



УДК 543.5

DETERMINATION OF RESORCINOL IN LIQUID MEDICINAL FORMS BY THE METHOD OF COMBINATION OF SOLID-PHASE EXTRACTION AND DIFFUSE REFLECTANCE SPECTROSCOPY**ВИЗНАЧЕННЯ РЕЗОРЦИНУ У РІДКИХ ЛІКАРСЬКИХ ФОРМАХ МЕТОДОМ КОМБІНАЦІЇ ТВЕРДОФАЗНОЇ ЕКСТРАКЦІЇ І СПЕКТРОСПІ ДИФУЗНОГО ВІДБИТТЯ****Zaitseva G.M./ Зайцева Г. М.***c.ch.s., as.prof. / к..хім.н., доц.*

ORCID 0000-0003-3138-6324

Balgji K.N./ Балджи К. Н.*student /студент**Bogomolets National Medical University, Shevchenko Bul., 13., 01601**НМУ імені О.О.Богомольця, бульвар Шевченка, 13, 01601*

Анотація. Проведено дослідження сорбції резорцину з розчинів твердофазним екстрагентом з іммобілізованою 3-діазофеніларсоною кислотою. Визначено оптимальні умови твердофазної екстракції шляхом аналізу залежностей параметрів сорбції від рН, часу контакту фаз, концентрації резорцину у розчині. Показано можливість визначення вмісту резорцину у фазі твердофазного екстрагенту у вигляді його забарвленої азосполуки методом спектроскопії дифузного відбиття. Запропоновано методуку визначення резорцину у рідких лікарських формах.

Ключові слова: резорцин, рідка лікарська форма, твердофазна екстракція, реакція азосполучення на поверхні сорбента

Вступ.

Резорцин входить до складу антисептичних та дезинфікуючих препаратів, входить до складу лікарських засобів, які використовуються надшкірно [1], У стоматології резорцин-формалінова паста застосовується для лікування інфікованих каналів зубів. У косметології резорцин використовують як компонент для пілінгу, оскільки сполука стимулює регенерацію тканин і корегує обмін ліпідів у клітинах шкіри[1-3]. Резорцин блокує ферментативну активність дегідрогенази, викликає денатурацію білків протоплазми мікробів, з'єднується з полісахаридами стінок мікроорганізмів, але є неактивним до вірусів [1]. В той же час фенольні сполуки викликають загальнотоксичну, мутагенну і канцерогенну дію так як і гідрофобний фенол та його хлор-, нітро-, метилпохідні. Препарати з резорцином при передозуванні можуть викликати блювання, головний біль, спазми та судоми, стенокардію, алергічні реакції тощо [4]. Їх відносять до числа нормуючих компонентів.

Лікарські засоби, до складу яких входить резорцин, випускають у вигляді розчинів, мазей та порошків. Найбільш вживані є рідкі лікарські форми. Разові терапевтичні дози резорцину знаходяться у межах 1-2 мг.

Кількісний вміст резорцину у лікарських засобах визначають броматометрією зворотним титруванням [5]. Серед кольорових аналітичних реакцій для ідентифікації та визначення резорцину важливе місце займають реакції азосполучення [6]. Тому увага багатьох дослідників спрямована на можливість проведення таких реакцій на поверхні носія [7,8]. При виборі ТЕ



для вилучення фенолів дослідники приділяють увагу двом факторам. По-перше, максимально можливій селективності ТЕ по відношенню до фенолів, по-друге - мінімальній неспецифічній сорбції фенолів матрицею ТЕ. Окрім того, властивості ТЕ залежать і від способу модифікації його поверхні. Одним із перспективних ТЕ є кремнезем з іммобілізованою 3-діазофеніларсоною кислотою ($\text{SiO}_2\text{-DPhAs}$), що обумовлено високим молярним коефіцієнтом поглинання її азосполуки з фенолами, зокрема з резорцином [9]. Для синтезу цього ТЕ використано макропористу модифікацію кремнезему - Силохром С-120, що створило передумови для зменшення вкладу неспецифічної сорбції процесу за рахунок відсутності мезопор у носія.

В даній роботі запропоновано новий підхід для визначення резорцину у лікарських засобах. Він базується на реакції діазотування на поверхні $\text{SiO}_2\text{-DPhAs}$. Концентрація іммобілізованої 3-діазофеніларсоною кислоти на поверхні $\text{SiO}_2\text{-DPhAs}$ 52 мкмоль/г.

