УДК: 543.422.3; 543.645.9

Жолт Кормош
Оксана Матвійчук

Екстракційно-спектрофотометричне визначення мефенамінової кислоти у фармацевтичних препаратах

Установлено оптимальні умови спектрофотометричного визначення мефенамінової кислоти, що ґрунтується на її здатності утворювати іонний асоціат з основним барвником 5-нітро-астрафлоксином. Визначення мефенамінової кислоти можна проводити при концентрації у розчині 0,5−14,0 мкг/мл при pH 8. Розроблено екстракційно-спектрофотометричну методику, придатну для визначення у фармацевтичних формах.

Ключові слова: спектрофотометрія, іонний асоціат, мефенамінова кислота.

Постановка наукової проблеми та її значення. Мефенамінова кислота ($C_{15}H_{15}NO_2$, 2-[(2,3-диметилфеніл)аміно]бензойна кислота, Меф) має елементи структурної схожості із саліциловою кислотою. Її часто застосовують у медицині як знеболювальний, жарознижувальний, імуностимулювальний та протизапальний засіб для лікування ревматизму, артриту, артрозу, міальгії, зубного, менструального чи головного болю. Трапляється у фармацевтичних формах таблеток, капсул, крему. На вигляд це білий або ледь сіруватий кристалічний порошок, що погано розчиняється у воді та спирті, проте добре розчиняється в лугах, утворюючи натрієву сіль. Температура плавлення мефенамінової кислоти рівна 230 °С, коефіцієнт розподілу становить *log P* = 5,33, а константа іонізації – pKa = 4,2 [3; 4].

Для кількісного визначення мефенамінової кислоти у чистих формах та фармацевтичних препаратах відомі фармакопейні методики, що ґрунтуються на хроматографічному аналізі [5] або неводному титруванні [22].

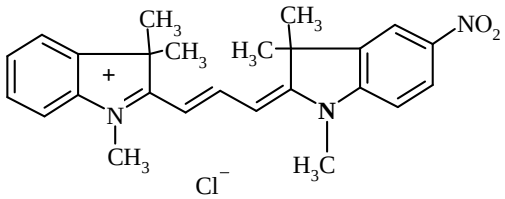
Є також інші методики визначення Меф: хроматографічні [8; 10; 17; 18], потенціометричні [15; 21] та вольтамперометричні [7; 11], атомно-адсорбційної спектрометрії [9], спектроскопії ЯМР [6]. Важливе місце посідають спектрофотометричні методики визначення мефенамінової кислоти [2; 13; 14; 19; 24] та їх комбінації із методами екстракційного концентрування й розділення [1; 12; 16; 20; 25]. Більшість запропонованих спектрофотометричних методик ґрунтується на окисно-відновних реакціях у присутності Fe(III) [24], Ce(III) [13], Cu(II) [25], N-бромсукциніміду [2] та інших або на утворенні забарвлених комплексів [14] чи іонних асоціатів [16; 23]. Проте часто перебіг таких реакцій залежить від температури середовища, а отримані забарвлені розчини нестійкі в часі, суттєвим недоліком є також вузький інтервал кислотності вилучення ІА мефенамінової кислоти з водної фази.

Метою цієї роботи є вивчення умов утворення та екстракції іонного асоціату (**ІА**) мефенамінової кислоти з основним барвником поліметинового ряду 5-нітро-астрафлоксином та розробка нової чутливої методики екстракційно-спектрофотометричного визначення мефенамінової кислоти на основі одержаного ІА, який кількісно екстрагується сумішшю органічних розчинників.

Експериментальна частина. Як реагент у роботі використовували поліметиновий барвник 1,3,3-триметил-5-нітро-2-[(E)-3-(1,3,3-триметил-2,3-дигідроген-1H-2-індолініліден)-1-пропеніл]-3H-індолію хлорид (5НІК) (схема 1).

Схема 1

Графічна формула5 НІК



Усі використані реагенти та органічні розчинники мають клас чистоти не нижче кваліфікації «ч.д.а.». Усі розчини готували з використанням бідистильованої води.

Вихідний $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л розчин мефенамінової кислоти готували розчиненням точної наважки порошку в 10 мл 0,2 моль/л NaOH з подальшим регулюванням кислотності середовища розчину Меф

© *Кормош Ж., Матвійчук О., 2013*

до pH 8 за допомогою універсальної буферної суміші кислот. Готовий розчин доводили до мітки бідистильованою водою.

