

Р. Ф. Бакеева, Т. С. Горбунова, О. Э. Вахитова, А. И. Гайсина,
Л. М. Юсупова, С. Ю. Гармонов, В. Ф. Сопин

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ *p*-АМИНОФЕНОЛА В ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТАХ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ 5,7-ДИХЛОР-4,6-ДИНИТРОБЕНЗОФУРОКСАНА КАК РЕАГЕНТА В МИЦЕЛЛЯРНОЙ СРЕДЕ

Казанский государственный технологический университет, Казань, Россия

Разработана методика определения *p*-аминофенола спектрофотометрическим методом в мицеллярных водно-диметилсульфоксидных средах на основе неионного поверхностно-активного вещества (НПАВ) — тритона X-100 (Тг X-100) с использованием 5,7-дихлор-4,6-динитробензофураксана в качестве реагента. Методика позволяет определять *p*-аминофенол в парацетамоле на уровне более низком, чем его предельно допустимое содержание. Показано, что присутствие НПАВ в виде мицелл повышает чувствительность определений относительно стандартизованных методик.

Ключевые слова: *p*-аминофенол, лекарственные препараты, спектрофотометрия.

p-Аминофенол находит применение в химико-фармацевтическом синтезе парацетамола, являющегося одним из базовых антипиретиков в повседневной медицине [1]. В связи с высокой токсичностью *p*-аминофенола (ПАФ) его содержание требует оперативного контроля как в синтетических смесях при проведении технологического процесса, так и в готовых лекарственных препаратах на основе парацетамола.

Спектрофотометрическое определение ПАФ основано на получении его производных с альдегидами, солями церия, диазопроизводных ПАФ, а также индофенольной реакции [2 – 4]. Однако большинство спектрохимических реакций получения производных ПАФ характеризуется невысокой избирательностью и чувствительностью определений. Применение производных динитробензофураксана в качестве фотометрических реагентов осложняется их нерастворимостью в воде и нестабильностью аналитических систем на их основе [5]. В то же время уникальные свойства поверхностно-активных веществ (ПАВ) позволяют использовать их для модификации аналитических реагентов при определении как неорганических, так и органических веществ [6]. Поэтому актуальной является задача определения ароматических аминов, в частности с использованием наноструктурированных коллоидных систем на основе ПАВ.

В связи с этим целью настоящей работы является разработка методики определения *p*-аминофенола в лекарственных препаратах с использованием модифицированного поверхностно-активным веществом 5,7-дихлор-4,6-динитробензофураксана.

Экспериментальная часть

В работе использовался цетилтриметиламмоний бромид (I) фирмы “Sigma”, перекристаллизованный из водно-эфирной смеси. Неионное ПАВ оксиэтилированный алкилфенол Triton X-100 фирмы “Sigma” использовали без очистки. Молекулярная масса

661 г/моль, определялась с помощью масс-спектрокопии.

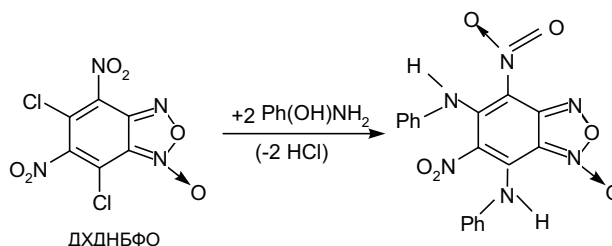
5,7-Дихлор-4,6-динитробензофураксан (II) синтезирован по известным методикам [7 – 9]. *p*-Аминофенол — препарат коммерческого изготовления (ОАО “Химпром”, Новоcheбоксарск). Лекарственные вещества (парацетамол, ацетилсалициловая кислота, аскорбиновая кислота) — фармакопейной чистоты.

Для приготовления растворов использовали воду, очищенную на установке “Millipore compact laboratory high purity system”.

Тензиометрические определения проводили с помощью тензиометра Дю-Нуи, методом отрыва платинового кольца согласно ГОСТ Р 50003 – 92. Анализ проводился термостатированием при $25 \pm 0,2$ °С. Для потенциометрических измерений использовался рН-метр (рН 150 М) с применением мембранного бромид-селективного электрода бромид “Critur” тип 35-17. Спектрофотометрические измерения проводили в кварцевых кюветах толщиной поглощающего слоя 0,2; 0,5; 1,00; 3,00 и 5,00 см на спектрофотометрах СФ-2000 и КФК-3. Определение критической концентрации мицеллообразования проводили согласно ГОСТ 29232-91.