Об'єктами дослідження обрано лікарські засоби, які виготовляються в аптечних умовах (рідкі лікарські форми) за рецептами:

Rp. Sol. Resorcini 2%. Використовується як примочка.

Rp. Sol. Resorcini 0,1%. Вушні краплі. (Resorcini 0,1; Spiritus vini 95° 5,0; Aq. destill. 15,0)

Вихідний розчин резорцину з концентрацією $1,0 \cdot 10^{-2}$ М готували шляхом розчинення точної наважки резорцину (фармацевтичний) у дистильованій воді. Розчини з меншою концентрацією готували розведенням вихідного перед проведенням експерименту.

Стандартні буферні розчини з рН 1,68; 4,01; 6,86; 8,0; 9,18, 0,1 М розчини HCl і NaOH готували зі стандарт -титрів (фіксаналів).

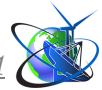
Електронні спектри дифузного відбиття (ЕСДВ) зразків ТЕ, що містить на поверхні з'єднання резорцину із діазосіллю реєстрували на «Densitometer CS-9301 PC» (Shimadzu) у інтервалі 200-650 нм. Умови детектування: спосіб вимірювання – відбиття (Al_2O_3), розмір променя – 1×1 мм, режим сканування – лінійний, маса ТЕ – 0.05-0.1 г.

Оптичну густина розчинів вимірювали на КФК-3.

Сорбційно-десорбційні процеси досліджували шляхом контакту $\text{SiO}_2\text{-DPhAs}$ з розчинами зразків лікарських засобів у залежності від кислотності середовища у статичному режимі. Для цього 0,05 г $\text{SiO}_2\text{-DPhAs}$ контактували з 25 мл рочину $1,0 \cdot 10^{-4}$ М резорцину із заданим значенням рН. Значення рН створювали стандартними буферними розчинами. Отримані суспензії перемішували впродовж 2-3 хв на магнітних мішалках. Тверду фазу відділяли від розчинів центрифугуванням.

Вплив тривалості контакту $\text{SiO}_2\text{-DPhAs}$ - розчин резорцину на ступінь вилучення резорцину з розчину вивчали за таких умов: $m(\text{SiO}_2\text{-DPhAs})=0,1\text{г}$, $C(\text{резорцину})=1,0 \cdot 10^{-4}$ М, рН=6,86 за методикою наведеною вище.

Концентрацію резорцину у розчинах зразків до сорбції, після контакту з $\text{SiO}_2\text{-DPhAs}$ чи у елюаті визначали спектрофотометрично [9], а вміст резорцину на поверхні ТЕ - виміром аналітичного сигналу в ЕСДВ.



Результати та їх обговорення

Область оптимальних значень рН взаємодії активованих фенолів з солями арилдіазонію визначається природою азо- і діазо компонент [6]. Так як кремнеземна матриця стабільна в інтервалі рН 1-9, то використання іммобілізованої солі арилдіазонію для сорбційного концентрування та наступного спектроскопічного визначення має певні обмеження. В першу чергу це відноситься до рН азосполучення. Тому, для встановлення оптимальних умов взаємодії фенолів з ДА-SiO₂ було досліджено їх сорбцію в інтервалі рН 1-9. Результати вивчення впливу рН на ступінь сорбції резорцину на SiO₂-DPhAs показують, що сорбція резорцину спостерігається у слабо кислому середовищі і досягає максимальних значень при рН ≥ 8 (Рисунок 1 А). Значення функції Кубелки-Мунка збільшуються з підвищенням рН і досягають максимальних значень у області рН оптимальної сорбції (Рисунок 1В)