Використовували $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л розчин 5НІК, приготовлений розчиненням точної наважки його хлоридної солі у водно-спиртовій суміші.

Робочі розчини мефенамінової кислоти та 5НІК з меншою концентрацією ($1 \cdot 10^{-3}$–$1 \cdot 10^{-4}$ моль/л) готували послідовним розбавленням у день експерименту.

Універсальний буферний розчин одержували змішуванням 0,2 моль/л розчину NaOH із розчином 0,04 моль/л H_3BO_3, H_3PO_4 та CH_3COOH кожного для досягнення pH 8.

Суміш органічних розчинників ізооктану виробництва Halterman (Німеччина) та дихлоретану виробництва Merck (Німеччина) марки «о.с.ч.» застосовували як екстрагент.

Реєстрацію оптичної густини розчинів здійснювали на спектрофотометрі СФ-2000 (виробництво ЛОМО, Росія) із використанням скляних кювет різної товщини (0,1–0,5 см.). Значення pH середовища контролювали за допомогою іономіра AI-123 (MLsoft Instruments, Україна). Вимірювання проводили при температурі 20 ± 1 °С.

Підготовка фармацевтичних форм до аналізу. 10 таблеток або вміст 10 капсул розтирали в агатовій ступці до повної гомогенізації. Точну наважку 10–65 мг одержаного порошку зважували на аналітичних терезах, розчиняли в 10 мл 0,2 моль/л NaOH та фільтрували для вилучення нерозчинних компонентів таблеток чи капсул. pH 8 встановлювали за допомогою буферної суміші кислот. Одержаний розчин доводили до мітки бідистильованою водою у колбі на 1000 мл.

Наважку гелю, що відповідає досліджуваному вмісту мефенамінової кислоти (0,2–0,5 г), зважували на аналітичних терезах, розчиняли в 25 мл буфера з pH 8. Загальний об'єм доводили до ≈ 45 мл дистильованою водою. Після повної гомогенізації одержаний розчин фільтрували. Фільтрат доводили до мітки в колбі об'ємом 1000 мл бідистильованою водою.

Порядок зливання реактивів під час аналізу: у пробірки з притертими корками додавали розчин, що містить 0,1–15,0 мкг/мл мефенамінової кислоти, вносили 1,0 мл буферного розчину з pH 8 та 0,4 мл $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л розчину 5-нітро-астрафлоксину. Доводили об'єм розчину до 5 мл бідистильованою водою. Вміст пробірок перемішували і додавали 5 мл екстрагента (суміш ізооктану з дихлоретаном (16 : 9 об.)). Екстрагування проводили протягом 1 хвилини. Одержаний екстракт відділяли, центрифугували й вимірювали оптичну густину при довжині хвилі 545,1 нм. Паралельно проводили контрольний дослід (без мефенамінової кислоти).

Виклад основного матеріалу й обґрунтування отриманих результатів дослідження. Оскільки лише однозарядні іонні форми речовин можуть утворювати іонні асоціати, то визначальною умовою його одержання є встановлення необхідного значення кислотності середовища. 5НІК у забарвленій катіонній формі (λ_{max} = 540 нм) перебуває у водному розчині в широкому інтервалі pH 0–10, а при вищих значеннях стає майже безбарвним (рис. 1а, б).

