

УДК 543

DOI <https://doi.org/10.32782/pcsd-2023-2-2>

Жолт КОРМОШ

кандидат хімічних наук, професор

ORCID: 0000-0001-6018-8787

Scopus Author ID: 35580134800

Леонід ГНІТЕЦЬКИЙ

кандидат наук з фізичного виховання і спорту, доцент, старший викладач кафедри освітніх, педагогічних технологій, ПВНЗ «Академія рекреаційних технологій і права», вул. Карбишева, 2, м. Луцьк, Україна, 43023

ORCID: 0000-0002-5677-457X

Андрій КОВАЛЬЧУК

старший викладач кафедри освітніх, педагогічних технологій, ПВНЗ «Академія рекреаційних технологій і права», вул. Карбишева, 2, м. Луцьк, Україна, 43023

ORCID: 0000-0001-5698-393X

Ігор САХАРУК

старший викладач кафедри освітніх, педагогічних технологій, ПВНЗ «Академія рекреаційних технологій і права», вул. Карбишева, 2, м. Луцьк, Україна, 43023

ORCID: 0000-0002-6145-4722

Олександр ХРИПЛЮК

старший викладач кафедри освітніх, педагогічних технологій, ПВНЗ «Академія рекреаційних технологій і права», вул. Карбишева, 2, м. Луцьк, Україна, 43023

ORCID: 0000-0002-3761-4087

Вадим ТЕСУНОВ

викладач вищої категорії, викладач-методист циклової комісії з професійної та практичної підготовки «Луцький фаховий коледж рекреаційних технологій і права», вул. Карбишева, 2, Луцьк, Україна, 43023; викладач кафедри освітніх, педагогічних технологій, ПВНЗ «Академія рекреаційних технологій і права», вул. Карбишева, 2, м. Луцьк, Україна, 43023

ORCID: 0009-0006-5833-3096

Анатолій КРОТ

викладач вищої категорії, циклової комісії з базової та фундаментальної підготовки, «Луцький фаховий коледж рекреаційних технологій і права» вул. Карбишева, 2, Луцьк, Україна, 43023; викладач кафедри освітніх, педагогічних технологій, ПВНЗ «Академія рекреаційних технологій і права», вул. Карбишева, 2, м. Луцьк, Україна, 43023

ORCID: 0009-0005-0991-7717

Степан БОРИСЮК

доцент кафедри освітніх, педагогічних технологій, ПВНЗ «Академія рекреаційних технологій і права», вул. Карбишева, 2, м. Луцьк, Україна, 43023

ORCID: 000-0002-1718-8236

Людмила ПИСКАЧ

кандидат хімічних наук, професор кафедри хімії та технологій, Волинський національний університет імені Лесі Українки, просп. Волі, 13, м. Луцьк, Волинська обл., Україна, 43025

ORCID: 0000-0003-3117-4006

Бібліографічний опис статті: Кормош, Ж., Гнітецький, Л., Ковальчук, А., Сахарук, І., Тесунов, В., Крот, А., Борисюк, С., Л., Піскач, Л. (2023). Фотометричне визначення фуросеміду в лікарських формах та біорідинах спортсменів. *Проблеми хімії та сталого розвитку*, 2, 11–15, doi: <https://doi.org/10.32782/pcsd-2023-2-2>

ФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ФУРОСЕМІДУ В ЛІКАРСЬКИХ ФОРМАХ ТА БІОРІДИНАХ СПОРТСМЕНІВ

Показано, що фуросемід (ФУР) з поліметиновим барвником астрафлорин FF (АФ) утворює іонний асоціат (ІА). Методом математичного моделювання обґрунтовано енергоефективність формування ІА. Молекулярне моделювання систем ФУР + АФ⁺ та пов'язані з ним розрахунки проводили з використанням пакета «HyperChem 8.0» для різноманітних початкових варіантів розташування протіонів відносно один одного (процедура «single point»). Геометричну оптимізацію іонів проводили методом молекулярної механіки ММ+. Отримані ІА досить добре екстрагуються різними ароматичними вуглеводнями. Максимальне виділення ІА з водної фази досягається при рН 5–9. Вивчено вплив концентрації барвника на оптичну густину толуольних екстрактів іонних асоціатів ФУР з АФ. Екстракція ІА досягає максимального значення при концентрації барвника $(1,5 - 3,0) \cdot 10^{-4}$ М. Рівновага екстракції досягається за 50–60 с. Стехіометрію ІА ФУР з АФ встановлено спектрофотометричними методами ізомольних серій та зсуву рівноваги; співвідношення компонентів складає 1:1. Запропоновано схему утворення та екстракції ІА. Умовний молярний коефіцієнт поглинання ІА становить $1,0 \cdot 10^5$. Градувальний графік залежності оптичної густини екстрактів від концентрації ФУР описується рівнянням прямої $A = 0,012 + 0,051c$ в інтервалі концентрації 0,8–45,6 мг/см³ ФУР. Межа виявлення ФУР, розрахована за 3s-критерієм ($n = 5$; $P = 0,95$), становить 0,7 мг/см³. Розроблена методика екстракційно-фотометричного визначення фуросеміду в лікарських формах та біорідинах спортсменів.

