

19. Simultaneous estimation of drotaverine HCl and mefenamic acid in tablet dosage form using spectrophotometric method / C. Roosewelt, N. Harihrishnan, V. Gunasekaran, S. Chandrasekaran et all // Asian J. Chem. – 2010. – Vol. 22, № 2. – P. 843–849.
20. Some spectrophotometric methods for determination of certain antipyretic and antirheumatic drugs / A. S. Issa, Y. A. Beltagy, M. Gabr Kassem, H. G. Daabees // Talanta. – 1985. – Vol. 32, № 3. – P. 209–211.
21. The non-aqueous determination of selected anti-inflammatory agents using tetrabutylammonium hydroxide as titrant / O. Cakier, E. Kilie, O. Atkol, A. Kenar // J. Pharm. Biomed. Anal. – 1999. – Vol. 20. – P. 19–26.
22. United States Pharmacopeia National Formulary, USP 26, NF21 // Rockville. – 2003. – P. 1141–1142.
23. Zapała L. Studies on the distribution of N-phenylantranilic acid in two-phase system: Aromatic solvent – water / L. Zapała, J. Kalembkiewicz // Talanta. – 2006. – Vol. 69. – P. 601–607.
24. Zommer-Urbańska S. Spectrophotometric investigations on protolytic equilibria of mefenamic acid and determination by means of Fe(III) in methanol-aqueous media / S. Zommer-Urbańska, H. Bojarowicz // J. Pharm. Biomed. Anal. – 1986. – Vol. 4, № 4. – P. 475–481.
25. Zseltvay I. The extraction of aromatic carboxylic acids by the copper complex with curtin macrocyclic tetramine and its utilization for photometric determination of nonsteroidal anti-inflammatory drugs / I. Zseltvay, O. Zheltvay, V. Antonovich // Acta Pol. Pharm. – 2011. – Vol. 68, № 5. – P. 629–635.

Кормош Жолт, Матвійчук Оксана. Экстракционно-спектрофотометрическое определение мифенаминовой кислоты в фармацевтических препаратах. Установлены оптимальные условия спектрофотометрического определения мифенаминовой кислоты, которые основываются на ее способности образовывать ионный ассоциат с основным красителем 5-нитро-астрафоксином. Определение мифенаминовой кислоты можно проводить в растворе в концентрационных пределах 0,5–14,0 мкг/мл при pH 8. Разработанная экстракционно-спектрофотометрическая методика используется для определения мифенаминовой кислоты в фармацевтических формах.

Ключевые слова: спектрофотометрия, ионный ассоциат, мифенаминовая кислота.

Kormosh Zholt, Matviychuk Oksana. Extraction-Spectrophotometric Determination of Mefenamic acid in Pharmaceutical Preparations. The optimal conditions for the spectrophotometric determination of mefenamic acid, based on its ability to form an ion associate with the basic dye Astra phoxin. Determination of mefenamic acid can be performed in solution at concentration ranges of 0,5–14,0 mg/ml at pH 8. Developed extraction-spectrophotometric method for determination of mefenamic acid in pharmaceutical formulations.

Key words: Spectrophotometry, Ion Associate, Mefenamic Acid.

Східноєвропейський національний університет
імені Лесі Українки

Стаття надійшла до редколегії
01.02.2013 р.

УДК 543.42:546-328:661.746.34

**Ольга Запорожець
Катерина Поліщук
Євген Педченко**

Сорбційно-спектроскопічне визначення тартрату іммобілізованим на кремнеземі ксиленоловим оранжевим

Досліджено взаємодію цирконію (IV) із ксиленоловим оранжевим, модифікованим на поверхні функціоналізованого кремнезему, у присутності тартрату в розчині. Установлено оптимальні умови взаємодії цирконію (IV) із твердофазним реагентом та досліджено конкурентну реакцію цирконію (IV) із тартратом та твердофазним КО. На основі отриманих даних розроблено сорбційно-спектрофотометричну методику визначення тартрату в розчині з межею виявлення 9,0 мг/л. Лінійність градууювального графіка зберігається в діапазоні концентрацій тартрату 10–500 мг/л.