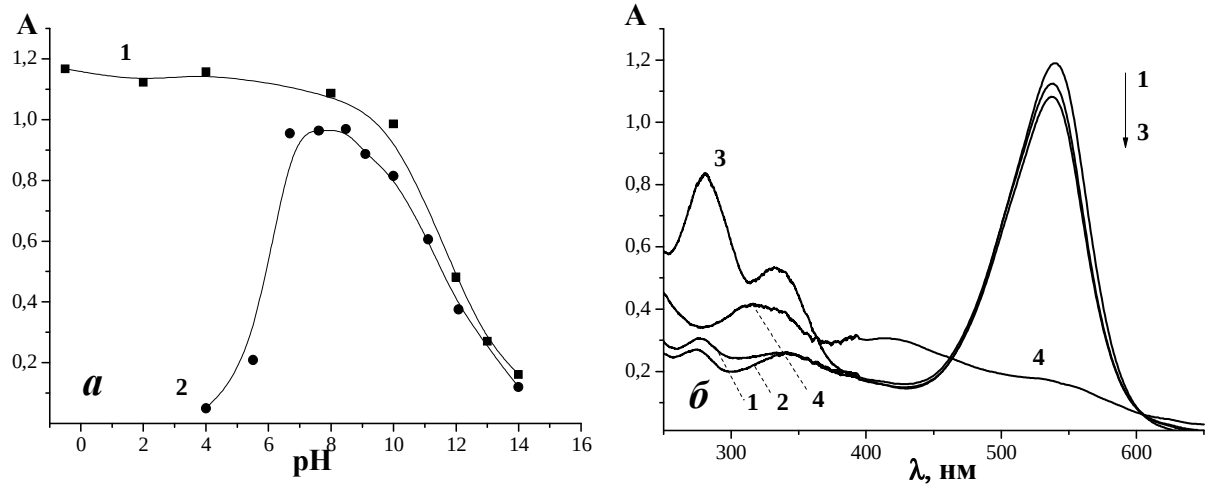
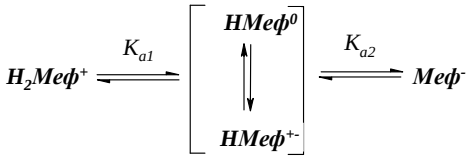


Рис. 1. **Зміна оптичної густини (а) та спектрів поглинання розчинів (б) 5НІК (1,2,4) та ІА ($5НІК^+ \cdot Меф^-$) (3) залежно від кислотності середовища. $C_{5НІК} = 6 \cdot 10^{-5}$: а) 1 – розчин 5НІК; 2 – екстракт ІА ($5НІК^+ \cdot Меф^-$); б) pH середовища: 1 – pH 0,5; 2 – pH 8; 3 – pH 8; 4 – pH 13**

Мефенамінова кислота може перебувати в чотирьох мікроформах:



катіонній ($H_2Меф^+$), нейтральній ($HМеф^0$), цвітеріону ($HМеф^{\pm}$) та аніонній ($Меф^-$) [26], з яких лише остання утворює ІА й існує лише в лужному середовищі. Тому оптимальною для роботи є ділянка pH 7–9, що встановлена експериментально (рис. 1а).

Асоціація протилежно заряджених іонів мефенамінової кислоти із барвником 5НІК супроводжується поглибленням забарвлення розчину з подальшим помутнінням та випаданням осаду.

Встановлено, що індивідуальні неполярні екстрагенти фактично не вилучають асоціату, а полярний дихлоретан екстрагує не лише ІА, а й барвник 5НІК. 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 використали суміш двох органічних розчинників: неполярного ізооктану та полярного дихлоретану (ДХЕ) з різним об'ємним співвідношенням.

Як видно із залежності на рисунку 2, найкраще екстракція проходить, якщо використовують екстрагент складу 46 % ДХЕ, 54 % ізооктану, у цьому разі спостерігається високе поглинання екстракту ІА.

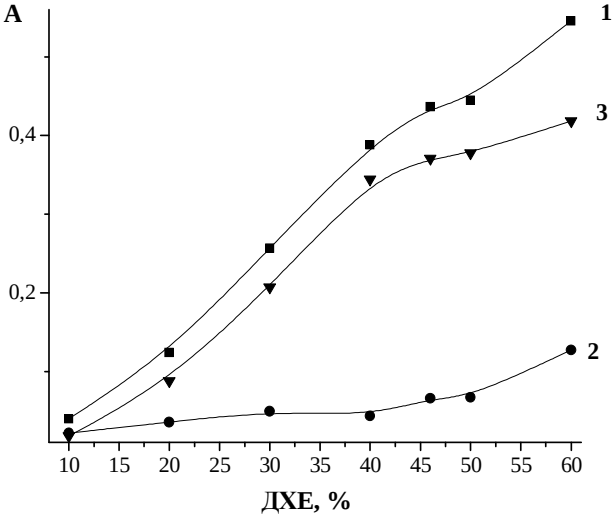


Рис. 2. **Вплив складу екстрагенту на оптичну густину екстрактів: *1 – ІА ($5НІК^+ \cdot Меф^-$); 2 – 5НІК; 3 – ΔА (1–2)***

Дослідження залежності оптичної густини екстрактів від концентрації барвника у водній фазі показали, що крива досягає насичення при додаванні 5НІК у систему понад $6 \cdot 10^{-5}$ моль/л (рис. 3).