Результаты и их обсуждение

Взаимодействие бензофураксана (БФО) с ароматическими аминами протекает согласно схеме.



Добавление в среду протекания реакции поверхностно активных веществ (в данной работе I и Тг X-100)

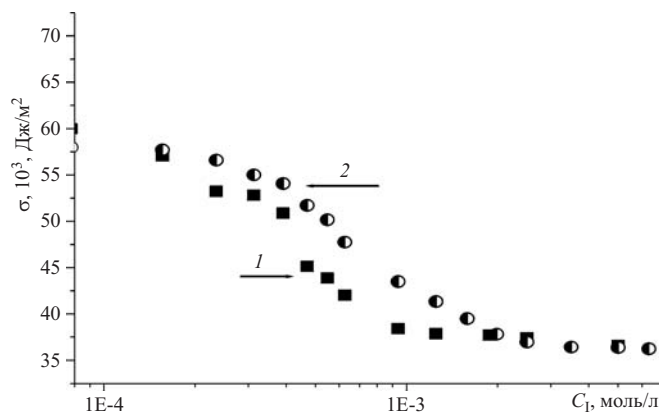


Рис. 1. Изотермы поверхностного натяжения растворов: 1 – I – H₂O; 2 – II – H₂O – ДМСО (80/20 %).

приводит к появлению мицеллярной псевдофазы. В системе до определенной концентрации существуют молекулы ПАВ, а по достижении критической концентрации мицеллообразования (ККМ) формируются мицеллы [10]. Величина ККМ зависит от природы ПАВ и природы растворителя [10]. Существенным в данном случае является то, что протекание реакций возможно как в объеме растворителя, так и в мицеллярной псевдофазе [11]. Скорости этих реакций могут увеличиваться как за счет переноса реакционных центров в более благоприятную среду — в мицеллярную псевдофазу, так и за счет концентрирования реагентов в мицеллярной псевдофазе [11]. Возможно также различное влияние молекул и мицелл ПАВ на направление химических процессов.

Для определения области существования ПАВ в виде молекул или мицелл ПАВ тензиометрическим методом были определены величины ККМ. Как известно, при введении ПАВ в раствор снижается поверхностное натяжение (σ , Дж/м²). По достижении ККМ это снижение прекращается и наклон зависимости $\sigma = f(C_{\text{ПАВ}})$ падает. На рис. 1 и 2 представлены кривые зависимости величин поверхностного натяжения от концентрации I в системе I — ДМСО.

Значения ККМ, определенные из этих кривых по точкам перегиба, приведены в табл. 1. Значения ККМ согласуются с данными, полученными путем потенциометрических измерений с помощью бромид-селективного электрода. В этом случае, по достижении ККМ в системах I — H₂O и I — H₂O — ДМСО (80/20 %) часть Вг⁻ ионов концентрируется на мицелле, что ведет к снижению их концентрации в растворе и изменению наклона зависимости $E = f(C_1)$ при мицеллообразовании [12].

Как следует из полученных данных (табл. 1), введение органического растворителя в водные растворы ПАВ приводит к увеличению ККМ более чем в 2 раза, очевидно, за счет уменьшения диэлектрической проницаемости среды, что сопровождается увеличением силы отталкивания между органическими ионами ПАВ.

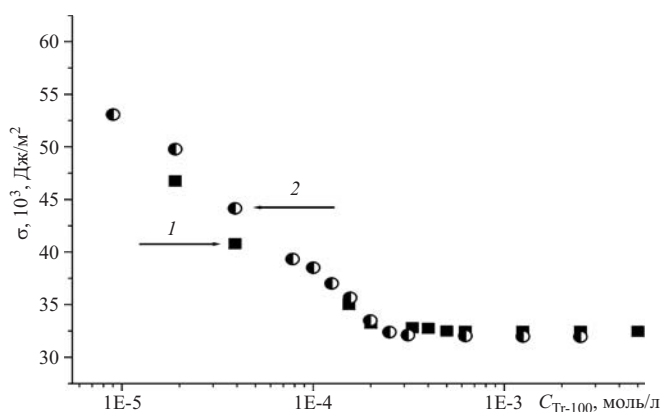


Рис. 2. Изотермы поверхностного натяжения растворов: 1 – Tr X-100 – H₂O; 2 – Tr X-100 – H₂O – ДМСО.

