

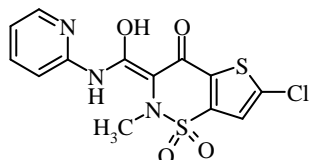
УДК 543.422.3:543.645.9

<sup>1</sup>Кормош Ж.О., к.х.н., проф.; <sup>1</sup>Матвійчук О.Ю., асп.; <sup>2,3</sup>Базель Я.Р., д.х.н., проф.

## СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ЛОРНОКСИКАМУ У ЛІКАРСЬКИХ ФОРМАХ

<sup>1</sup>Східноєвропейський національний університет імені Лесі Українки,  
43021, м. Луцьк, пр. Воли 13, e-mail: zholt-1971@yandex.ru<sup>2</sup>Державний вищий навчальний заклад «Ужгородський національний університет»,  
88000, м. Ужгород, вул. Підгірна 46<sup>3</sup>Університет Павла Йозефа Шафарика в Кошиці  
04154, Словацька республіка, м. Кошиці, вул. Мойзесова 11

Лорноксикам (6-хлоро-4-гідрокси-2-метил-N-2-піридил-2Н-тіено[2,3-е][1,2]-тіозин-3-карбоксамід 1,1-діоксид) (Лор)



поширений у медицині як нестероїдний протизапальний препарат класу оксикамів і володіє знеболюючою, протизапальною та жарознижувальною дією. Відрізняється від інших препаратів цієї групи більш вираженими протизапальними властивостями, зумовленими посиленням інгібування синтезу простагландинів та швидкістю напіввиведення з організму [1, 2]. Зустрічається у фармацевті під торговою назвою Ксефокам. Це жовтий чи світло-жовтий порошок, погано розчинний у воді та спирті, добре розчиняється у лугах. Температура плавлення кристалічного лорноксикаму рівна 216-219°C [3].

Більшість відомих методик визначення лорноксикаму в препаратах та біологічних рідинах належать до хроматографічних [4-14], спектрофотометричних [15-18] та вольтамперометричних [19, 20] методів. Відомі спектрофотометричні методики визначення лорноксикаму вимагають проводити визначення у короткохвильовій області 257-283 нм, що є незручним у зв'язку з інтенсивним поглинанням в цій області спектра багатьох органічних речовин.

Встановлено, що лорноксикам із астрафлосином (АФ) утворює сполуку типу іонних асоціатів (ІА), що екстрагується із

водного розчину органічними екстрагентами. Екстракт ІА має стійке яскраве забарвлення, і має високе значення молярного коефіцієнту поглинання у видимій області. Це може бути використано для екстракційно-фотометричного визначення лорноксикаму.

Метою даної роботи є розробка нової ефективної методики екстракційно-фотометричного визначення лорноксикаму та проведення її апробування на фармацевтичних препаратах.

### Експериментальна частина

У роботі використовували реактиви кваліфікації «чда», «хч» та «осч».

Вихідний 1·10<sup>-2</sup> моль/л стандартний розчин лорноксикаму готували шляхом розчинення точної наважки препарату у мінімальній кількості 0,2 моль/л NaOH із наступним додаванням бідистильованої води. Робочі розчини Лор 1·10<sup>-3</sup>–1·10<sup>-4</sup> моль/л готували послідовним розбавленням вихідного розчину бідистильованою водою в день експерименту. Кислотність середовища регулювали за допомогою універсального буферного розчину.

Водний 1·10<sup>-3</sup> моль/л розчин астрафлосину готували шляхом розчинення точної наважки хлоридної солі основного барвника у бідистильованій воді, а розчини з меншою концентрацією – послідовним розведенням вихідного розчину АФ в день експерименту. Екстракцію проводили при температурі 18-20°C в пробірках з притертими корками.

Вимірювання проводились на спектрофотометрі СФ-2000 (ЛОМО, Росія), товщина кювет, які використовувались для аналізу, становить 0,3 см. Значення рН досліджуваних розчинів контролювали з допомогою іонміра АІ-123 (MLsoft Instruments, Україна).

Як екстрагент застосовували суміш органічних розчинників ізооктану еталонного виробництва Halterman (Німеччина), та дихлоретану виробництва Merck (Німеччина) марки «осч».

### Результати та їх обговорення

Відомо, що необхідною умовою утворення й екстракції іонних асоціатів (ІА) є одночасне перебування у розчині однозарядної катіонної форми барвника та аніонної форми досліджуваної речовини [21]. Оскільки лорноксикам у своїй будові містить гідроксильну і аміногрупи, то він проявляє амфотерні властивості, й залежно від рН розчину може перебувати у чотирьох різних формах: катіонній  $\text{ЛорН}_2^+$ , амфотерній  $\text{ЛорН}^+$ , нейтральній  $\text{ЛорН}^0$  та аніонній  $\text{Лор}^-$ .

