

УДК 543.422.3;543.645.9

ЕКСТРАКЦІЙНО-ФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ДИКЛОФЕНАКУ ІЗ ОСНОВНИМ БАРВНИКОМ

¹Кормош Ж.О., ¹Гунька І.П., ¹Бабаць К.С., ^{2,3}Базель Я.Р., ⁴Кормош Н.М.

¹ – Волинський державний університет ім. Лесі Українки, пр.Волі, 13, м.Луцьк

² – Ужгородський національний університет, вул. Підгірна, 46, м.Ужгород

³ – Університет П.Й.Шафарика, вул. Мойзесова, 11, м. Кошіце, Словачія

⁴ – Луцький базовий медичний коледж, бульвар Лесі Українки, 1, м. Луцьк

Диклофенак натрію (рис. 1) (натрієва сіль [2-(2,6-дихлораніліно)феніл]оцтової кислоти), відноситься до нестероїдних протизапальних препаратів групи похідних фенілоцтової кислоти. Виявляє проти-запальну, анальгетичну та жарознижуючу дію [1].

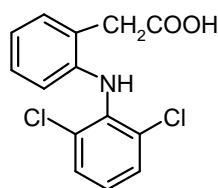


Рис 1. Структурна формула диклофенаку.

Широкого використання для лікування різного роду запальних процесів диклофенак набув на протязі останніх тридцяти років. Саме і починаючи з 1975 року, з'являються публікації присвячені кількісному визначенню диклофенаку в біологічних рідинах. І тільки з 1987 більша увага приділяється розвитку методів для визначення диклофенаку у фармацевтичних препаратах [2]. На даний час відомі методики потенціометричного [3 - 6], хроматографічного [3, 7, 8], гравіметричного [9], флуориметричного [10 - 13] його визначення, а, також, використовуючи більш ширший хемометричний апарат [14 - 16]. Важливе місце займають і методи спектрофотометрії [17 - 22], зокрема, із використанням основних барвників, як реагентів для утворення аналітичної форми [23 - 25]. Це пов'язано із тим, що вони здатні забезпечити належну точність, чутливість, експресність аналізу, а також є

простими та дешевими в плані апаратурного оформлення.

В даній роботі нами показано, що диклофенак утворює ІА з основним барвником диіндодикарбоціаніном (рис. 2), який може бути ефективною аналітичною формою.

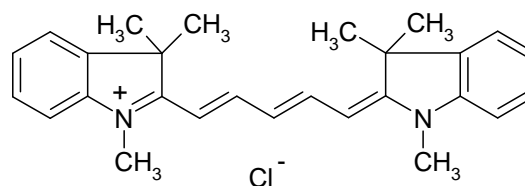


Рис 2. Структурна формула ДІДК.

Експериментальна частина

Для виконання експерименту готували вихідний стандартний розчин диклофенаку з концентрацією $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л, використовуючи товарну форму виробництва „Біофарм” – 2,5 % водний розчин для ін'єкцій, який стандартизували згідно [3]. Робочі розчини диклофенаку $1 \cdot 10^{-3}$ - $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л готували послідовним розведенням дистильованою водою вихідного розчину в день експерименту.

Використовували $1 \cdot 10^{-3}$ М препарат основного барвника ДІДК, який отримали шляхом розчинення точної наважки барвника.

Кислотність середовища регулювали за допомогою універсального буферного розчину, який готували згідно [26]. Значення рН контролювали потенціометрично за допомогою іоніметра ЕВ-74 зі скляним електродом.

Іонну силу регулювали введенням 2 моль/л розчину Na_2SO_4 , приготовленого з препарату кваліфікації „х.ч.”.

Як екстрагенти використовували органічні розчинники, що не змішуються з водою, кваліфікації „х.ч.”.

Екстракцію проводили при кімнатній температурі (18 - 20 °С) в пробірках з притертими пробками. Застосовували такий порядок додавання реактивів: в пробірки вводили 0,5 мл буферного розчину із значенням $\text{pH}=7,55$, 0,1 мл $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л розчину диклофенаку, 0,5 мл $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л розчину основного барвника ДДК, необхідну кількість розчину натрій сульфату та доводили дистильованою водою об'єм водної фази до 5 мл. Приливали 5 мл органічного розчинника і екстрагували протягом одної хвилини. Після розділення фаз екстракти відділяли, центрифугували та вимірювали оптичну густину за допомогою спектрофотометра СФ-2000. Фотометрування розчинів проводили в кварцових кюветах ($l = 0,3$ см) при довжині хвилі 641,9 нм, розчином порівняння був толуен.