Как известно, II в воде не растворяется. В присутствии I в водно-диметилсульфоксидных системах наблюдалось растворение II в малых концентрациях. В табл. 2 представлены значения ККМ_I в системах I — II — вода при различных концентрациях II. Можно видеть отсутствие заметного влияния его на ККМ_I, то есть на мицеллообразование.

Увеличение концентрации II приводит к ухудшению растворимости и делает невозможными измерения по достижении концентрации, равной и выше $1,00 \cdot 10^{-3}$ М, вследствие выпадения осадка. Для установления области существования устойчивых растворов в присутствии I, мы проводили измерение спектра мутности системы I — H₂O — II спектрофотометрическим методом. На рис. 3 представлен спектр поглощения мицеллярного раствора II, в котором регистрируются 2 полосы поглощения. Максимум полосы, находящийся в области длин волн 330–340 нм, не чувствителен к природе растворителя и к присутствию ПАВ. Что касается второй полосы, то добавление катионного ПАВ (I) приводит к ее гипсохромному сдвигу, что свидетельствует об образовании ассоциатов.

Зависимость изменения мутности системы I — II — ДМСО — вода от концентрации I позволяет установить стехиометрический состав образующихся ассоциатов цетилтриметиламмоний⁺БФО⁻. Для них соотношение компонентов составляет ~ 1:1, поскольку минимальное поглощение приходится на это соотношение C_I/C_{II} (рис. 4). Повышение концентрации I в 2–4 раза по отношению к II предотвращает образование твердой фазы.

В качестве модифицирующего систему неионного ПАВ нами использовался тритон X 100 (Tr X-100). Как можно видеть (табл. 2), присутствие II оказывает влияние на мицеллообразующие свойства Tr X-100. С увеличением его концентрации величина ККМ уменьшается, что свидетельствует о его солубилизации мицеллами ПАВ. Этим же объясняется, по-видимому, и растворение II в водосодержащих системах с Tr X-100 без собственных катионному ПАВ ограничений. Солубилизация, как известно, проявляется в резком повышении растворимости в воде в присутствии мицелл

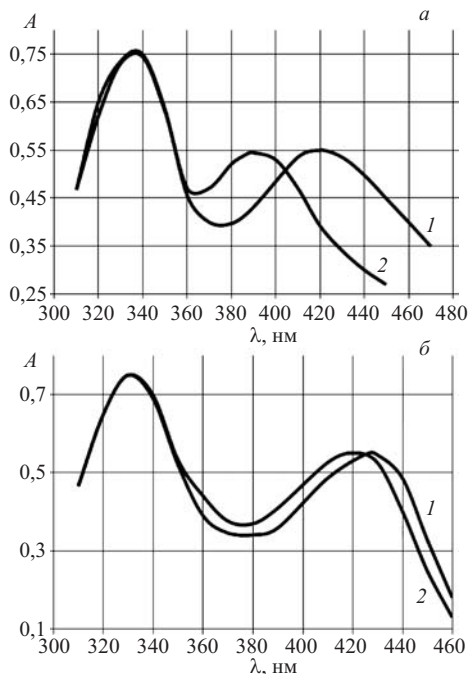


Рис. 3. Спектры поглощения растворов II: а) 1 — в отсутствие ЦТАБ; 2 — в присутствии ЦТАБ ($C_{II} = 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л; $C_I = 3,5 \cdot 10^{-3}$ моль/л; $l = 1$ см); б) 1 — в отсутствие Тг X-100; 2 — в присутствии Тг X-100 ($C_{II} = 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л, $C_{Тг-X100} = 1,25 \cdot 10^{-3}$ моль/л, $l = 1$ см).