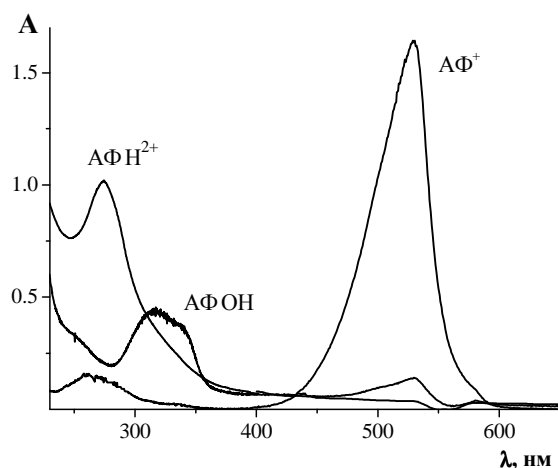


Рис. 1. Спектри поглинання різних форм Астрафлосину.

Астрафлосин залежно від кислотності середовища також може існувати в різних формах. Однозарядна іонна форма  $(\text{АФ})^+$  має максимум поглинання при 538 нм, протонувана  $(\text{АФН})^{2+}$  – 325 нм, а гідролізована  $(\text{АФОН})$  при 345 нм. При чому молярний коефіцієнт поглинання однозарядної форми значно вищий за інші форми, максимуми поглинання яких зміщені у короткохвильову область (рис. 1).

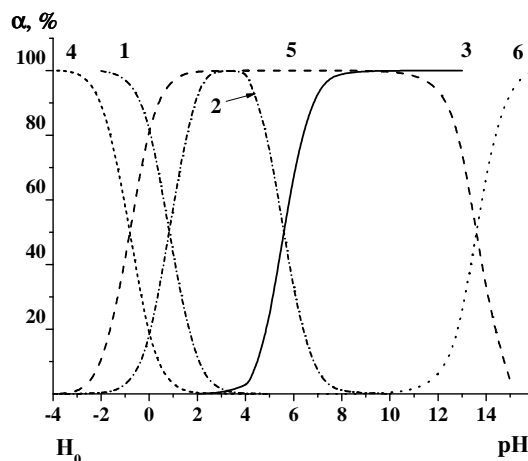
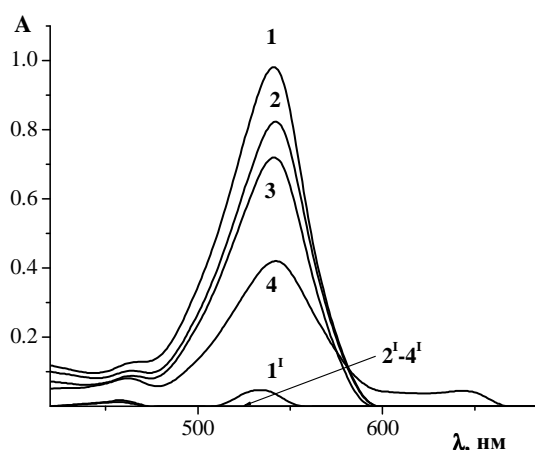


Рис. 2. Діаграма виходу форм лорноксикаму та астрафлосину залежно від кислотності середовища: 1 –  $\text{ЛорН}_2^+$ ; 2 –  $\text{ЛорН}^+$ ; 3 –  $\text{Лор}^-$ ; 4 –  $(\text{АФН})^{2+}$ ; 5 –  $(\text{АФ})^+$ ; 6 –  $(\text{АФОН})$ .

Відповідні константи протолізу для АФ становлять  $\text{pK}_1 = -1,81$  та  $\text{pK}_2 = 13,6$  [22], а для лорноксикаму  $\text{pK}_1 = 0,85$  та  $\text{pK}_a = 5,6$  [23]. На основі цих відомостей можна розрахувати діаграму виходу, що показує інтервал домінування різних іонних форм компонентів розчину залежно від рН середовища (рис. 2). Отримані діаграми дозволяють прогнозувати найбільш імовірний інтервал рН утворення іонного асоціату лорноксикаму із Астрафлосином.

Встановлено, що максимум поглинання екстракту ІА  $(\text{Лор}^-)(\text{АФ}^+)$  спостерігається при довжині хвилі 541,0 нм (рис. 3). Незначне зміщення максимуму поглинання екстрактів у порівнянні із водним розчином чистого барвника можна пояснити ефектом сольватохромії.