Результати та їх обговорення

Вплив рН водної фази. Одним із основних факторів, що керує процесом комплексоутворення, є концентрація водневих іонів у розчині. В залежності від кислотності водної фази змінюється реакційна здатність барвника й, відповідно, форма іону [27].

Дані, що характеризують вплив рН водної фази на утворення та екстракцію ІА диклофенаку із ДДК, приведені на рис. 3. Вилучення ІА диклофенаку відбувається при $\text{pH} = 7,0 - 9,5$, причому, в даній ділянці значення холостого розчину є практично відсутнім.

Вплив іонної сили розчину. Часто по мірі введення невеликої кількості певного висолювача можна досягти покращення вилучення ІА і збільшення аналітичного сигналу (процес висолювання) [27]. Тому, нами було досліджено вплив Na_2SO_4 на екстракцію ІА диклофенаку із ДДК і встановлено, що при додаванні даної сполуки в нашому випадку спостерігається покращення вилучення ІА в органічну фазу

при незначному збільшенні вилучення простої солі барвника.

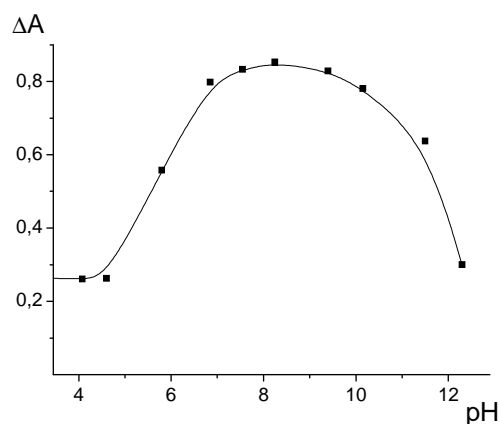


Рис. 3. Вплив рН водної фази на екстракцію толуенних екстрактів ІА диклофенаку; $4 \cdot 10^{-5}$ моль/л диклофенаку, 0,8 моль/л Na_2SO_4 , $3 \cdot 10^{-4}$ моль/л ДДК, $\lambda_{\text{опт.}} = 641,9$ нм, $l = 0,3$ см.

Вплив концентрації барвника. Дослідження впливу концентрацій ОБ на екстракцію ІА показали, що така залежність описується кривою насичення (рис. 4).

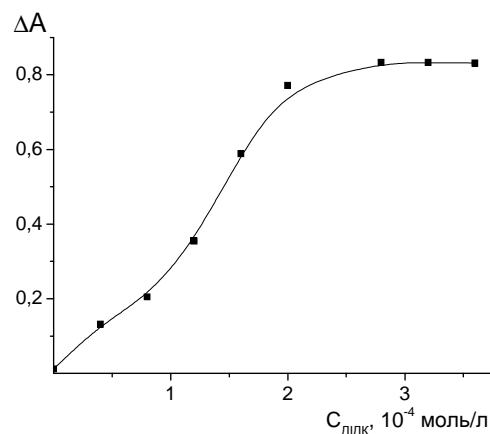


Рис. 4. Залежність оптичної густини екстрактів ІА диклофенаку від концентрації барвника при екстракції толуеном; $4 \cdot 10^{-5}$ моль/л диклофенаку, 0,8 моль/л Na_2SO_4 , $\text{pH}=7,55$, $\lambda_{\text{опт.}} = 641,9$ нм, $l = 0,3$ см.

Концентрацію барвника змінювали в інтервалі від 0 до $3,5 \cdot 10^{-4}$ моль/л. Із збільшенням концентрації барвника оптична густина зростає, досягаючи максимального значення при концентрації

$(2,0 - 3,5) \cdot 10^{-4}$ моль/л. При більш високих концентраціях спостерігається незначне збільшення вилучення простої солі ДІДК.