ПАВ малополярных органических соединений, например, таких как II. При этом молекулы солюбилизата могут локализоваться как внутри мицелл, так и на их

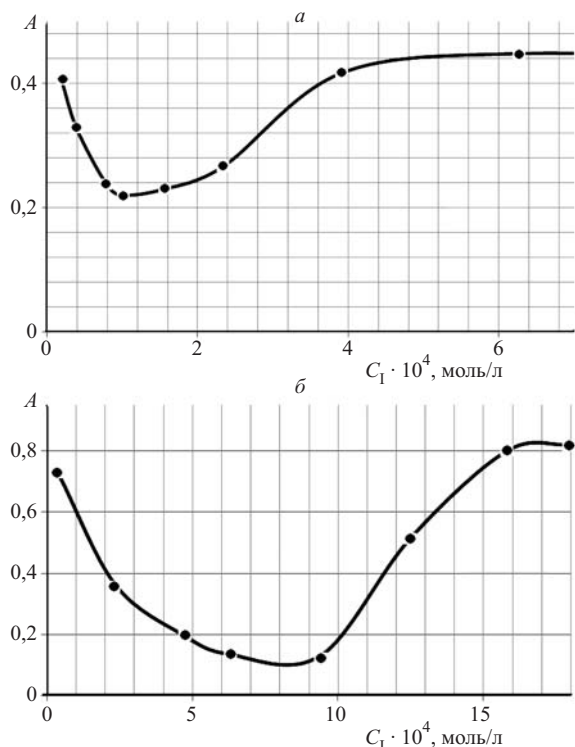


Рис. 4. Зависимость оптической плотности системы I — II — ДМСО — H₂O от концентрации I: а) $C_{II} = 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л; $\lambda_{max} = 340$ нм; $l = 0,5$ см; б) $C_{II} = 1 \cdot 10^{-3}$ моль/л; $\lambda_{max} = 340$ нм; $l = 0,2$ см.

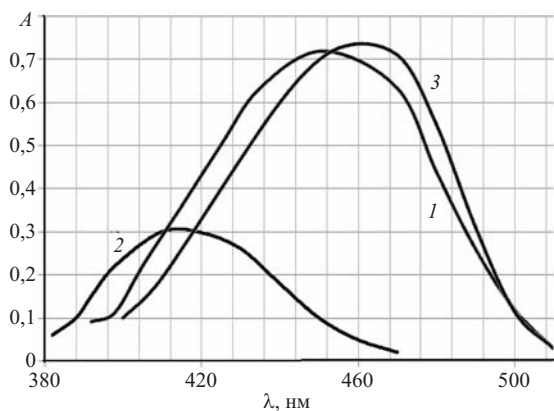


Рис. 5. Спектры поглощения; 1 — выделенного продукта синтеза II с ПАФ ($C = 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л); 2 и 3 — продуктов взаимодействия ПАФ с II в присутствии соответственно I и Тг X-100 ($C_{II} = 0,75 \cdot 10^{-4}$ моль/л, $C_{ПАФ} = 3 \cdot 10^{-4}$ моль/л, $C_I = 3,5 \cdot 10^{-3}$ моль/л; $C_{Тг X-100} = 1,25 \cdot 10^{-3}$ моль/л, $l = 1$ см).

поверхности, располагаясь между изогнутыми полиоксиэтиленовыми цепями алкилфенола [13]. Это расширяет возможности использования II в качестве аналитического реагента, распространяя область его применения на определение низких содержаний токсикантов в водных системах.

Количественно солюбилизирующая способность или мольная солюбилизация (S_m) (количество молей солюбилизата, отнесенного к 1 моль мицеллярного ПАВ [13]) системы Тг X-100 — H₂O — ДМСО к II определялась нами спектрофотометрическим методом