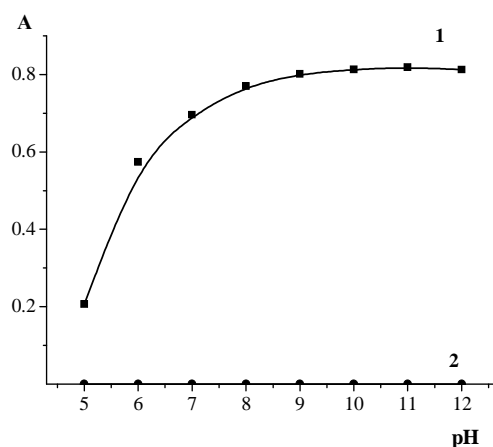
Показано, що інертні органічні розчинники погано екстрагують ІА  $(\text{Лор}^-)(\text{АФ}^+)$ , а використання активного екстрагента призводить до екстрагування чистої солі барвника. Для того, щоб покращити вилучення іонного асоціату, і при цьому мінімізувати поглинання холостого розчину, ми вивчали можливість застосування суміші екстрагентів та вплив їх складу на вилучення ІА. Під час експерименту застосовували суміш двох органічних реагентів: неполярного ізооктану (ІО) та полярного дихлоретану (ДХЕ) з різним об'ємним співвідношенням.



**Рис. 3.** Спектр поглинання іонного асоціату (Лор<sup>-</sup>)(АФ<sup>+</sup>) залежно від складу екстрагенту ДХЕ : ІО у органічній фазі, мл: 1 – 2,0:3,0; 2 – 1,5:3,5; 3 – 1,0:4,0; 4 – 0,5:4,5; 1' – 4' – холостий дослід; рН 9; 0,2 мл  $1 \cdot 10^{-3}$  моль/л Лор; 0,5 мл  $1 \cdot 10^{-3}$  АФ.

Встановлено, що ефективно екстракція проходить за відносних часток компонентів ІО:ДХЕ у діапазоні 5:1 – 2.3:1. Оптимальне співвідношення, що застосовували для подальшого аналізу, становить 3,5 мл ізооктану до 1,5 мл дихлоретану (табл. 1).

Дослідження впливу кислотності середовища на утворення та екстракцію ІА (Лор<sup>-</sup>)(АФ<sup>+</sup>) показало, що рН діапазон максимального утворення та екстракції лежить у межах 8-12 (рис. 4), що добре узгоджується із теоретично розрахованою діаграмою розподілу різних форм барвника і лорноксикаму (рис. 2).



**Рис. 4.** Вплив рН розчину на утворення та екстракцію ІА (Лор<sup>-</sup>)(АФ<sup>+</sup>).

Залежність оптичної густини екстрактів від концентрації основного барвника у водній фазі описується кривою насичення; максимальне значення досягається при концентрації АФ понад  $1,2 \cdot 10^{-4}$  моль/л у водній фазі. Рівновага екстракції досягається за 30-45 с.

Дослідження складу ІА визначали методами ізомольярних серій, насичення та обмежено-логарифмічним. Результати досліджень добре узгоджуються між собою і вказують на співвідношення компонентів у ІА 1:1. Спираючись на отримані дані, схему утворення та екстракції іонного асоціату лорноксикаму із Астрафлосином у загальному вигляді можна подати так:

$\text{Лор}^-_{(в)} + \text{АФ}^+_{(в)} + k\text{S}_{(о)} \leftrightarrow \{(\text{Лор}^-) \cdot (\text{АФ}^+) k\text{S}\}_{(о)}$ , де Лор<sup>-</sup> – аніон лорноксикаму, АФ<sup>+</sup> – катіон астрафлосину; S – молекула дихлоретану.

**Методика екстракційно-спектрофотометричного визначення лорноксикаму.** В пробірки з притертими корками вносять досліджуваній розчин, що містить від 0,2 до 20 мкг/мл лорноксикаму, 1,0 мл буферного розчину при рН 9, додають 0,5 мл  $1 \cdot 10^{-3}$  моль/л Астрафлосину, розбавляють дистильованою водою до загального об'єму 5 мл. Вміст пробірок перемішують і вносять послідовно 3,5 мл ізооктану та 1,5 мл дихлоретану. Екстрагування проводять протягом 1 хвилини. Одержаний екстракт відділяють, центрифугують і вимірюють оптичну густину при довжині хвилі 541 нм на спектрофотометрі в скляній кюветі ( $l = 0,3$  см). Паралельно проводять контрольний дослід.