Ключові слова: фуросемід, екстракція, іонний асоціат, фотометричне визначення.

Zholt KORMOSH

PhD, Professor

ORCID: 0000-0001-6018-8787

Scopus Author ID: 35580134800

Leonid HNITETSKII

Candidate of Sciences in Physical Education and Sports, Associate Professor, Senior Lecturer at the Department of Educational, Pedagogical Technologies, Academy of Recreational Technologies and Law, St. Karbysheva, 2, Lutsk, Ukraine, 43023

ORCID: 0000-0002-5677-457X

Andrii KOVALCHUK

Senior Lecturer at the Department of Educational, Pedagogical Technologies, Academy of Recreational Technologies and Law, St. Karbysheva, 2, Lutsk, Ukraine, 43023

ORCID: 0000-0001-5698-393X

Igor SAKHARUK

Senior Lecturer at the Department of Educational, Pedagogical Technologies, Academy of Recreational Technologies and Law, St. Karbysheva, 2, Lutsk, Ukraine, 43023

ORCID: 0000-0002-6145-4722

Oleksandr HRYPLIUK

Senior Lecturer at the Department of Educational, Pedagogical Technologies, Academy of Recreational Technologies and Law, St. Karbysheva, 2, Lutsk, Ukraine, 43023

ORCID: 0000-0002-3761-4087

Vadym TESUNOV

Teacher of the Highest Category, Teacher-Methodologist Cycle Committee on Professional and Practical Training, "Lutsk Professional College of Recreational Technologies and Law", St. Karbysheva, 2, Lutsk, Ukraine, 43023; Lecturer at the Department of Educational, Pedagogical Technologies; Academy of Recreational Technologies and Law; St. Karbysheva, 2, Lutsk, Ukraine, 43023

ORCID: 0009-0006-5833-3096

Anatolii KROT

Teacher of the Highest Category, Cycle Commission on Basic and Fundamental Training, "Lutsk Professional College of Recreational Technologies and Law", St. Karbysheva, 2, Lutsk, Ukraine, 43023; Lecturer at the Department of Educational, Pedagogical Technologies, Academy of Recreational Technologies and Law, St. Karbysheva, 2, Lutsk, Ukraine, 43023

ORCID: 0009-0005-0991-7717

Stepan BORYSIUK

Associate Professor at the Department of Educational, Pedagogical Technologies, Academy of Recreational Technologies and Law, St. Karbysheva, 2, Lutsk, Ukraine, 43023

ORCID: 000-0002-1718-8236

Lyudmyla PISKACH

PhD in Chemistry, Professor at the Department of Chemistry and Technology, Lesya Ukrainka Volyn National University, 13 Voli ave., Lutsk, Volyn region, Ukraine, 43025

ORCID: 0000-0003-3117-4006

To cite this article: Kormosh, Zh., Hnitetyski, L., Kovalchuk, A., Sakharuk, I., Tesunov, V., Krot, A., Borysiuk, S., L., Piskach, L. (2023). Fotometrychne vyznachennia furosemidu v likarskykh formakh ta bioridynakh sportsmeniv [Photometric determination of furosemide in dosage forms and biofluids of athletes]. *Problems of Chemistry and Sustainable Development*, 2, 11–15, doi: <https://doi.org/10.32782/pcsd-2023-2-2>