Ключові слова: твердофазна спектрофотометрія, тартрат, ксиленоловий оранжевий, цирконій.

Постановка наукової проблеми та її значення. Сполуки тартратів є важливими складниками багатьох лікарських препаратів: «Метопролол тартрат», «Буторфанол тартрат», «Ерготамін тартрат»,

«Толтеродину тартрат», «Антимоніл-натрію тартрат», «Рівастигмін гідроген тартрат» (запатентована назва – «Екселон»). Метопрололу тартрат – клінічно важливий лікарський засіб, який належить до бетаблокаторів, його вже понад 30 років ефективно використовують для лікування таких захворювань, як гіпертонія, порушення серцевого ритму, аритмії і стенокардії. Проте в разі високої концентрації метопрололу в організмі можуть спостерігатися артеріальна гіпотензія, брадикардія, гостра серцева недостатність, кардіогенний шок та втрата свідомості.

Оскільки тартрат не утворюється в організмі і не надходить до нього з продуктами харчування і питною водою, окрім деяких видів спиртних напоїв та овочів, контролюючи його вміст у біологічних рідинах, можна вимірювати концентрацію та вивчати фармакокінетику цих лікарських засобів. На сьогодні в лабораторіях України клінічний аналіз умісту тартрату в біологічних рідинах проводять лише на якісному рівні.

Аналіз даних літератури показує, що кількісне визначення тартрату в різних об'єктах здійснюють переважно титриметричними, спектрофотометричними та електрохімічними методами. Титриметричні методи [4; 6] є досить дешевими і простими у виконанні, але вони мають невисоку чутливість і вибірковість. Відомі спектрофотометричні методики [3; 6; 11; 13] характеризуються досить високою чутливістю, проте вони є недостатньо вибірковими щодо оксалату, цитрату та фосфату. Більш вибірковими є хроматографічні методи із спектрофотометричним [14; 9] та іншими способами детектування [7], проте вони передбачають використання токсичних органічних розчинників, застосування дорогого обладнання та залучення висококваліфікованого персоналу. Електрохімічні методи визначення тартрату [5; 10] характеризуються невисокою чутливістю, низькою точністю та відтворюваністю.

Отже, питання розроблення більш дешевих, екобезпечних, вибіркових, простих у виконанні та експресних методів, які придатні для цілей клінічного аналізу, залишається актуальним. Для вирішення цього завдання досить перспективним убачається поєднання сорбційного концентрування зі спектроскопічним детектуванням аналіту безпосередньо у фазі сорбенту.

Мета роботи – розробити твердофазний реагент для сорбційно-спектроскопічного визначення тартрату для клінічного аналізу.

У роботі [15] розглянуто можливість використання абсорбованого на кремнеземі фталексону метилтимолового синього (МТС) для підвищення чутливості і вибірковості визначення аніонів, зокрема фториду й оксалату. Визначення оксалату з іммобілізованим МТС ґрунтується на застосуванні конкурентної гетерофазної реакції між цирконілом у розчині й іммобілізованим МТС у присутності оксалату.

Відомо, що тартрат проявляє схожі до оксалату комплексоутворювальні властивості. Втім у літературі нема відомостей щодо застосування іммобілізованих фталексонів для визначення тартрату. Відомо, що реакція цирконілу із ксиленоловим оранжевим (КО) у розчині характеризується більшою контрастністю порівняно з МТС.

Як матрицю для іммобілізації КО використали орґано-мінеральний аніонообмінник на основі непоруватого кремнезему, модифікованого четвертинною амонійною сіллю (ЧАС) [1]. Згідно з [5], що стосується непоруватого кремнезему, то вплив поверхні на протолітичні властивості модифікатора є меншим порівняно із силікагелем. Для запобігання участі карбоксильної групи в закріпленні КО на поверхні і, відповідно, підвищення контрастності індикаторної реакції реагент закріплювали у формі його комплексної сполуки із Fe (III) з наступним елююванням Fe (III) трилоном Б та дистильованою водою згідно з [5].