Склад ІА диклофенаку. Різними спектрофотометричними методами встановлений склад ІА; співвідношення диклофенак : ДІДК становить 1:1. Розраховано константу стійкості, яка становить $1,37 \cdot 10^5$.

Основні спектрофотометричні та хіміко-аналітичні характеристики. В оптимальних умовах утворення та екстракції ІА диклофенаку досліджені молекулярні спектри світлопоглинання екстрактів (рис.5), вони є ідентичними з молекулярними спектрами самого барвника. Це дає нам змогу вважати, що барвник входить до ІА в катіонній однозарядній формі.

На основі одержаних спектрів світлопоглинання екстрактів розраховані характеристики ІА λ_{\max} , ϵ , R %, які наведені в табл. 1.

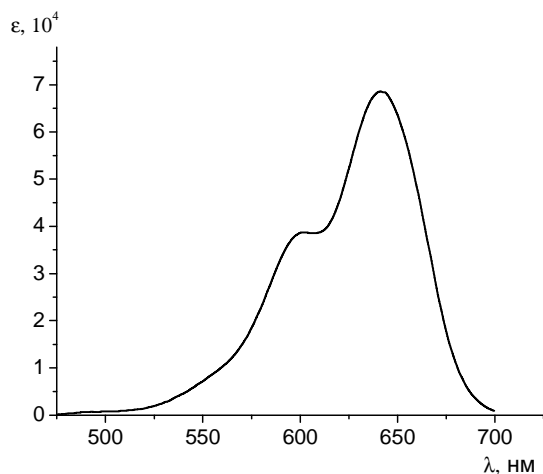


Рис 5. Спектр світлопоглинання екстракту ІА диклофенаку з ДІДК при екстракції толуеном; $4 \cdot 10^{-5}$ моль/л диклофенаку, 0,8 моль/л Na_2SO_4 , $3 \cdot 10^{-4}$ моль/л ДІДК, рН=7,55, $l=0,3$ см.

Встановлено, що швидкість досягнення екстракційної рівноваги не залежить від природи розчинника і складає 50 - 60 с, Інтенсивність забарвлення екстрактів стійке не менше години.

Лінійність калібрувального графіку виконується в межах від 1,1 до 11,2 мкг/мл диклофенаку. Чутливість по Сенделу становить 0,056 мкг/мл.

Важливим питанням будь-якої методики аналітичної є питання селективності.

Встановлено, що визначенню диклофенаку із ДІДК не заважають кратні кількості: Cl^- (50), Br^- (5), SO_4^{2-} (450), анальгін (50), вікасол (12), барбітурова кислота (10), сульфацил натрію (50), гепарин (50) тощо; заважають значні кількості I^- , NO_3^- , аспіріну, саліцилової та хлорсаліцилової кислоти.

Таблиця 1

Спектрофотометричні характеристики екстрактів іонного асоціату диклофенаку із ДІДК

Екстрагент	λ_{\max} , нм	ϵ , 10^4	A_K/A_X	R, %
м-ксилол	641,1	6,69	11,78	91,3
бутилацетат	641,1	3,39	2,76	91,3
бензен	641,1	7,78	5,84	89,4
CCl_4	644,4	3,85	4,93	99,0
толуен	641,9	5,59	5,50	96,4

Таблиця 2

Результати визначення диклофенаку у фармацевтичних препаратах з ДІДК (n = 3, P = 0,95)

Знайдено диклофенаку, мкг			ε, %
За розробленою методикою	Істинне значення, мкг		
$\bar{X} \pm \Delta \bar{X}$	S_r		
$1,88 \pm 0,09$	0,06	1,90	1,05
$4,33 \pm 0,07$	0,04	4,44	2,50
$5,69 \pm 0,12$	0,08	5,78	1,56

На основі отриманих даних пропонуємо нову екстракційно-фотометричну методику визначення диклофенаку за участю основного барвника ДІДК у фармацевтичних препаратах (ін'єкціях). Правильність отриманих даних перевірено методом „введено-знайдено” (табл. 2).