PHOTOMETRIC DETERMINATION OF FUROSEMIDE IN MEDICINAL FORMS AND BIOFLUIDS OF ATHLETES

It was shown that furosemide (FUR) with the polymethine dye astrafoxin FF (AF) forms an ion associate (IA). Using the method of mathematical modeling, the energy efficiency of the formation of the IA is substantiated. Molecular modeling of FUR + AF⁺ systems and related calculations were carried out using the HyperChem 8.0 package for various initial options for the arrangement of counterions relative to each other ("single point" procedure). Geometrical optimization of ions was carried out using the MM+ molecular mechanics method. The resulting AIs are fairly well extracted with various aromatic hydrocarbons. The maximum extraction of IA from the aqueous phase is achieved at pH 5-9. The effects of dye concentration on the optical density of toluene extracts of ionic associates of FUR with AF was studied. IA extraction reaches its maximum value at a dye concentration of $(1.5-3.0) \cdot 10^{-4}$ M. The extraction equilibrium is reached in 50–60 s. The stoichiometry of IA FUR with AF was determined by spectrophotometric methods of isomolar series and equilibrium shift; the ratio of components is 1:1. A scheme for the formation and extraction of IA is proposed. The conditional molar absorption coefficient of IA is $1.0 \cdot 10^5$.

The graduation graph of the dependence of the optical density of the extracts on the concentration of FUR is described by the equation of the straight line $A = 0.012 + 0.051c$ in the concentration range of 0.8 – 45.6 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ of FUR. The detection limit of FUR, calculated according to the 3s criterion ($n = 5$; $P = 0.95$), is 0.7 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$. A method of extraction-photometric determination of furosemide in dosage forms and biofluids of athletes was developed.

Key words: furosemide, extraction, ion associate, photometric determination.

Вступ. Фуросемід (ФУР) володіє антигіпертензивною, сечогінною дією; потужний діуретик швидкої і короткочасної дії; діє на мозковий сегмент висхідної частини петлі Генле; підвищує вибіркоче виведення іонів натрію максимум до 35% і, залежно від дози, стимулює ренін-ангіотензин-альдостеронову систему; до настання справжнього діуретичного ефекту знижує переднавантаження серця у результаті розширення магістральних судин, при збереженій функції нирок і за відсутності виражених набряків (Безуглий, 2008).

При тривалому застосуванні у високих дозах – гіпокаліємія, гіпонатріємія, гіпокальціємія, гіпо-

волемія, дегідратація і схильність до тромбоутворення, інших порушень водно-електролітного балансу організму, гіпотензія, діарея, запор, порушення слуху, висипання, лейкопенія, агранулоцитоз, тромбоцитопенія, анафілактичний шок, тимчасове підвищення рівня креатиніну, сечовини, холестерину і тригліцеридів у крові, а також прискорене виділення іонів кальцію із сечею, погіршення наявного ЦД та подагри або прояви симптомів латентного до того часу ЦД, при застосуванні більш високих доз хворими похилого віку можливий розвиток циркуляторного колапсу (Нековаль, Казанюк, 2011).

У спорті діуретики застосовуються спортсменами з метою: – швидкого зменшення маси тіла (до 2 кг за 2–3 доби) – це характерно для таких видів спорту – боротьба, дзюдо, бокс, де необхідно відповідати конкретній ваговій категорії у змаганнях, а також для гімнастів, стрибунів у висоту, атлетів, жокейів, де зайва вага може перешкоджати успішному виступу; – для зневоднення організму («зайвої» підшкірної води) та підсушування м'язів – це характерно для бодібілдингу, щоб на змаганнях виглядати пружними, підсмаженими; – для прискорення виведення допінгових препаратів перед змаганнями – для прискорення виведення анаболічних стероїдів, психотропних препаратів або інших заборонених препаратів, у зв'язку з цим діуретики були включені до списку заборонених речовин Всесвітньої антидопінгової агенції [3–5] (Штригол, 2016; Павлова, Виноградський, 2011; Cadwallader, de la Torre, Tieri, Botrè, 2010). Існує чимало випадків, коли спортсменів, зокрема і Українських, дискваліфікували через використання діуретиків (Темний бік перемог, 2010).

Отже, є необхідність розробки методик визначення діуретиків.

Мета роботи – розробити методику визначення фуросеміду а провести апробацію в реальних об'єктах.