Реагенти та апаратура. Як матрицю було обрано непоруватий високодисперсний кремнезем Силлард П (Калуш, Україна) з активними ОН-групами, який використовували без додаткової обробки.

У роботі використовували хлороформ і гексан для рідинної хроматографії (Merck), КО («ч.д.а.», Угорщина), тетрадециламонію нітрат із вмістом основної речовини 99 % виробництва НТК «Аналіз Х» Білоруського держуніверситету, хлоридну та нітратну кислоти марки «х.ч.». Гексаново-хлороформовий ($6,25 \cdot 10^{-4}$ моль/л) розчин ЧАС та водні розчини КО готували розчиненням відповідних наважок препаратів. Робочі розчини готували розбавленням вихідних перед проведенням експерименту. Використовували бідистильовану воду. Модифікацію непоруватого сорбенту ЧАС здійснювали у статичному режимі. Для цього брали наважку сорбенту масою 1,00 г, перемішували магнітною мішалкою із 40 мл хлороформ-гексанового (1:15) $6,25 \cdot 10^{-2}$ моль/л розчину ЧАС упродовж 15 хв. Отриманий сорбент (ЧАС-К3) висушували на повітрі. Максимальна ємність кремнезему становила 25 мкмоль/г.

Сорбцію комплексу КО з Fe (III) на непоруватому кремнеземі здійснювали в статичному режимі, як описано в [5].

Спектри поглинання розчинів реєстрували із застосуванням UNICO UV/Vis (США). Спектри поглинання твердих зразків реєстрували на Specord M-40 (Carl Zeiss Jena, Німеччина). Кислотність розчинів контролювали скляним електродом за допомогою іономіра універсального ЭВ-74 (Гомель, Білорусь).

Процедури. Сорбцію цирконію модифікованим сорбентом досліджували залежно від часу контакту фаз при сталій початковій концентрації металу. Для цього наважку сорбенту масою 0,050 г перемішували з 10,0 мл 50 мкмоль/л розчином $ZrOCl_2$ при рН = 1,6 упродовж 1–40 хв. Після цього сорбент відокремлювали центрифугуванням. Рівноважну концентрацію цирконію (IV) в розчині визначали спектрофотометрично з КО при рН = 1,6 ($\lambda = 580$ нм).

Для встановлення оптимального співвідношення об'єму розчину до маси сорбенту дослідження проводили так: наважку сорбенту масою 0,050 г перемішували з 5–500 мл розчину із вмістом $ZrOCl_2$ 0,5 мкмоль/проба з рН = 1,6 упродовж 10 хв. Сорбент відокремлювали центрифугуванням, рівноважну концентрацію цирконію (IV) в розчині визначали спектрофотометрично, як указано вище.

Виклад основного матеріалу й обґрунтування отриманих результатів дослідження. Для встановлення оптимальних умов взаємодії цирконію (IV) з модифікованим сорбентом вивчали зміну властивостей системи залежно від зміни часу контакту фаз та співвідношення об'єму розчину до маси сорбенту.

На рисунку 1 наведено залежність сорбції цирконію (IV) модифікованим сорбентом залежно від часу контакту фаз. Видно, що кількісне вилучення $\geq 95\%$ цирконію (IV) досягається через 10 хв перемішування суспензії. Тому подальші дослідження проводили, реєструючи властивості системи після перемішування реакційної суміші впродовж 10 хв.

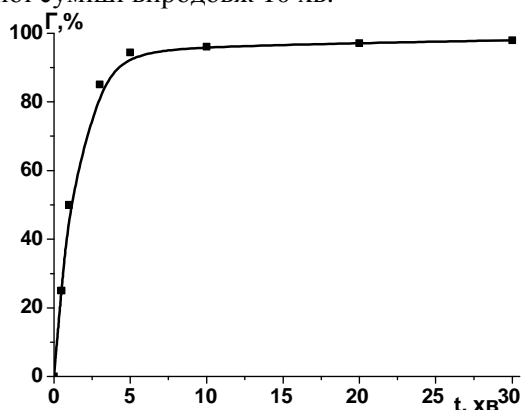


Рис. 1. Залежність сорбції цирконію (IV) модифікованим сорбентом від часу контакту фаз
 $C_{Zr(IV)} = 50$ мкмоль/л; рН = 1,6; $V/m = 100$ мл/г; $T = 293 \pm 1$ К

На рисунку 2 наведено сорбцію цирконію (IV) модифікованим сорбентом залежно від співвідношення об'єму розчину до маси сорбенту.