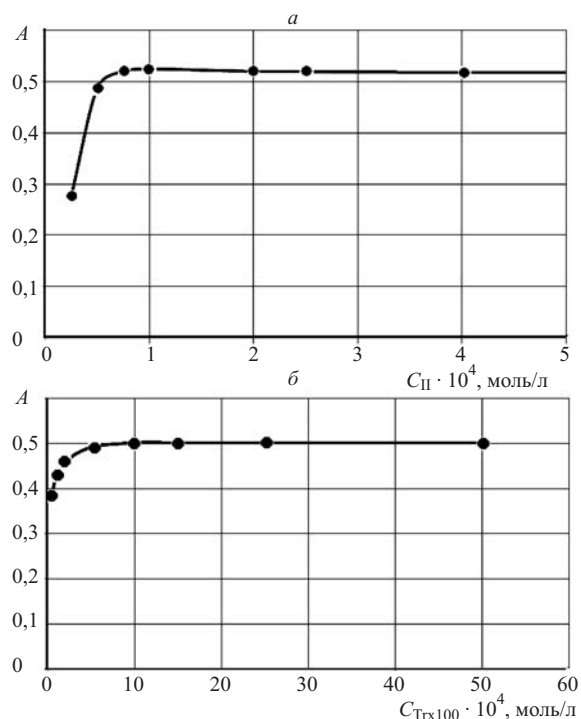


Рис. 6. Зависимость оптической плотности (A_{460}) 5,7-дихлор-4,6-динитробензофуоксанового производного ПАФ от концентрации: а) II или соотношения $C_{II}/C_{ПАФ}$ ($C_{ПАФ} = 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л; $C_{Тг-X100} = 2,5 \cdot 10^{-3}$ моль/л; $l = 1$ см); б) Тг X-100 ($C_{ПАФ} = 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л; $C_{II} = 2 \cdot 10^{-4}$ моль/л; $l = 1$ см).

Таблица 1
Величины ККМ, определенные тензиометрическим и потенциометрическим методами для систем ПАВ — H₂O и ПАВ — H₂O — ДМСО

Состав растворителя	ПАВ	$C_{\text{ККМ}} \cdot 10^3$, моль/л	$\sigma_{\text{ККМ}} \cdot 10^3$, Дж/м ²
H ₂ O	I	0,977 ± 0,012*	39,80
	Tr X-100	0,2090 ± 0,001*	32,19
H ₂ O — ДМСО (80/20, %)	I	2,089 ± 0,040*	36,50
	Tr X-100	0,2291 ± 0,002*	32,40

* Определено тензиометрическим методом.

** Определено потенциометрическим методом.

(табл. 3). Полученные данные показывают, что количество солубилизованного вещества увеличивается пропорционально концентрации раствора Tr X-100.

Увеличение содержания воды не приводит к заметному ухудшению растворимости и к изменению спектральных характеристик II. Его растворы сохраняют свою устойчивость продолжительное время, в то время как в отсутствие ПАВ продолжительность хранения II в среде ДМСО составляет не более 2 ч. Об этом можно судить по изменению спектральных характеристик во времени.

Таким образом, образование солубилизаторов способствует повышению растворимости и стабильности растворов II, что позволяет устранить основные препятствия применения II в качестве аналитического реагента.

В основе аналитического применения II лежит реакция нуклеофильного замещения, которая может быть использована для определения ароматических аминов, в частности ПАФ.

Изучение спектра поглощения выделенного продукта синтеза II с ПАФ показало, что в присутствии I полоса поглощения продукта смещается в коротковолновую область, что свидетельствует об образовании *o*-хинондиоксида, протекающего с раскрытием фуранового кольца и последующими превращениями [14] (рис. 5). Это делает нецелесообразным использование катионных ПАВ для модификации II с целью аналитического применения, однако открывает возможности управления реакцией мицеллярной системы с целью получения новых продуктов, труднодоступных для других методов синтеза.

Таблица 3
Определение солубилизирующей способности Tr X-100 к II (растворитель — H₂O; $\lambda_{\text{max}} = 420$ нм; $C_{\text{Tr-X100}} > C_{\text{ККМ}}$)

$C_{\text{Tr-X100}} \cdot 10^4$, моль/л	$A_{\text{ср}}$	$C_{\text{S}} \cdot 10^4$, моль/л	S_{m}
2,51	0,040	0,065	0,0259
6,25	0,115	0,230	0,0368
12,50	0,440	0,615	0,0492

Таблица 2
Величины ККМ в присутствии различных количеств II в системах I — II — H₂O — ДМСО и Tr X-100 — II — H₂O — ДМСО

ПАВ	C_{II} , моль/л	$C_{\text{ККМ}} \cdot 10^3$, моль/л	$\sigma_{\text{ККМ}} \cdot 10^3$, Дж/м ²
I	$1,00 \cdot 10^{-5}$	2,042	36,20
	$1,00 \cdot 10^{-4}$	2,020	34,52
	$1,00 \cdot 10^{-3}$	Образование осадка	
Tr X-100	$1,00 \cdot 10^{-4}$	0,2138	33,00
	$1,00 \cdot 10^{-3}$	0,1995	32,60
	$1,00 \cdot 10^{-2}$	0,1660	32,45

Спектр поглощения продукта реакции в присутствии неионного ПАВ (Tr-X100) содержит полосу поглощения практически в той же области длин волн, что и выделенный продукт, что подтверждает их идентичность и отсутствие влияния Tr X-100 на направление реакции (рис. 5).