Матеріали та методи дослідження. Початковий 0,01 М стандартний розчин фуросеміду готували розчиненням точної наважки комерційного препарату 0,1 М розчині NaOH. Робочі $1 \cdot 10^{-4}$ – $1 \cdot 10^{-3}$ М розчини готували послідовним розведенням початкового бідистильованою водою на день експерименту. Водний $1 \cdot 10^{-3}$ М розчин астрафлосину FF (Jiacheng-Chem Enterprises Ltd., China) готували розчиненням точної наважки препарату в дистильованій. Кислотність середовища регулювали додаванням універсального буферного розчину, H_2SO_4 (ч.д.а.) або розчину NaOH (ч.д.а.). Іонну силу контролювали 2 М розчином Na_2SO_4 (ч.д.а.).

Апаратура. Спектрофотометричні вимірювання проводили на спектрофотометрі СФ-2000

(ЛОМО, Росія) в кварцових кюветах. рН розчинів контролювали потенціометрично іономіром AI-123 (MLsoft Instruments, Україна) зі скляним електродом.

Методика експерименту. Іонний асоціат фуросеміду астрафлосину FF (АФ) екстрагували при кімнатній температурі (18–20 °С) у пробірках із притертими пробками. Для цього в пробірки вводили досліджуваній розчин, що містить 0–300 мкг Фур, додавали 0,5 см³ буферного розчину рН 6,5; 0,8 см³ $1 \cdot 10^{-3}$ М розчину АФ, 2 см³ 2 М розчину Na_2SO_4 і розбавляли водну фазу до 5 см³ дистильованою водою. Вводили 5 см³ толуолу та екстрагували протягом 1 хв. Паралельно проводили контрольний дослід. Після поділу фаз екстракти відокремлювали, центрифугували та вимірювали оптичну щільність на спектрофотометрі в кварцових кюветах ($l = 0,5$ см) при довжині хвилі 546 нм щодо дистильованої води.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Математичне моделювання утворення ІА.

Методом математичного моделювання обґрунтовано енергоефективність формування ІА. Молекулярне моделювання систем «ФУР⁻ + АФ⁺» та пов'язані з ним розрахунки проводили з використанням пакета «HyperChem 8.0» для різноманітних початкових варіантів розташування протіонів відносно один одного (процедура «single point»). Геометричну оптимізацію іонів проводили методом молекулярної механіки ММ+.

Стандартну ентальпію (ΔH_0) утворення іонів та асоціату «ФУР⁻ + АФ⁺» визначали напівемпіричним методом РМЗ. Параметри цих методів підібрані таким чином, щоб вони дозволяли найкращим чином відтворювати експериментальні значення ΔH_0 органічних сполук. Як

Таблиця 1

Енергетичні характеристики взаємодії ФУР⁻ + АФ⁺

Частинка	Е, кДж/моль
АФ ⁺	24 187
ФУР ⁻	14142,6
Σ (ФУР ⁻ + АФ ⁺)	38329,6
ФУР ⁻ –АФ ⁺	38680,6
Σ (ФУР ⁻ + АФ ⁺) – ФУР ⁻ –АФ ⁺	350,9

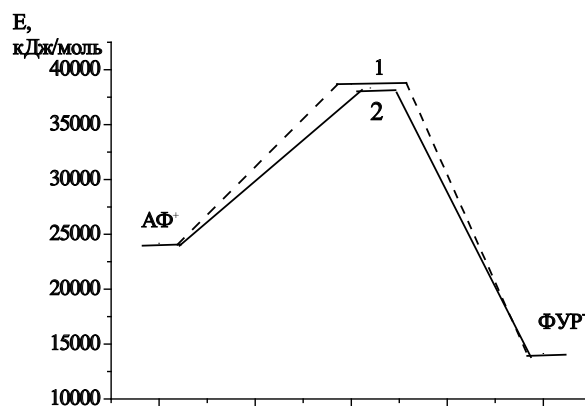


Рис. 1. Рівні енергії іонів ФУР⁻, АФ⁺ та їх ІА; (1) сума енергій ФУР⁻ + АФ⁺ і (2) енергія ІА

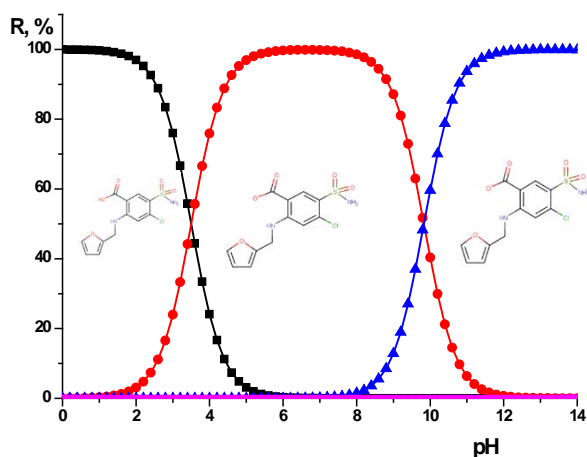


Рис. 2. Діаграма розподілу різних форм фуросеміду від кислотності середовища

приклад у табл. 1 та рис. 1 наведені енергетичні характеристики взаємодії «ФУР⁻ + АФ⁺».