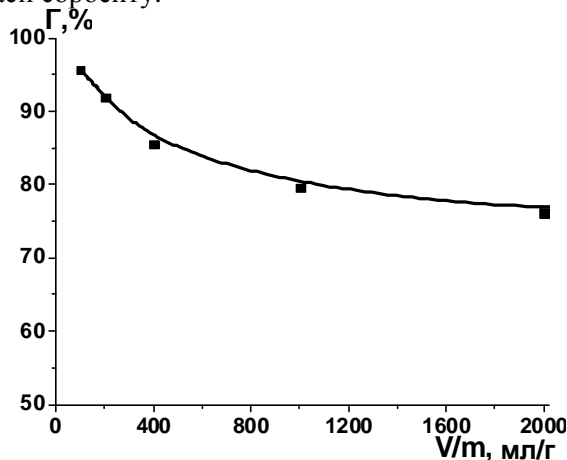


Рис. 2. Сорбція цирконію (IV) залежно від співвідношення V/m
 при рН = 1,6; $C_{Zr(IV)} = 0,5$ мкмоль/проба; $t = 10$ хв; $T = 293 \pm 1$ К

Видно, що максимальний ступінь вилучення цирконію (IV) спостерігається при співвідношенні $V/m \leq 100\text{--}200$ мл/г. Подальші дослідження проводили при співвідношенні $V/m = 200$ мл/г.

З огляду на це, подальші дослідження проводили за умов: $\text{pH} = 1,6$; $t = 10$ хв; $V/m = 200$ мл/г. Із літератури [5; 15] відомо, що контрастність реакції комплексоутворення іммобілізованого КО при $\text{pH} > 2$ знижується через появу у спектрі реагента плеча при 540–600 нм, що перекривається із смугами поглинання комплексної сполуки (540 нм). До того ж, при $\text{pH} > 2,5$ у розчині утворюється повністю гідролізована форма $\text{Zr}(\text{OH})_4$.

За цих умов було досліджено світлопоглинання модифікованого сорбенту, обробленого розчином цирконію (IV) залежно від концентрації тартрату в діапазоні 0–500 мг/л. Дослід проводили при сталій концентрації цирконію 50 мкмоль/л, збільшуючи концентрацію тартрату в розчині. З рисунка 3 видно, що світлопоглинання сорбенту при $\lambda = 540$ нм зменшується зі зростанням вмісту тартрату в розчині. З діаграм, наведених на рисунку 4 (а, б), видно, що за умов $\text{pH} = 1,6$ доміантною формою КО є моноаніонна форма H_5R^- , а тартратної кислоти – недисоційована форма $\text{H}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6$. Враховуючи, що за цих умов цирконій (IV) у розбавленому розчині існує у формі $\text{Zr}(\text{OH})_3^+$ ($\text{pK}_1 = 14,58$; $\text{pK}_{1,2} = 29,38$; $\text{pK}_{1,2,3} = 43,72$; $\text{pK}_{1,2,3,4} = 57,85$) [2], схему конкурентної реакції на межі розділу фаз можна представити такими рівняннями:

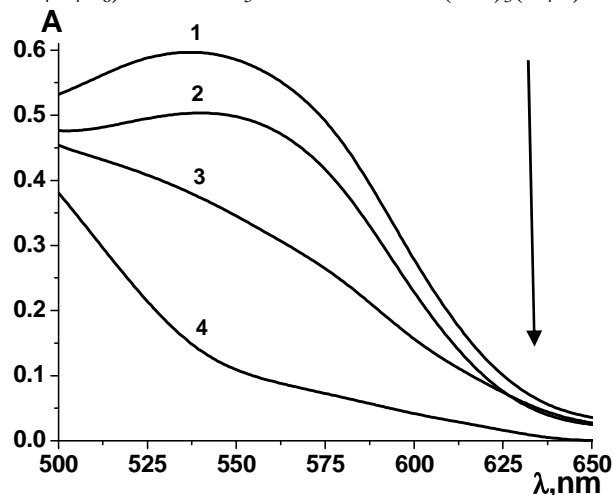
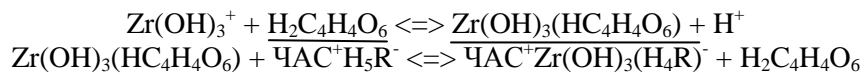


