых вариантов колоночной хроматографии, так и ВЭЖХ со спектральной детекцией.

В мире уже были попытки разработать методику количественного определения тироксина методами вольтамперометрии и полярографии. Имеются данные о количественном определении тироксина в моче катодной квадратно-волновой вольтамперометрией после предварительного выделения методом ВЭЖХ на ртутно-капающем электроде [5]. В этой же статье упоминается об использовании ионно-обменной хроматографии для разделения иодидов, тетраiodтиронины и трийодтиронины в фармацевтических препаратах с дальнейшим количественным определением методом дифференциально-импульсной полярографией. На электроде происходило восстановление тироксина, в

реакции участвовало восемь электронов и восемь протонов, йод в тироксине замещался на водород:



Китайские ученые в процессе разработки новых модифицированных цетилтриметиламмония бромидом вращающихся графитовых и стеклоуглеродных электродов на основе нанотехнологий количественно определяли тироксин в модельных растворах. В данном случае, тироксин взаимодействовал с цетилтриметиламмонием бромидом и отщеплял два атома иода, в реакции участвовали четыре электрона. М. Iwamoto et al. исследовали восстановление тироксина на серебряном электроде и пришли к выводу, что этот процесс протекает в одну стадию, в то время как на ртутно-капающем происходит в несколько стадий [6]. Необходимо отметить, что китайскими учеными был выяснен механизм окисления L-тирозина на модифицированных, но стеклоуглеродных электродах в процессе определения методом квадратно-волновой вольтамперометрией:



Цель исследования – разработка методики количественного определения L-тироксина в модельном растворе и индивидуальном препарате с помощью инверсионной вольтамперометрии.

Материалы и методы

Объект исследования – L-тироксин, относится к производным аминокислот и имеют следующую структуру L-2-амино-3-[4-(3,5-дидод-4-гидрокси-фенокси)-3,5-дидодфенил] пропионовая кислота. Молекулярная масса тироксина 776,87 г/моль.

Использовали вольтамперометрический анализатор ТА-4 (Россия) (ОАО НПП «Томьаналит», Томск, Россия). В двухэлектродной 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 2×10^{-1} мг/л готовили из субстанции L-тироксина («Sigma», Италия) растворением точной навески в 0,01 М NaOH. Стандартные растворы меньшей концентрации получали последовательным разбавлением исходного раствора.

Статистическую обработку результатов исследования проводили в соответствии с требованиями Государственной фармакопии (ГФ) [1].

Результаты и их обсуждение

Выбор ртутно-пленочного электрода в качестве индикаторного обусловлен способностью органических соединений образовывать со 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, NH_4NO_3 , KNO_3 , NaH_2PO_4 , Na_2SO_4 , Na_2CO_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 $-0,18\text{В}$ (рис. 1).

Рис. 1. Вольтамперограмма тироксина на фоне $0,05\text{ М}$ боратного буфера, $\text{pH}=10$, $E_n=-1,8\text{В}$, $c_{\text{тир}} (\times 10^{-8})\text{ М}$: 1 – 0; 2 – 2; 3 – 4.

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

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

Для определения оптимального времени электролиза, с целью получения более выраженного сигнала, была апробирована область значений данного показателя от 20 до 240 сек. Высота сигнала возрастала пропорционально времени пропускания до 150 сек, при этом достигалось максимальное значение величины тока растворения накопленных осадков с поверхности ртутно-пленочного электрода и хорошая воспроизводимость результатов. При времени накопления менее 150 сек величина тока растворения не достигала максимального значения, что снижало чувствительность определения исследуемого вещества. При увеличении времени накопления более 150 сек происходило насыщение осадка на электроде, аналитический сигнал тироксина искажался и затруднялась обработка вольтамперограмм (рис.3)

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 развёртки потенциала, равная 50 мВ/с, при замедлении или ускорении которой границы аналитического сигнала становились нечёткими, 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 сек; концентрация тироксина в ячейке – $2 \cdot 10^{-2}$ мг/л

Таким образом, в результате проведённых 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-найденно» при количественном определении тироксина в модельном растворе ($n=10, f=9, P=0,95; 0,05M$ боратный буфер, $E_n=-1,8B$)

Полученные условия методики определения тироксина в модельном растворе адаптировали на таблетки. Вначале необходимо избавиться от содержащихся в них вспомогательных веществ.

Для этого, согласно государственной фармакопее XI издания [3], 20 таблеток растирали в ступке. Полученный порошок растворяли в 200 мл 0,01 М раствора гидроксида натрия при перемешивании магнитной мешалкой в течение 10 мин. Раствор фильтровали, фильтрат переносили в мерную колбу на 1л. Доводили объем жидкости до 1 л 0,01 М раствором гидроксида натрия. Отбирали 1 мл полученного раствора, переносили в мерную колбу и доводили объем до 1 л (также раствором гидроксида натрия). Процедуру повторили еще раз. Из полученного раствора вновь отобрали 1 мл и перенесли в мерную колбу на 10 мл, объем довели до метки водой. Затем провели 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 2

Результаты теста «введено-найденно» количественного определения тироксина в препарате ($n=10, f=9, P=0,95; 0,05M$ боратный буфер, $E_n=-1,8B$)

Таблица 3

Расчет относительной ошибки методики при определении тироксина в лекарственном препарате.

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

Таким образом, экспериментально определены оптимальные условия электролиза: состав и рН фонового электролита; потенциал и время пропускания азота; границы и скорость развёртки потенциала. На основе разработанной методики подобраны оптимальные условия определения тироксина в лекарственном препарате.

VOLTAMMETRIC QUANTITATIVE DETERMINATION OF L-THYROXINE

S.V. Dome

Novosibirsk State Medical University

Abstract. The aim of this work - the development of method of quantitative determination of L-thyroxine in the model solution and individual preparation with the help of inversion voltammetry. For this purpose the operating conditions of voltammetric behavior of L-thyroxine were investigated, namely, evaluated the influence of various factors (potential of accumulation, the period of accumulation, sweep rate, the nature of the supporting electrolyte) on the potential and magnitude of the current of thyroxine recovery. The object of study - L-thyroxine («Sigma», Italy). As a result of the work were defined the characteristics of the quantitative determination of L-thyroxine in the model solution and monotherapy.

Key words: Voltammetry, L-thyroxine.

Литература

1. Государственная фармакопея СССР. XI издание. – М.: Медицина, 1987. – Вып. I. – Общие методы анализа. – 337 с.

2. Органическая электрохимия: Кн.1. / Под ред. М. Бейзера и Х. Лунда. – Пер. с англ. – М.: Химия, 1988. – 469 с.

3. Hernlindez L., Hernhdez P., Nieto O. Determination of Thyroxine in Urine by Cathodic Stripping Square-wave Voltammetry // *Analyst.* – 1994. – Vol. 119. – P.1579-1583.

4. Iwamoto M., Webber A., Osteryoung R.A. Cathodic Reduction of Thyroxine and Related Compounds on Silver // *Anal. Chem.* – 1984. – Vol.56. – P. 1202-1206.

5. Kazemifard A.G., Moore D.E., Aghazadeh A. Identification and quantitation of sodium-thyroxine and its degradation products by LC using electrochemical and MS detection // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* – 2001. – Vol. 25, № 5-6. – P. 697-711.

6. Wang F., Fei J., Hu S. The influence of cetyltrimethyl ammonium bromide on electrochemical properties of thyroxine reduction at carbon nanotubes modified electrode // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* – 2004. – Vol.39, № 1-2. – P. 95–101.