Методика визначення диклофенаку у фармацевтичних препаратах. В пробірці із притертими корками вносять пробу, що містить 5 – 55 мкг диклофенаку, додають 0,5 мл універсального буферного розчину з рН 7,0 - 9,5, 1,5 мл $1 \cdot 10^{-3}$ М ДДК, 2 мл Na_2SO_4 , доводять дистильованою водою до 5 мл і екстрагують 5 мл толуену на протязі 1 хв. Екстракт відділяють, центрифугують та вимірюють оптичну густину на спектрофотометрі СФ-2000 ($\lambda_{\text{опт.}} = 641,9$ нм, $l=0,3$ см). Вміст диклофенаку визначають за калібрувальним графіком, побудованим за ідентичних умов.

Робота виконана при частковій підтримці Міністерства освіти і науки України (грант № М/177-2006) та Словацької Республіки (грант № APVV SK-UA-00806)

Література

1. Компендиум 2003 – Лекарственные препараты/ Под ред. В. Н. Коваленко, А. П. Викторова. - К.: МОРИОН, 2003. 1388 с.
2. Leandro de Souza R., Tubino M. Spectrophotometric determination of diclofenac in pharmaceutical preparations// Journal Brazil Chemical Society. – 2005. V. 16, № 5. P. 1068 – 1073.
3. Государственная Фармакопея Украины/ Государственное предприятие „ Научно-экспертный фармакопейный центр”. – 1-е изд.: Пер. с укр. – Харьков: Государственное предприятие „ Научно-экспертный фармакопейный центр”, 2004. – 672 с.
4. Shamsipur M., Jalali F., Ershad S.. Preparation of a diclofenac potentiometric sensor and its application analysis and to drug recovery from biological fluids// Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 2005. V. 37. P. 943 – 947.
5. Santini A.O., Pezza H.R., Pezza L.. Determination of diclofenac in pharmaceutical preparations using a potentiometric sensor immobilized in a graphite matrix// Talanta. – 2006. V. 68. P. 636 – 642.
6. Saad S.M. Hassan, Wagiha H. Mahmoud, Mohamed A.F. Elmosallany, Mahra. H. Almazooqi. Iron(II)-phthalocyanine as a novel recognition sensor for selective potentiometric determination of diclofenac and warfarin drugs// Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 2005. V. 39. P. 315-321.
7. Cinzia Arcelloni, Roberto Lanzi, Silvia Pedercini, Giulia Molteny, Isabella Fermo, Antonio Rontiroli, Rita Paroni. High-performance liquid chromatographic determination of diclofenac in human plasma after solid-phase extraction// Journal of Chromatography B. – 2001. V. 763. P. 195 – 200.
8. Robert Roškar, Vojko Kmetec. Liquid chromatographic determination of diclofenac in human synovial fluid// Journal of chromatography B. – 2003. V. 788. P. 57-64.
9. Matthieu Tubino and Rafael L. de Souza. Gravimetric method for the determination of diclofenac in pharmaceutical preparations// Journal of AOAC International. – 2005. V. 88, № 6. P.1684-1687.
10. Juan A. Arancibia, Mariela A. Boldrini, Graciela M. Escandar. Spectrofluorimetric determination of diclofenac in the presence of α -cyclodextrin // Talanta. – 2000. V. 52. P. 261-268.
11. Patricia C. Damiani, Mariela Bearzotti, Miguel A. Cabezón, Alejandro C. Olivieri. Spectrofluorimetric determination of diclofenac in tablets and ointment// Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 1999. V. 20. P. 587-590.
12. N.M. El. Kousy. Spectrophotometric and spectrofluorometric determination of etodolac and aceclofenac// Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 1999. V. 20. P. 185-194.
13. L.A. Carreira, M. Rizk, Y. El-Shabrawy, N.A. Zakhari, S.S. Toubar. Europium(III) ion probe spectrofluorometric determination of diclofenac sodium// Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 1995. V. 13. P. 1331-1337.
14. Marcelo M. Sena, Zahra F. Chaudhry, Carol H. Collins, Ronei J. Poppi. Direct determination of diclofenac in pharmaceutical formulations containing B vitamins by using UV spectrophotometry and partial least squares regression// Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 2004. V. 36. P. 743 – 749.
15. Jahanbakhsh Ghasemi, Ali Niazi, Sirous Chobadi. Simultaneous spectrophotometric determination of benzyl alcohol and diclofenac in pharmaceutical formulations by chemometrics method// Journal of the Chinese Chemical Society. – 2005. V. 52, № 5. P. 1049 – 1054.
16. J. Chasemi, A. Niazi, S. Ghobadi. Simultaneous spectrophotometric determination of benzyl alcohol and diclofenac in pharmaceuticals using methods based on the first derivative of the optical density ratio// Pharmaceutical Chemistry Journal. – 2005. V. 39, № 12. P. 671– 675.