Рис. 3. Спектри поглинання модифікованого сорбенту, обробленого розчином ZrOCl_2 за відсутності (1) та в присутності тартрату (2–4) $a_{\text{КО}} = 3,5$ мкмоль/г; $\text{pH} = 1,6$; $C_{\text{Zr}} = 50$ мкмоль/л; $V/m = 200$ мг/л; $C_{\text{тартрату}}$ 100 (2); 240 (3); 500 (4) мг/л

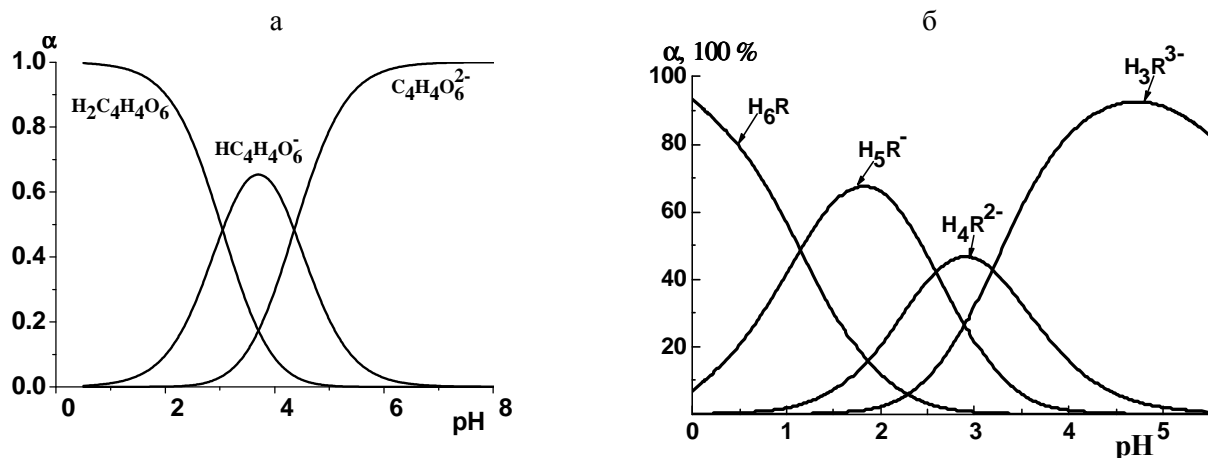


Рис. 4. Розподіл залежно від pH розчину протолітичних форм КО (а) та протолітичних форм тартратної кислоти (б), константи дисоціації КО: $\text{pK}_1 = 1,15$; $\text{pK}_2 = 2,58$; $\text{pK}_3 = 3,23$; $\text{pK}_4 = 6,22$ [14] (а) та тартратної кислоти: $\text{pK}_1 = 3,04$; $\text{pK}_2 = 4,37$ [15] (б)

Отримані дані було покладено в основу розробки методики твердофазно-спектрофотометричного визначення тартрату в розчині. Рівняння градувального графіка (ГГ) $\Delta A = f(C_{\text{тартрату}})$ має вигляд:

$$\Delta A_{540} = (0,605 \pm 0,003) + (-9,6 \cdot 10^{-4} \pm 0,2 \cdot 10^{-4}) \cdot C_{\text{тартрату}} \text{ (мг/л)}, R^2 = 0,989.$$

Межа виявлення (МВ), розрахована за 3s-критерієм, становить 9,0 мг/л. Діапазон лінійності ГГ зберігається в межах 10–500 мг/л тартрату.