Як видно, різниця в енергії утворення іонного асоціату і суми енергій утворення його компонентів дорівнює 350,9 кДж/моль. Отже, процес утворення ІА є термодинамічно вигідним.

Оптимальні умови для екстракції. ФУР є кислотою середньої сили ($pK = 3,9$) (Ventura, Segura, 1996). Як видно з рис.2, в межах рН 4-10 домінує однозарядна аніонна форма. Вище рН 10 фуросемід переходить у двозарядний аніон. Залежно від кислотності середовища АФ може перебувати у трьох формах – однозарядної іонної (R^+), протонованої (RH^{2+}) та „гідролізованої“ (ROH). Відповідні константи протолізу АФ складають: $pK_1 = -1,18$ (константа протонування) та $pK_2 = 13,6$ (константа гідролізу) (Bazel, Kormosh, Tolmachev, 2002). Барвник АФ у широкому інтервалі рН у водних розчинах домінує у вигляді однозарядної іонної форми, яка характеризується інтенсивним забарвленням: молярний коефіцієнт світлопоглинання при 540 нм становить $1,1 \cdot 10^5$.

Результати експериментального дослідження впливу кислотності водної фази на екстракцію толуолом ІА ФУР з АФ, показало, що рН максимальної екстракції ІА становить 5–9.

Вивчено вплив концентрації барвника на оптичну густину толуольних екстрактів іонних асоціатів ФУР з АФ. Екстракція ФУР досягає максимального значення при концентрації АФ $(1,5-3,0) \cdot 10^{-4}$ М, після чого оптична густина екстрактів практично не змінюється (надлишок барвника залишається у водній фазі). Рівновага екстракції досягається за 50–60 с.

Таблиця 2

Результати визначення фуросеміду у лікарських формах

Препарат	Вміст згідно специфікації, мг	Знайдено, мг
ФУРОСЕМІД, ЗАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ»	40	39±1
ФУРОСЕМІД, АТ «Галичфарм»	40	40±1
ФУРОСЕМІД-ДАРНИЦЯ, ЗАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця»	40	40±2

Таблиця 3

Результати визначення фуросеміду у сечі спортсменів

Проба	Введено, мг	Знайдено, мг
1	50	50±2
2	60	59±1
3	100	98±2
4	55	55±1
5	60	60±1

Іонні асоціати досить добре екстрагуються різними ароматичними вуглеводнями. Враховуючи високу токсичність і канцерогенність бензолу, найкращими визнані *o*-ксилол та толуол. Надалі використовували толуол, тому що при цьому світлопоглинання екстракту контрольного дослідження є мінімальним.

Стехіометрію ІА Ф з АФ досліджували спектрофотометричними методами ізомолярних серій та зсуву рівноваги; співвідношення компонентів складає 1:1.

Умовний молярний коефіцієнт поглинання ІА становить $1,0 \cdot 10^5$. Градувальний графік залежності оптичної густини екстрактів від концентрації ФУР описується рівнянням прямої $A = 0,012 + 0,051c$ в інтервалі концентрацій 0,8–45,6 мкг/см³ ФУР. Межа виявлення ФУР, розрахована за 3 σ -критерієм ($n = 5$; $P = 0,95$), становить 0,7 мкг/см³. Розроблена методика екстракційно-фотометричного визначення фуросеміду в лікарських формах та біорідинах спортсменів.

Результати визначення фуросеміду наведено в таблицях 2, 3.