Вміст лорноксикаму визначають за калібрувальним графіком, побудованим за аналогічних умов. Закон Бера виконується в інтервалі 0,3-20,0 мкг/мл лорноксикаму. Методика застосована для визначення лорноксикаму у модельних розчинах та лікарських формах.

Для визначення вмісту лорноксикаму у модельних розчинах (табл. 2) у пробірку вводять аліквоту (0,2-2,5 мл) розчину, що містить 0,5-20,0 мкг/мл лорноксикаму, додають 1,0 мл буферного розчину з рН 9 і далі проводять визначення, як описано вище. Вміст лорноксикаму у модельному розчині визначають за градувальним графіком, отриманим за аналогічних умов.

**Таблиця 1.** Вплив складу екстрагенту на чутливість визначення лорноксикаму ( $4 \cdot 10^{-5}$  моль/л Лор,  $1 \cdot 10^{-4}$  моль/л Аф, рН 9)

$V_{\text{Ю}}$ , мл	$V_{\text{ДХЕ}}$ , мл	$V_{\text{Ю}} : V_{\text{ДХЕ}}$	$A_{\text{досл.}}$	$A_{\text{холост.}}$	$\varepsilon \cdot 10^{-4}$ , л/моль·см <sup>3</sup>
5	0	5 : 0	0	0	0
4,5	0,5	9 : 1	0,348	0	2,90
4,2	0,8	5,3 : 1	0,530	0	4,42
4,0	1,0	4 : 1	0,741	0	6,18
3,8	1,2	3,2 : 1	0,752	0	6,27
3,5	1,5	2,3 : 1	0,800	0	6,67
3,0	2,0	3 : 2	0,843	0,039	6,70

де  $A_{\text{досл.}}$ ,  $A_{\text{холост.}}$  – оптична густина досліджуваного і холостого розчинів відповідно,  $\varepsilon$  – молярний коефіцієнт світлопоглинання.

**Таблиця 2.** Визначення вмісту лорноксикаму у модельних розчинах ( $n = 5$ ;  $P = 0,95$ )

Введено, мкг/мл	Знайдено, мкг/мл	$RSD$ , %	$R$ , %
37,2	$36,9 \pm 0,5$	0,51	99,3
55,8	$55,6 \pm 0,8$	0,57	99,6
74,4	$74,3 \pm 0,9$	0,47	100,0

**Таблиця 3.** Результати визначення вмісту лорноксикаму у лікарських формах ( $n = 5$ ;  $P = 0,95$ )

Препарат	Форма випуску, регламентований вміст лорноксикаму	$x_{\text{сер}} \pm \Delta x$	$S^2$	$RSD$ , %	$R$ , %
Ксефокам рапід, „Нікомед Данія АпС”	Таблетки, 8 мг	$7,95 \pm 0,12$	0,002	0,61	99,3
Ксефокам „Нікомед Австрія ГмбХ”	Флакони, 8 мг	$7,98 \pm 0,14$	0,003	0,68	99,8

**Таблиця 4.** Порівняння основних характеристик розробленої спектрофотометричної методики визначення лорноксикаму із відомими

Методика визначення	$\lambda$ , нм	Розчинник (середовище)	Лінійність, мкг/мл	Літ.
УФ- спектрофотометрична	383	Вода : метанол (60:40)	4–24	[14]
	380	фосфатний буфер: метанол (50:50)	1–20	[15]
	376	0,05 М NaOH	0,5–35	[16]
	287	0,1 М NaOH	2–10	[17]
Екстракційно-спектрофотометрична	541	Екстрагент: Ю:ДХЕ (3,5:1,5). Водна фаза: H <sub>2</sub> O, рН 9	0,3–20,0	Дана робота

Визначення лорноксикаму у лікарських формах проводять після попередньої підготовки зразка. Двадцять таблеток, що містять лорноксикам, поміщають у агатову ступку і ретельно розтирають. Наважку отриманого порошку, еквівалентну середній масі таблетки, розчиняють у 20 мл 0,1 моль/л NaOH, отриманий розчин фільтрують. У зібраному фільтраті за допомогою буферної суміші встановлюють рН 9, розбавляють дистильованою водою у мірній колбі. У

пробірку вводять 1 мл даного розчину і проводять визначення згідно методики, описаної вище.

Вміст основного компонента у дозованих лікарських засобах розраховували з урахуванням середньої маси таблетки. Результати визначення представлені у табл. 3.