Перевірку метрологічних характеристик здійснювали через аналіз робочих розчинів методом «уведено–знайдено». Результати, наведені в таблиці 1, свідчать, що ця методика характеризується задовільною точністю та відтворюваністю (відносне стандартне відхилення не перевищує 5 %).

Таблиця 1

Результати визначення вмісту тартрату в робочих розчинах (n = 3; P = 0,95)

№ з/п	Введено, мг/л	Знайдено, мг/л	s _r
1	100	115 ± 14	0,05
2	300	317 ± 17	0,02

У таблиці 2 розроблену методику зівставлено з відомими з літератури методами визначення тартрату. Видно, що методика за чутливістю поступається спектрофотометричним методикам, однак є кращою за електрохімічні і диференційно-спектрофотометричну. На відміну від більшості відомих на сьогодні методик, розроблена методика є простішою у виконанні, дешевшою та характеризується задовільною відтворюваністю.

Таблиця 2

Характеристики деяких методів визначення тартрату

Метод детектування	Індикаторна система (умови)	Межа виявлення, мг/л	Діапазон лінійності, мг/л	Література
Спектрофотометричний	Розчин перманганату калію	1,714	4–8	13
Диференційно-спектрофотометричний	Розчин ванадату амонію	Не вказано	20–50	3
Спектрофотометричний	Розчин комплексу Fe (III) з 5-нітросаліцилатом	Не вказано	2–50	11
Іонна хроматографія з кондуктометричним титруванням	Іоннообмінна колонка із фазою полівініловий спирт із групами четвертинного амонію	0,1–0,3	10–50	7
Вольтамперометричний	Фосфатний буфер, електрод із напиленням оксиду алюмінію	14,13	17,5–200	10
Капілярного електрофорезу	Капіляр із поліакриламідним покриттям, буфер із високою іонною силою	10	Не вказано	8
Твердофазно-спектрофотометричний	Розчин Zr(IV) – кремнезем, модифікований ЧАС і КО	9	10–500	Розроблена методика

Висновки та перспективи подальших досліджень. Розроблена методика характеризується експресністю, екобезпечністю, простотою у виконанні та задовільною відтворюваністю. Чутливість (МВ = 9,0 мг/л) розробленого твердофазного реагенту є достатньою для визначення тартрату у фармпрепаратах. Отже, розроблена методика може бути перспективною для застосування в клінічному аналізі ліків, зокрема аналізі біологічних рідин, вивченні фармакокінетики лікарських препаратів, які містять у своєму складі тартрат як аніони, оскільки добова доза «Метопрололу тартрату», згідно з інструкцією, становить 100–200 мг.