Висновки. Показано, що фуросемід (ФУР) з поліметиновим барвником астрафлосин FF (АФ) утворює іонний асоціат (ІА). Методом математичного моделювання обґрунтовано енергоефективність формування ІА. Макси-

мальне вилучення ІА з водної фази досягається при рН 5–9. Вивчено вплив концентрації барвника на оптичну густину толуольних екстрактів іонних асоціатів ФУР з АФ. Екстракція ІА досягає максимального значення при концентрації барвника $(1,5-3,0) \cdot 10^{-4}$ М. Рівновага екстракції досягається за 50–60 с. Стехіометрію ІА ФУР з АФ встановлено спектрофотометричними методами ізомолярних серій та зсуву рівноваги; співвідношення компонентів складає 1:1. Запропоновано схему утворення та екстракції

ІА. Умовний молярний коефіцієнт поглинання ІА становить $1,0 \cdot 10^5$. Градувальний графік залежності оптичної густини екстрактів від концентрації ФУР описується рівнянням прямої $A = 0,012 + 0,051c$ в інтервалі концентрацій 0,8–45,6 мкг/см³ ФУР. Межа виявлення ФУР, розрахована за 3s-критерієм ($n = 5$; $P = 0,95$), становить 0,7 мкг/см³. Розроблена методика екстракційно-фотометричного визначення фуросеміду в лікарських формах та біорідинах спортсменів.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Фармацевтична хімія: [арх.11 березня 2021]: підручник / ред. П.О. Безуглий. Вінниця: Нова Книга, 2008. 560 с. ISBN 978-966-382-113-9. 305 с.
2. Нековаль І.В., Казанюк Т.В. Фармакологія: підручник. 4-е вид., виправл. К.: ВСВ «Медицина», 2011. 520 с. ISBN 978-617-505-147-4.
3. Штригол С.Ю. Діуретики. Фармацевтична енциклопедія Харків: НФаУ. 2016. URL: <http://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/2549/diuretiki>
4. Павлова Ю., Виноградський Б. Відновлення у спорті. Монографія. Л: ЛДУФК; 2011. 204 с.
5. Cadwallader A.B, de la Torre X, Tieri A, Botrè F. The abuse of diuretics as performance-enhancing drugs and masking agents in sport doping: pharmacology, toxicology and analysis. *British Journal of Pharmacology*. 2010;161:1-16. PMID: 20718736. PMCID: PMC2962812. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2010.00789.x
6. Темний бік перемог. 2010. URL: <https://gk-press.if.ua/x3068/>
7. Ventura R. and Segura J., Detection of Diuretic Agents in Doping Control. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, Vol. 687, № 1, 1996, pp. 127-144. [http://dx.doi.org/10.1016/S0378-4347\(96\)00279-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-4347(96)00279-4).
8. Bazel Ya., Kormosh Zh., Tolmachev A. State of polymethine (styryl and carbocyanine) indolium derivatives in aqueous solution and their analytical properties. *J. Analyt. Chem*, 2002. 57. P. 118–124. <https://doi.org/10.1023/A:1014091218429>

REFERENCES:

1. Pharmaceutical chemistry: [arch. March 11, 2021]: textbook/ ed. P.O. Bezugliy. – Vinnytsia: Nova Kniga, 2008. – 560 p. – ISBN 978-966-382-113-9. – P. 305. [in Ukrainian]
2. Nekoval I.V., Kazanyuk T.V. Pharmacology: textbook. – 4th ed., corrected. – K.: VSV "Medicine", 2011. – 520 p. ISBN 978-617-505-147-4.
3. Shtrygol S.Yu. Diuretyky. Farmatsevychna entsyklopediya [Pharmaceutical encyclopedia]. Kh: NFaU; 2016. [in Ukrainian]. Available from: <http://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/2549/diuretiki>
4. Pavlova Yu, Vynogradskyy B. Vidnovlennya u sporti [Recovery in sports]. Monografiya. L: LDUFK; 2011. 204 s. [in Ukrainian]
5. Cadwallader A.B, de la Torre X, Tieri A, Botrè F. The abuse of diuretics as performance-enhancing drugs and masking agents in sport doping: pharmacology, toxicology and analysis. *British Journal of Pharmacology*. 2010;161:1-16. PMID: 20718736. PMCID: PMC2962812. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2010.00789.x
6. <https://gk-press.if.ua/x3068/>
7. Ventura R. and Segura J., Detection of Diuretic Agents in Doping Control. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, Vol. 687, № 1, 1996, pp. 127–144. [http://dx.doi.org/10.1016/S0378-4347\(96\)00279-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-4347(96)00279-4).
8. Bazel Ya., Kormosh Zh., Tolmachev A. State of polymethine (styryl and carbocyanine) indolium derivatives in aqueous solution and their analytical properties. *J. Analyt. Chem*. 2002. 57. P. 118–124. <https://doi.org/10.1023/A:1014091218429>