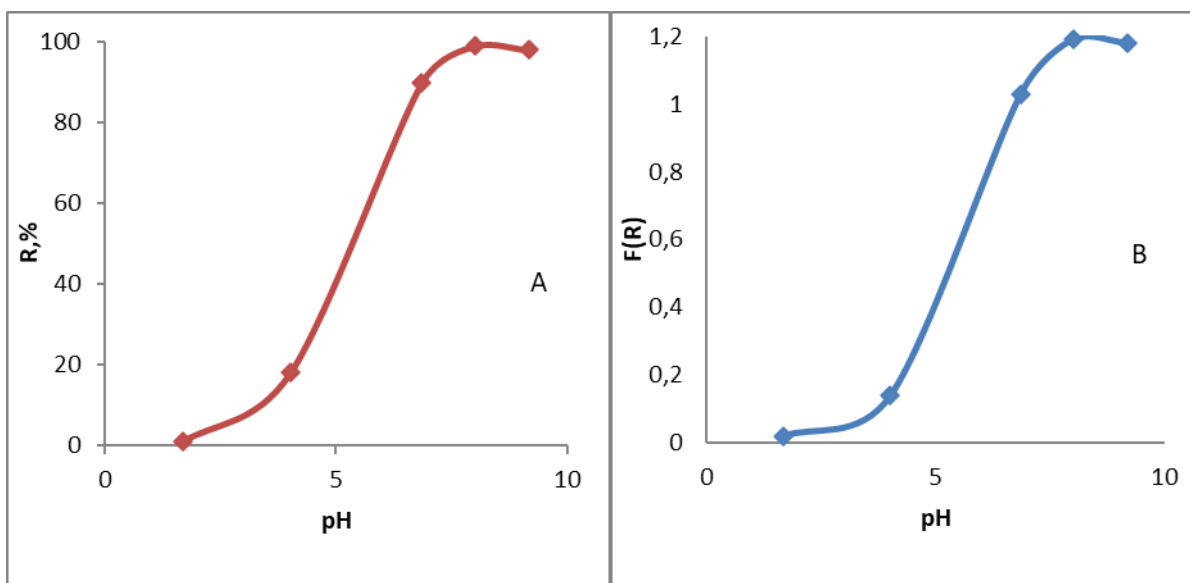


Рисунок 1. Залежність ступеня вилучення резорцину (А) та функції Кубелки-Мунка (В) від рН розчину, $m = 0.05\text{г}$, $V = 25\text{ мл}$, $C(\text{резорцину}) = 1 \cdot 10^{-4}\text{ моль/л}$, $\tau = 2\text{ хв}$.

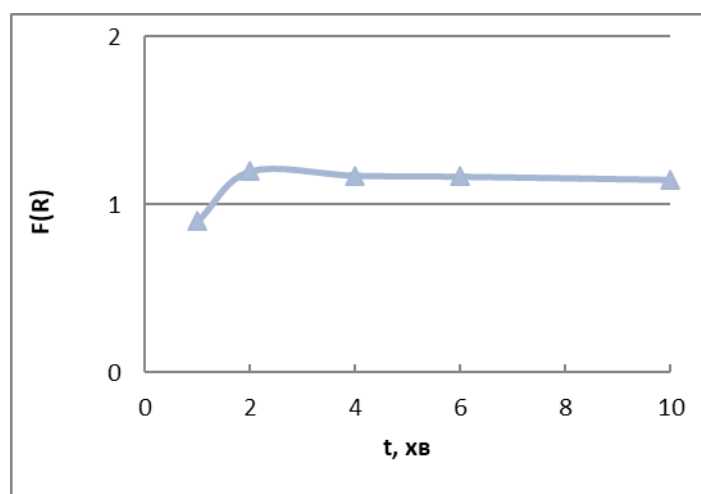


Рисунок 2. Залежність функції Кубелки-Мунка від часу контакту фаз SiO₂-DphAs : резорцин; рН = 8,0, $C(\text{резорцину}) = 2 \cdot 10^{-5}\text{ М}$, $V(\text{розчину}) = 25\text{ мл}$, $m(\text{SiO}_2\text{-DphAs}) = 0.05\text{ г}$.



Результати дослідження впливу тривалості контакту фаз резорцин/SiO₂-DphAs показали, що інтенсивність забарвлення поверхні досягає максимуму впродовж 2хв (Рисунок 2).

У ЕСДВ SiO₂-DphAs відсутні смуги поглинання у видимій області спектру, в той час як азосполука на поверхні характеризується наявністю інтенсивної смуги поглинання з максимумом при 448 нм (Рисунок 3).