Джерела та література

1. Запорожец О. А. Имобилизация аналитических реагентов на поверхности носителей / О. А. Запорожец, О. М. Гавер, В. В. Сухан // *Успехи химии*. – 1997. – Т. 66, № 7. – С. 702–712.
2. Лурье Ю. Ю. Справочник по аналитической химии / Ю. Ю. Лурье. – М.: Химия, 1989. – 448 с.
3. Способ определения содержания винной кислоты и ее солей: – Патент Российской Федерации. № 2183321; опубл. 10.06.2002; Заявитель и патентообладатель: Открытое акционер. о-во «Лианозовский молочный комбинат» / Д. П. Уфимкин; Д. Н. Коваленко.
4. Уильямс У. Дж. Определение анионов / У. Дж. Уильямс. – М.: Химия, 1982.
5. Цюкало Л. Є. Імобілізовані на кремнеземі хелати фталексонів – нові твердофазні аналітичні реагенти / Л. Є. Цюкало, О. Б. Воловенко, О. А. Запорожець // *Наук. зап. НАУКМА. Хімічні науки і технології*. – 2005. – Т. 42. – С. 37–40.
6. Basavaiah K. Titrimetric and Spectrophotometric Determination of Metoprolol tartrate in Pharmaceuticals Using N-Bromosuccinimide / K. Basavaiah, B. C. Somashekar // *E-Journal of Chemistry*. – 2007. – Vol. 4, No. 1. – P. 117–127.
7. Deshpande G. R. Quantitative determination of tartaric acid in tolterodine tartrate by ion chromatography using conductivity detection / G. R. Deshpande, B. M. Rao, N. Someswararao // *Rasayan J. Chem.* – 2009. – Vol. 2, No. 1. – P. 101–107.
8. Detecting tartrate additives in foods: Evaluating the use of capillary electrophoresis / P. J. Vickers, J. Braybrooka, P. Lawrencea, K. Graya // *Journal of Food Composition and Analysis*. – 2007. – Vol. 20, No. 3–4. – P. 252–256.
9. He J. Z. Comparison of adsorption of phosphate, tartrate, and oxalate on hydroxy aluminum montmorillonite complexes / J. Z. He, A. de Cristofaro, A. Violante // *Clays and Clay Minerals*. – 1999. – Vol. 47, No. 2. – P. 226–233.
10. Saadet D. Voltammetric Behaviour of Rivastigmine Hydrogen Tartrate and its Determination in Capsule Dosage Form / Saadet Dermiş // *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*. – 2006. – Vol. 26, No. 1. – P. 1–12.
11. Sang L. K. Spectrophotometric determination of some organic acids with ferric 5-nitrosalicylate complex / L. K. Sang, L. D. Woon, H. J. Young // *Analyt. Chem.* – 1968. – Vol. 40. – P. 2049–2052.
12. Stability constants of metal-ion complexes. Part B. Organic ligands / ed. D. D. Perrin. – Oxford ; N. Y. ; Toronto-Sidney ; Paris ; Frankfurt : Pergamon Press, 1988. – 1263 p.
13. UV-VIS spectrophotometric assay of metoprolol / M. Badulescu, D. Balalau, I. Cacovean, M. Ilie et all // *Farmacia*. – 2008. – Vol. 56. – P. 4.
14. Vujic Z. Densitometric determination of metoprolol tartrate in pharmaceutical dosage forms / Z. Vujic, D. Radulovic, D. Agbaba // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. – 1997. – Vol. 15, № 5. – P. 581–585.
15. Zaporozhets O. A. Determination of fluoride and oxalate using the indicator reaction of Zr(IV) with methylthymol blue adsorbed on silica gel / O. A. Zaporozhets, L. Ye. Tsyukalo // *Anal. Chim. Acta*. – 2007. – Vol. 597. – P. 171–177.

Запорожец Ольга, Полищук Екатерина, Педченко Евгений. Сорбционно-спектроскопическое определение тартрата иммобилизованным на кремнеземе ксиленоловым оранжевым. Исследовано взаимодействие циркония (IV) с ксиленоловым оранжевым (КО), модифицированным на поверхность функционализированного кремнезема, в присутствии тартрата в растворе. Установлено оптимальные условия взаимодействия циркония (IV) с твердофазным реагентом и исследовано конкурентную реакцию циркония (IV) с тартратом и твердофазным реагентом КО. Согласно полученным данным разработано сорбционно-спектроскопическую методику определения тартрата в растворе с пределом обнаружения 9,0 мг/л. Линейность градуировочного графика сохраняется в диапазоне концентраций тартрата 10–500 мг/л.

Ключевые слова: твердофазная спектрофотометрия, тартрат, ксиленоловый оранжевый, цирконий.

Zaporozhets Olga, Polishchuk Katerina, Pedchenko Yevgen. Xylenol Orange Immobilized on Silica for Sorption-spectroscopic Determination of Tartrate. It was investigated interaction between Zirconium (IV) and Xylenol orange (XO), that was adsorbed on functionalized silica surface, in the presence of tartrate in solution. It was determined optimal conditions interaction between Zirconium (IV) and solid phase reagent. It was investigated competitive reaction between Zirconium (IV) and tartrate and solid phase XO. Upon received data was developed sorption-spectrophotometric technique for determination of tartrate in solution with a detection limit of 9,0 mg/l. The calibration graph was linear in the range 10 to 500 mg/l of tartrate.

Key words: Solid Phase Spectrophotometric, Tartrate, Xylenol Orange, Zirconium.

Київський національний університет
імені Тараса Шевченка

Стаття надійшла до редколегії
06.09.2013 р.