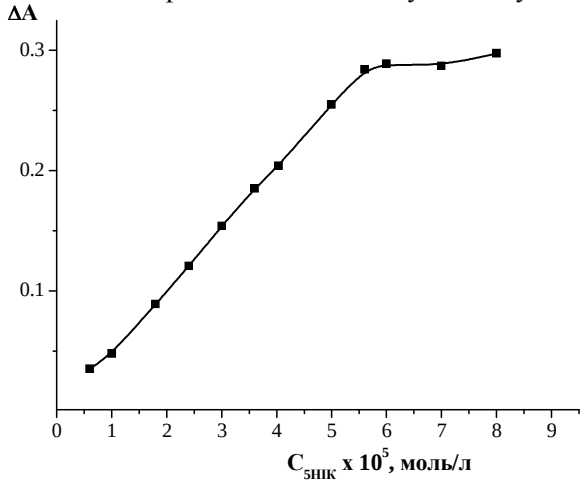


Рис. 3. **Вплив концентрації барвника у водній фазі на утворення та екстракцію ІА ($5НІК^+ \cdot Меф^-$)**

Встановлено, що інтенсивність утворення та екстракції іонного асоціату прямо пропорційно залежить від умісту мефенамінової кислоти у водній фазі (рис. 4) у концентраційному діапазоні 0,5−14,0 мкг/мл. Лінійну залежність можна описати рівнянням $A = (0{,}082 \pm 0{,}002) + (0{,}016 \pm 0{,}001) \cdot C_{Меф}$.

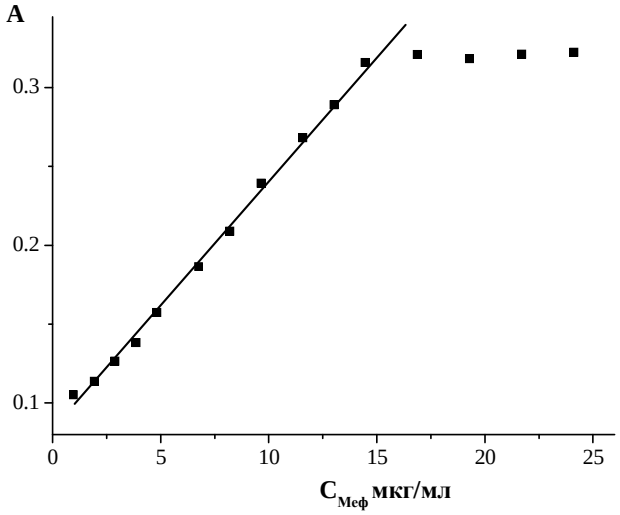


Рис. 4. **Залежність оптичної густини екстрактів ІА ($5НІК^+ \cdot Меф^-$) від умісту мефенамінової кислоти у водній фазі: $7 \cdot 10^{-6}$ моль/л 5НІК, pH 8, $V_{(Ізооктан/ДХЕ)}$ = 2,7 / 2,3 мл, λ = 545,1 нм**

З огляду на попередні результати оптимальними умовами для проведення аналізу є значення кислотності середовища з pH 8, уміст 5НІК рівний $7 \cdot 10^{-5}$ моль/л, екстрагентом слугує 5 мл суміші ізооктану з дихлоретаном у відношенні 2,7 : 2,3 за об'ємом. Досліджуваний інтервал умісту мефенамінової кислоти у розчині становить 0,5–14 мкг/мл.

Точність та відтворюваність розробленої методики оцінювали у процесі визначення вмісту мефенамінової кислоти у фармацевтичних препаратах, діючою речовиною яких є Меф. Результати аналізу подано у таблиці 1.