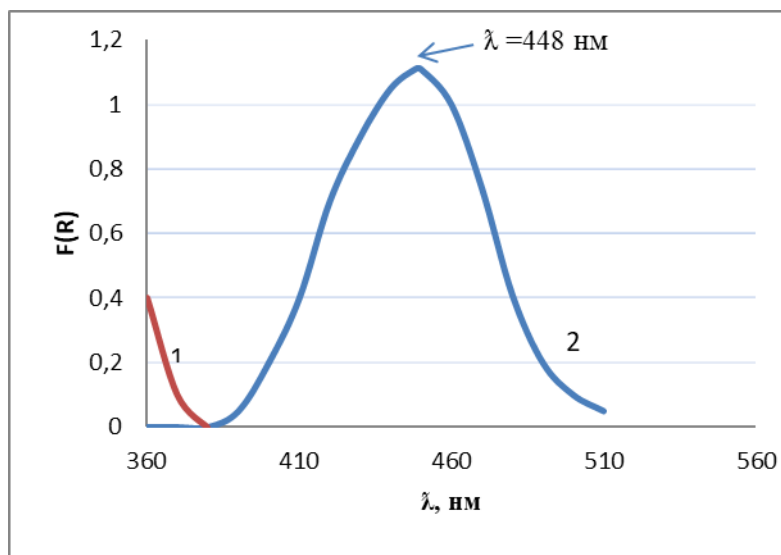


Рисунок 3. Електронні спектри дифузного відбиття SiO₂-DphAs (1) та SiO₂-DphAs/резорцин (2) при pH = 8,0 у функції Кубелки-Мунка. С (резорцину) = 1·10⁻⁴ М, m_c = 0.1 г,

Положення смуги поглинання 448 нм корелює з характерним поглинанням відповідної азосполуки у розчині [6] і є підтвердженням взаємодії резорцину з SiO₂-DphAs за реакцією азосполучення.

Яскраве забарвлення твердої фази від жовтого до жовтогарячого як аналітичний сигнал та швидке встановлення рівноваги у системі дозволили запропонувати методику визначення резорцину у розчинах рідких лікарських форм.

Принцип методу базується на вилученні резорцину з розчину зразку на поверхні SiO₂-DphAs з утворенням інтенсивно забарвленої діазосполуки на поверхні сорбенту, інтенсивність якої реєструють за допомогою спектроскопії дифузного відбиття.

Присутні компоненти у зразках рідких лікарських форм не перешкоджають визначенню резорцину оскільки не реагують з SiO₂-DPhAs, що свідчить про специфічність методу.

Методика аналізу.

Аліквотну частину рідкої лікарської форми (Зразок 1-0,2 мл, Зразок 2- 5мл) переносять у мірну колбу місткістю 25 мл, додають 5 мл буферного розчину з pH=8 і доводять до позначки дистильованою водою та перемішують. Приготовлений розчин додають до 0,05 г SiO₂-DPhAs у контактній колбі. Отриману суспензію перемішують впродовж 2 хв на магнітній мішалці. Тверду фазу відокремлюють фільтруванням, промивають водою та висушують на



повітрі. ЕСДВ записують при 448 нм з використанням значення функції Кубелки-Мунка. Паралельно проводять через процедуру аналізу холостий дослід.

Концентрацію резорцину у рідкій лікарській формі розраховують за градувальним графіком, Метрологічні параметри градувального графіка: $y = 2,0701x + 0,0116$ з довірчими інтервалами для коефіцієнта a : $0,0116 \pm 0,0191$ та для коефіцієнта b : $2,0701 \pm 0,0861$. Визначені статистичні характеристики відповідають вимогам Державної Фармакопеї України (ДФУ), тому методику можна вважати лінійною [5,10].

Результати визначення вмісту резорцину у зразках рідких лікарських форм наведено у Таблиці. Дослідження повторювали через певний проміжок часу.

Таблиця. Визначення вмісту резорцину у рідких лікарських формах.
 $m(\text{SiO}_2\text{DPhAs}) = 0.05$ г; V (розчину) = 25 мл, рН 8, $\tau = 2$ хв, $n=5$, $P = 0.95$,
 метод визначення - ЕСДВ.

Зразок	Дослід	Знайдено резорцину, %	Дисперсія, s^2	Відносна похибка середнього значення, $\bar{\epsilon}$
1	1	1,97	$4,92 \cdot 10^{-4}$	0,49%
	2	2,12	$5,73 \cdot 10^{-4}$	0,58%
2	1	0,09	$3,85 \cdot 10^{-6}$	0,32%
	2	0,08	$5,67 \cdot 10^{-6}$	0,62%

Відносне стандартне відхилення (RSD) дорівнює 1,31% та 2,18%, а відносний довірчий інтервал 0,44% та 0,74% для Зразку 1 та Зразку 2 відповідно. (%)

Результати експерименту свідчать про кореляцію вмісту резорцину, визначеного запропонованим методом з регламентованим вмістом резорцину у зразках. Величини відносного стандартного відхилення та відносного довірчого інтервалу вказують, що розроблена методика характеризується задовільною правильністю та відтворюваністю. Високий коефіцієнт кореляції та вибірковість по відношенню до резорцину відкривають можливість застосування $\text{SiO}_2\text{-DphAs}$ для контролю вмісту резорцину в рідких лікарських формах.