Присутствие неионного ПАВ делает возможным протекание реакции нуклеофильного замещения в водосодержащих средах, причем с высокой скоростью, что, возможно, объясняется мицеллярным катализом, поскольку амины также способны солубилизоваться в мицеллах [10].

При добавлении II в течение 30 мин устанавливается окраска, которая сохраняется в течение долгого времени (интенсивность и положение полосы поглощения при 420 нм не меняется в течении 10 сут).

Для оптимизации расхода реагента и алкилфенола нами изучены зависимости оптической плотности полосы поглощения продукта от концентрации II и Tr X-100 (рис. 6), из которых можно видеть, что для количественного протекания реакции достаточно двукратного избытка реагента, в то время как проведение этой реакции в среде ДМСО в отсутствие ПАВ, требует 20-кратного избытка реагента. Таким образом, использование наноструктурированной мицеллярной среды для протекания реакции позволяет значительно снизить рабочую концентрацию реагента без потери эффективности аналитических определений.

Таблица 4
Мешающее влияние компонентов на результаты определения ПАФ ($n = 5$; $P = 0,95$)

Компоненты (А)	Содержание компонента $C(A)$, моль/л	Соотношение $\frac{C(A)}{C(\text{ПАФ})}$	Введено ПАФ, мкг/мл	Найдено ПАФ, мкг/мл	ν
Парацетамол	$0,50 \cdot 10^{-5}$	1:1	0,545	$0,540 \pm 0,020$	0,030
	$1,00 \cdot 10^{-4}$	10:1	1,090	$1,150 \pm 0,069$	0,048
	$2,50 \cdot 10^{-3}$	100:1	2,725	$2,77 \pm 0,16$	0,046
Аскорбиновая кислота	$5 \cdot 10^{-5}$	5:1	1,090	$1,053 \pm 0,045$	0,034
Ацетилсалициловая кислота	$5 \cdot 10^{-5}$	5:1	1,090	$1,093 \pm 0,046$	0,024
Фенол	$5 \cdot 10^{-5}$	5:1	1,090	$1,062 \pm 0,040$	0,030

Определение ПАФ в лекарственных формах ($n = 5, P = 0,95$)

Лекарственная форма	Фирма-изготовитель	Дата изготовления / предельный срок хранения	Содержание ПАФ, $\omega \cdot 10^3, \%$
Парацетамол	ОАО "Фармстандарт — Лексредства"	12.2007 / 01.2012	22,9 ± 1,4
Панадол	"Фамар С. А." (Греция) для "Смит Кляйн Бичем Консьюмер Хелскер" (Великобритания)	10.2007 / 10.2011	4,709 ± 0,060
Цитрамон П	ЗАО "Медисорб" (Пермь)	10.2007 / 11.2011	7,11 ± 0,21
Колдрекс	"СмитКляйн Бичем С. А." для "Глаксо Смит Кляйинн Консьюмер Хелскер"	06.2007 / 06.2010	6,10 ± 0,18

Зависимость оптической плотности от концентрации Tr X-100 выходит на предел при концентрациях ПАВ выше $C_{\text{ККМ}}$. Оптимальной является концентрация, равная $\sim 2,5 - 5 C_{\text{ККМ}}$. Линейность градуировочных зависимостей сохраняется во всем диапазоне определяемых концентраций и имеет вид:

$$A = -0,002 + (0,235 \pm 0,010)C \text{ (мкг/мл)}.$$

Верхняя граница диапазона определяемых содержаний ПАФ составляет 0,11 мг/мл. Нижняя граница диапазона определяемых содержаний (C_n) соответствует 0,054 мкг/мл ($0,50 \cdot 10^{-6}$ моль/л) или $\approx 0,0027 \%$. Это почти в 10 раз ниже, чем предел обнаружения ПАФ по стандартной методике с нитропруссидом натрия 0,5 мкг/мл [15] или с нитритом натрия [16]. Присутствие неионных ПАВ повышает чувствительность определений относительно стандартизованных методик. На примере модельных растворов нами проверена возможность спектрофотометрического определения ПАФ в присутствии лекарственных веществ. Полученные результаты удовлетворительны по своим метрологическим характеристикам (табл. 4). Это позволяет определять ПАФ в парацетамоле на уровне более низком, чем его предельно допустимое содержание.