17. Rafael Leandro de Souza, Matthieu Tubino. Spectrophotometric determination of diclofenac in pharmaceutical preparations// Journal Brazil Chemical Society. – 2005. V. 16, № 5. P. 1068 – 1073.
18. Julio C. Botello and Guadalupe Pérez Caballero. Spectrophotometric determination of diclofenac sodium with methylene blue// Talanta. – 1995. V. 42, № 1. P. 105-108.
19. M. Soledad García, M. Isabel Albero, Concepción Sánchez-Pedreño, José Molina. Flow-injection spectrophotometric determination of diclofenac in pharmaceuticals and urine samples// Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 1998. V. 17. P. 267-273.
20. A.A. Matin, M.A. Farajzadeh, A. Joyuban. A simple spectrophotometric method for determination of sodium diclofenac in pharmaceutical formulations// IL Farmaco. – 2005. V. 60. P. 855-858.
21. S. Agatonović-Kuštrin, Lj. Živanović, M. Zečević, D. Radulović. Spectrophotometric study of diclofenac-Fe(III)// Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 1997. V. 16. P. 147-158.
22. C.S.P. Sastry, A.S.R. Prasad Tipirneni and M.V. Suryanarayana. Extractive spectrophotometric determination of some anti-inflammatory agents with methylene violet// Analyst. – 1989. V. 114. P. 513-515.
23. Zh. Kormosh, I. Hunka, Ya. Bazel et al. Spectrophotometric determination of diclofenac in pharmaceutical preparations / Eloadasok osszefoglalo. 49. Magyar spektrokemiai vandorgyules, Miskolc. – 2006. – 180 o.
24. Гунька І.П., Кормош Ж.О., Бабаць К.С. Нові аналітичні форми на основі іонних асоціатів для визначення диклофенаку// Сьома Всеукраїнська конференція студентів та аспірантів „Сучасні проблеми хімії”: Київ, 18 – 19 травня 2006 р. -К.: ВПЦ Київський університет, - 2006. – С. 235.
25. Гунька І.П., Кормош Ж.О. Екстракційно-фотометричне визначення диклофенаку у вигляді іонного асоціату із основним барвником// Third International Workshop „Relaxed, nonlinear and acoustic optical processes; Materials – Growth and optical properties” – RNAOPM`2005. September 06-10, 2006, Lutsk–Shatsk Lakes: Materials. – Lutsk: Volyn University Press „Vezha”, 2006.- P. 143-144.
26. Лурье Ю. Ю. Справочник по аналитической химии. 5-е изд., перераб. и доп. – М.: Химия, 1979. – 480 с.
27. Балог Й.С. Образование, свойства, экстракция и аналитическое применение ионных ассоциатов элементов с участием цианиновых и других основных красителей: Автореферат диссертации на получение степени доктора химических наук. – Одесса, 1993. – 37 с.

EXTRACTIVE-PHOTOMETRIC DETERMINATION OF DICLOFENAC WITH BASIC DYE

Kormosh Zh.O., Hunka I.P., Babats K.S., Bazel Ya.R., Kormosh N.M.

We recently found that the cationic diindodicarbocyanine dye (DIDC) could be used for the extractive spectrophotometric determination of diclofenac. The reaction of the complex-formation and extraction of diclofenac ion associates (IA) with DIDC has been studied by means of spectrophotometric method. The influence of acidity, nature and concentration of DIDC, solvents and other factors on the formation and extraction of IA has been investigated. In optimal condition of the formation the composition and the principal chemical-analytical characteristics of IA have been determined. A 1:1 DICL:DIDC ratio was found and the extracted IA corresponded to the general formula $[DICL]R^+$ (where R^+ is a cation of DIDC). High values of the molar absorption coefficients of DICL IA for different extractants found $(3,39 - 7,78) \cdot 10^4$. The new high-sensitive and selective method of the extractive-photometric determination of diclofenac have been developed.