Висновки

У результаті проведеного дослідження визначено оптимальні характеристики вилучення резорцину на кремнеземі з іммобілізованою Здіазофеніларсоною кислотою ($\text{SiO}_2\text{-DphAs}$) та показано можливість визначення резорцину у вигляді азосполуки на поверхні твердофазного екстрагенту методом СДВО. Запропонована методика кількісного визначення резорцину у рідких лікарських формах за специфічністю, лінійністю, правильністю та відтворюваністю відповідає критеріям прийнятності згідно ДФУ.



Література

1. Ширококов В. П. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія: підручник для студ. вищ. мед. навч. закл. Видання 3-е, перероблене і доповнене / Ширококов В.П. Климнюк С.І., Понятовський В.А. та інюб – Вінниця: Нова Книга, 2021. – 920 с.
2. Довідник еквівалентності лікарських засобів Rx index Спеціалізоване медичне видання / за ред І.А. Зупанця, В.П. Черних 4 вид. перероблене К.: Фармацевт практик- 2020. – 2033 с.
3. Фармакологія за Рангом і Дейлом, пер.9-го англ.вид. у 2-х томах Т.1/Джеймс М.Рітер, Род Флавер, Грем Гендерсон, Юн Конг Лоук, Девід Мак К,юн, Гемфрі П Ранг; Наук.ред.перекл. Ганна Зайченко, Микола Хайтович.- К.ВСВ ”Медицина“, 2021-588 с.
4. Побічна дія ліків: підручник для студентів вищих навчальних закладів медичної освіти / Беленічев І.Ф., Горчакова Н.О., Бухтіярова Н.В, Самура Т.А., Бухтіярова Т.А., Нагорна О.О., Моргунцова С.А., Єгоров А.А., Риженко О.В., Тихоновський О.В.; Запорізький державний медичний Університет. -Вінниця: Нова книга, 2021. – 360 с.
5. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. - Харків, 2015. в 3 т. - Т.1. - 1128 с.
6. Лучкевич Є.Р. Особливості механізму реакції діазотування ароматичних амінів (огляд) / Є.Р. Лучкевич, М.Г. Мокляк // Вісник Прикарп. ун-ту ім. В.Стефаника. Сер. Хімія. – 2009. – Вип. VII. – С. 4 – 23.
7. Халаф В.А., Зайцев В.М., Зайцева Г.М. Методи концентрування та визначення фенольних сполук (Огляд)/ МОХА, -2008, -Т3, -№1.- С. 4-21.
8. V. Zaitsev, V. Khalaf, G. Zaitseva. Organosilica composite for preconcentration of phenolic compounds from aqueous solutions /Anal Bioanal Chem. -2008, -V. 391, - P.1335–1342.
9. В.Н. Зайцев, В.А. Халаф, Г.М. Зайцева. Твердофазний екстрагент на основі кремнезему, модифікованого сіллю арилдіазонію, для вилучення фенолу. //Укр. Хим. Журн. -2006. -Т.72, -№ 2.-С. 105-109.
10. Пушкарьова, Я. М., Зайцева Г, М.. Основи хімічної метрології : навчально-методичний посібник / Національний медичний університет імені О.О. Богомольця. 2024. -115 с.

Abstract. A study of the sorption of resorcinol from solutions by a solid-phase extractant with immobilized 3-diazophenylarsonic acid was carried out. The optimal conditions for solid-phase extraction were determined by analyzing the dependence of sorption parameters on pH, phase contact time, and resorcinol concentration in the solution. The possibility of determining the content of resorcinol in the phase of the solid-phase extractant in the form of its colored azo compound by the method of diffuse reflectance spectroscopy is shown. A method for determining resorcinol in liquid dosage forms is proposed.

Key words: resorcinol, liquid dosage form, solid-phase extraction, azo-compound reaction on the surface of the sorbent