В табл. 5 представлены результаты определения содержания ПАФ в готовых лекарственных формах различных производителей.

Таким образом, модификация II посредством иммобилизации в мицеллах неионогенного ПАВ может быть использована для повышения эффективности его применения в фармацевтическом анализе ароматических аминов. При этом спектрофотометрическому определению ПАФ не мешает присутствие как основ-

ного компонента матрицы (парацетамола), так и других вспомогательных компонентов.

ЛИТЕРАТУРА

1. М. Д. Машковский, *Лекарственные средства*, т. 2, Медицина, Москва (1993).
2. И. М. Коренман, *Фотометрический анализ. Методы определения органических соединений*, Химия, Москва (1970).
3. Р. Полюдек-Фабини, Т. Бейрих, *Органический анализ*, Химия, Ленинград (1981).
4. Н. П. Максютин, Ф. Е. Каган, Л. А. Кириченко, *Методы анализа лекарств*, Здоров'я, Киев (1984).
5. М. И. Евгеньев, С. Ю. Гармонов, Л. Ш. Шакирова, А. С. Брысаев, *Хим.-фарм. журн.*, **34**(5), 52 – 54 (2000).
6. С. Б. Саввин, С. Н. Чернова, С. Н. Штыков, *Поверхностно-активные вещества*, Наука, Москва (1991).
7. Патент России 2194990, С. Ю. Гармонов, И. Ф. Фаляхов, А. С. Салахова, В. Ф. Сопин, *Бюл. изобрет.*, № 35 (2002).
8. Патент России 2255935, И. Ф. Фаляхов, Л. В. Спатлова, Т. В. Гарипов, *Бюл. изобрет.*, № 19 (2005).
9. Патент России 1735745, М. И. Евгеньев, Ф. С. Левинсон, И. Ф. Фаляхов (1992).
10. А. И. Русанов, *Мицеллообразование в растворах поверхностно-активных веществ*, Химия, Санкт-Петербург (1992).
11. И. В. Березин, К. Мартинек, А. К. Яцемирский, *Успехи химии*, **41**(1), 1729 – 1736 (1973).
12. Ю. Г. Фролов, *Курс коллоидной химии. Поверхностные явления и дисперсные системы. Учебник для вузов*, Химия, Москва (1988).
13. К. Р. Ланге, *ПАВ: синтез, свойства, анализ, применение*, Л. П. Зайченко (ред.), Профессия, Санкт-Петербург (2004).
14. Л. И. Хмельницкий, Т. И. Новиков, Т. А. Годовикова, *Химия фуруксанов (реакции и применение)*, Наука, Москва (1996).
15. Британская Фармакопея, V. 1, London (1996).
16. Государственная Фармакопея СССР, изд. X, Медицина, Москва (1968).

Поступила 18.11.08

SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF *p*-AMINOPHENOL IN DRUGS USING 5,7-DICHLORO-4,6-DINITROBENZOFUROXAN REAGENT IN MICELLAR MEDIUM

R. F. Bakeeva, T. S. Gorbunova, O. E. Vakhitova, A. I. Gaisina, L. M. Yusupova, S. Yu. Garmonov, and V. F. Sopin

Kazan State Technological University, Kazan, Tatarstan, Russia

A new spectrophotometric method for determining *p*-aminophenol in micellar aqueous dimethyl sulfoxide (DMSO) media with nonionogenic surfactant Triton X-100 has been developed, which makes use of 5,7-dichloro-4,6-dinitrobenzofuroxan as an indicator reactant. Using the proposed method, it is possible to detect the admixture of *p*-aminophenol in paracetamol (acetaminophen) in such media on a level that is much lower than the limiting concentration. The presence of Triton X-100 in the form of micelles improves the sensitivity of spectrophotometric determination of the drug compared to that provided by the standard techniques.

Key words: *p*-aminophenol, drugs, spectrophotometry