Таблиця 1

Визначення мефенамінової кислоти у фармацевтичних препаратах

Фармацевтичний препарат	Форма випуску, вміст Меф	$x_{сер} \pm \Delta x$	S^2	RSD	R, %
«Фламінго», Індія	капсули, 250 мг	250,1 ± 1,9	0,57	0,17	100,2
«Дарниця», Україна	таблетки, 500 мг	500,1 ± 2,1	0,37	0,07	100,0
«Ananta», Англія	капсули, 500 мг	500,4 ± 1,3	0,25	0,06	100,1

Састри та співавтори пропонують подібну методику, що ґрунтується на використанні ІА мефенамінової кислоти з основним барвником метиленовим фіолетовим [16]. Проте методика екстракційно-спектрофотометричного визначення на основі ІА Меф із метиленовим фіолетовим поступається за інтенсивністю забарвлення екстракту, робочим інтервалом pH середовища та верхньою межею визначення порівняно з методикою, запропонованою у нашій статті. Основні характеристики обох методів наведено у таблиці 2.

Таблиця 2

Порівняльна характеристика методів визначання мефенамінової кислоти, що ґрунтується на застосуванні ІА з основними барвниками

Характеристики	ІА (*$5НІК^+ \cdot Меф^-$*) [Наша робота]	ІА (*Метилен. фіолет.$^+ \cdot Меф^-$*) [16]
Діапазон визначення $C_{Меф}$, *мкг/мл*	0,5–14	1–8
Робочий діапазон pH	7–9	7,4–8,0
Екстрагент	Ізооктан / ДХЕ	хлороформ
Молярний коефіцієнт світлопоглинання	$2{,}1 \cdot 10^4$	$1{,}72 \cdot 10^4$
Параметри рівняння прямої S (*в*), крутизна *а*, перетин осі ОУ	 $8{,}17 \cdot 10^{-2}$ $15{,}9 \cdot 10^{-3}$	 $9{,}45 \cdot 10^{-2}$ $3{,}1 \cdot 10^{-3}$
Кореляційний коефіцієнт	0,997	0,999

На основі проведених досліджень розроблено й апробовано нову, чутливу екстракційно-спектрофотометричну методику визначення мефенамінової кислоти у фармацевтичних препаратах, що ґрунтується на здатності мефенамінової кислоти утворювати сполуку типу іонних асоціатів з основним барвником – 5НІК (5-нітро-астрафлоксином), яка добре екстрагується сумішшю органічних розчинників ізооктану з дихлоретаном.

Висновки. Встановлено, що мефенамінова кислота здатна утворювати іонний асоціат складу 3:1 із барвником поліметинового ряду 5-нітро-астрафлоксином (5НІК) у лужному середовищі (pH 7−9). Одержаний асоціат добре екстрагується сумішшю дихлоретану з ізооктаном (2,3:2,7 об./об.), що забезпечує можливість спектрофотометричного визначення мефенамінової кислоти в лінійному діапазоні концентрацій 0,5–14 мкг/мл. Розроблена методика дає можливість проводити визначення вмісту діючої речовини у лікарських препаратах на основі мефенамінової кислоти у формі капсул і таблеток.