Вміст препарату в одиниці досліджуваної форми розраховували за формулою:

$$X = C_x \cdot b \cdot 100 \cdot r / 10^{-6} \cdot a,$$

де  $C_x$  – концентрація лорноксикаму, знайдена за градувальник графіком (мкг/мл);  $b$  – середня маса таблетки (г);  $10^{-6}$  – перерахунок на грами;  $g$  – розбавлення;  $a$  – наважка препарату, г.

Було здійснено порівняння розробленої нами методики визначення лорноксикаму із відомими на даний час спектрофотометричними методами. Основні хіміко-аналітичні характеристики розглянутих методик зведені у табл. 4.

Розроблена проста, швидка та чутлива методика екстракційно-фотометричного визначення лорноксикаму в концентраційних межах 0,2–20,0 мкг/мл, яка придатна для визначення діючої речовини лорноксикаму у лікарських формах.

#### Список використаної джерел

1. Ксефокам. Лорноксикам. Новый обезболивающий и противовоспалительный препарат. Монография по продукту. М.: Нукомед Россия-СНГ, 1998.
2. Balfour J.A., Fitton A., Barradell L.B. *Drugs*. 1996, 51(4), 639-657.
3. Byrav D.S., Medhi B., Prakash A. et al. *Indian J. Physic. Med. Rehabil.* 2009, 20(1), 27-31.
4. Patel A., Patel N., Patel M. et al. *IOSR Journal of Pharmacy*. 2012, 2(3), 364-366.
5. Patel D.J., Patel M.P. *Int. J. ChemTech Res.* 2010, 2(4), 1929-1932.
6. Zhang J., Li L., Gao Y. et al. *Pak. J. Pharm. Sci.* 2012, 25(2), 371-375.
7. Attimarad M. J. *Basic Clinic. Pharm.* 2010, 001(002), 115-118.
8. Kim Y.H., Ji H.Y., Park E.S. et al. *Arch. Pharm. Res.* 2007, 30(7), 905-910.
9. Radhofer-Welte S., Dittrich P.J. *Chromatogr. B.* 1998, 707(1-2), 151-159.
10. Young Hoon K., Hye Young J., Eun-Seok P. et al. *Biomed. Life Sci.* 2007, 30(7), 905-910.
11. Patil K.R., Rane V.P., Sangshetti J.N. et al. *Chem. Mat. Sci.* 2009, 68, 1001-1005.
12. Modhave D.T., Handa T., Shah R.P. et al. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2011, 56(3), 538-545.
13. Suwa T., Urano H., Shinohara Y. et al. *J. Chrom. B: Biomed. Sci. Appl.* 1993, 617(1), 105-110.
14. Shah A., Patel J., Baldania L. et al. *Sci. Pharm.* 2011, 79, 113-122.
15. Prajapati P., Vaghela V., Rawtani D. et al. *J. Pharm. Anal.* 2012, 2(4), 306-309.
16. Singh B., Saini G., Naath Sharma D. et al. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* 2011, 2(1), 102-106.
17. Nemutlu E., Demircan S., Kır S. *Int. J. Pharm. Sci.* 2005, 60(6), 421-425.
18. Bhavsar K.C., Gaikwad P.D., Bankar V.H. et al. *Int. J. Pharm. Tech.* 2010, 2(2), 429-439.
19. Burcin B., Bengi U. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*. 2010, 13(7), 599-609.
20. Cetini I., Kocak N., Aucan S. *J. Sci.* 2009, 5(1), 11-18.
21. Кормош Ж.А., Гунька И.П., Базель Я.Р. *Журн. аналит. химии*. 2011, 66(4), 388-393.
22. Kormosh Z., Basel Y., Tolmachov A. *Acta Chim. Slov.* 2002, 49, 795-804
23. Tsai R.S., Carrupt P.A., El Tayar N. et al. *Helvetica chim. acta.* 1993, 76, 842-854.

Стаття надійшла до редакції: 24.10.2014.

## SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF LORNOXICAM IN PHARMACEUTICAL PREPARATIONS

**Kormosh Zh.O., Matvijchuk O.Yu., Bazel Ya.R.**

The method of spectrophotometric determination of lornoxicam based on the extraction of its ion associate with basic polymethine dye Astrafloxin was developed. The extractant is a mixture of isoctane and dichloroethane in 3,5:1,5 volume ratio. The absorption maximum wavelength is 541 nm, the operating pH range of the aqueous phase is 8–12. The optimum concentration of the Astrafloxin dye is  $(1,2-1,5) \cdot 10^{-4}$  mol/l. Beer's law is obeyed over the concentration range of lornoxicam of 0,3–20  $\mu$ g/ml. The method can be applied to determine lornoxicam in pharmaceutical preparations.