Джерела та література

1. Aboul Khier A. Spectrophotometric method for the determination of flufenamic and mefenamic acids / A. Aboul Khier, M. El-Sadek, M. Baraka // Analyst. – 1987. – Vol. 112, № 10. – P.1399–1403.
2. Alarfaj N. A. Spectrophotometric determination of mefenamic acid in pharmaceutical preparations / N. A. Alarfaj, S. A. Altamini, L. Z. Almarshady // Asian J. Chem. – 2009. – Vol. 21, № 1. – P. 217–216.
3. Anti-inflammatory, antipyretic and antinociceptive properties of N-(2,3-xylyl)anthranilic acid (mefenamic acid) / C. V. Winder, J. Wax, L. Scotti, R. A. Scherrer, E. M. Jones, F. W. Short // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 1962. – Vol. 138, № 3. – P. 405–413.
4. Effect of Eluent pH on the Ionic and molecular Forms of the Non-Steroidal Anti-Inflammatory Agents in Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography / E. Nivaud-Guernet, M. Guernet, D. Ivanović, M. Medenica // Journal of Liquid Chromatography. – 1994. – Vol. 17, № 11. – P. 2343–2357.
5. European Pharmacopoeia. 5th Ed. // Strasbourg. – 2005. – P. 1984–1986.
6. Husain S. Simultenious determination of mefenamic acid and paracetamol in pharmaceutical preparations by H-1-nuclear magnetic resonance spectroscopy / S. Husain, M. Kifayatullah, R. Sekar // Indian J. Chem. Technol. – 2001. – Vol. 8. – P. 191–194.
7. Investigation and application of polarographic catalytic wave of oxygen reduction caused by mefenamic acid / J. F. Song, W. Guo, X. F. Kang, Y. Hu // Sci. China. – 2003. – Vol. 36. – P. 906–911.
8. Jagota N. Separation of non-steroidal anti-inflammatory agents using supercritical fluid chromatography / N. Jagota, J. Stewart // J. Chromatogr. – 1992. – Vol. 604, № 2. – P. 255–260.
9. Khuhawar M. Y. Indirect determination of mefenamic acid by atomic absorbtion apectrometry / M. Y. Khuhawar, T. M. Jehangir, F. M. A. Rind // J. Chem. Soc. Pakistan. – 2001. – Vol. 23. – P. 226–228.
10. Liquid chromatography method for determination of mefenamic acid in human serum. / M. R. Rouini, A. Asadipour, Y. H. Ardakani, F. Aghdasi // J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci. – 2004. – Vol. 5. – P. 189–192.
11. Liu L. Voltammetric determination of mefenamic acid at lanthanum hydroxide nanovires modified carbon paste electrodes. / L. Liu, J. Song // Anal. Biochem. – 2006. – Vol. 354. – P. 22–27.
12. Novel colorimetric assay of mefenamic acid using 4-amino-3,5-dinitrobenzoic acid (ADBA) / S. O. Idowu, S. C. Tambo, A. O. Adegoke, A. A. Olaniyi // Tropical J. Pharm. Research. – 2002. – Vol. 1, № 1. – P. 15–22.
13. Othman N. S. Spectrophotometric determination of mefenamic acid in pharmaceutical preparations via arsenazo III – Cerium (III) reaction / N. S. Othman, L. S. Awadis // J. Raf. Sci. – 2009. – Vol. 20, № 1. – P. 8–21.
14. Raza A. Spectrophotometric determination of mefenamic acid in pharmaceutical preparations / A. Raza // J. Analyt. Chem. – 2008. – Vol. 63, № 3. – P. 244–247.
15. Santini A. O. Development of a potentiometric mefenamate ion sensor for the determination of mefenamic acid in pharmaceuticals and human blood serum / A. O. Santini, H. R. Pezza, L. Pezza // Sensors and acurators B. – 2007. – Vol. 128. – P. 117–123.
16. Sastry C. S. Extractive spectrophotometric determination of some anti-inflammatory agents with methylene violet / C. S. Sastry, A. S. Prasad Tipirneni, M. V. Suryanarayana // Analyst. – 1989. – Vol. 114, № 4. – P. 513–515.
17. Simultaneous determination of arylpropionic acidic non-steroidal anti-inflammatory drugs in pharmaceutical formulations and human plasma by HPLC with UV detection / Y. Sun, K. Takaba, H. Kido, M. N. Nakashim et all // J. Pharm. Biomed Anal. – 2003. – Vol. 30, № 5. – P. 1611–1619.
18. Simultaneous determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs in river water samples by liquid chromatography-tandem mass spectrometry using molecularly imprinted polymers as a pretreatment column / K. Hoshina, S. Horiyama, H. Matsunaga, J. Haginaka // J. Pharm. Biomed. Anal. – 2011. – Vol. 55. – P. 916−922.

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. Unated States Farmacopea National Formulary, USP 26, NF21 // Rockville. – 2003. – P. 1141–1142.
23. Zapała L. Studies on the distribution of N-phenylanthranilic 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 curtis 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, Матвийчук Оксана. Экстракционно-спектрофотометрическое определение мефенаминовой кислоты в фармацевтических препаратах. Установлены оптимальные условия спектрофотометрического определения мефенаминовой кислоты, которые основываються на ее способности образовывать ионный ассоциат с основным красителем 5-нитро-астрафлоксином. Определение мефенаминовой кислоты можно проводить в растворе в концентрационных пределах 0,5–14,0 мкг/мл при pH 8. Разработанная экстракционно-спектрофотометрическая методика используется для определения мефенаминовой кислоты в фармацевтических формах.

Ключевые слова: спектрофотометрия, ионный ассоциат, мефенаминовая 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 phpoxin. 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 кремнезу, 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 градуювального 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»,

© Запорожець О., Поліщук К., Педченко Є., 2013