

УДК 543

DOI <https://doi.org/10.32782/pcsd-2023-3-2>

Жолт КОРМОШ

кандидат хімічних наук, професор

ORCID: 0000-0001-6018-878

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, м. 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, м. 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 ПІСКАЧ

кандидат хімічних наук, професор кафедри неорганічної та фізичної хімії,
Волинський національний університет імені Лесі Українки, просп. Волі, 13, м. Луцьк,
Волинська обл., Україна, 43025
ORCID: 0000-0003-3117-4006

Максим КОРМОШ

студент, «Луцький фаховий коледж рекреаційних технологій і права»,
вул. Карбишева, 2, м. Луцьк, Україна, 43023
ORCID:

Бібліографічний опис статті: Кормош, Ж., Гнітецький, Л., Ковальчук, А., Сахарук, І., Тесунов, В., Крот, А., Борисюк, С., Піскач, Л., Кормош, М. (2023). Фотометричне визначення етакринової кислоти в лікарських формах та біорідинах спортсменів. *Проблеми хімії та сталого розвитку*, 3, 13–19, doi: <https://doi.org/10.32782/pcsd-2023-3-2>

ФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ЕТАКРИНОВОЇ КИСЛОТИ В ЛІКАРСЬКИХ ФОРМАХ ТА БІОРІДИНАХ СПОРТСМЕНІВ

Показано, що етакринова кислота (ЕК) з поліметиновим барвником астрафлосин FF (АФ) утворює іонний асоціат (ІА). Методом математичного моделювання обґрунтовано енергоефективність формування ІА. Молекулярне моделювання систем $EK^+ AF^+$ 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 MM+. Отримані ІА досить добре екстрагуються різними ароматичними вуглеводнями. Максимальне вилучення ІА з водної фази досягається при рН 4–12. Вивчено вплив концентрації барвника на оптичну густину толуольних екстрактів іонних асоціатів ЕК з АФ. Екстракція ІА досягає максимального значення при концентрації реагенту $(1,5 - 3,0) \cdot 10^{-4}$ М. Рівновага екстракції досягається за 50–60 с. Стехіометрію ІА ЕК з АФ встановлено спектрофотометричними методами ізомольярних 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 етакринової кислоти описується рівнянням прямої $A = 0,010 + 0,052c$ в інтервалі концентрацій 0,7–45,4 мкг/см³ ЕК. Межа виявлення ЕК, розрахована за 3s-критерієм ($n = 5$; $P = 0,95$), становить 0,6 мкг/см³. Розроблена методика екстракційно-фотометричного визначення етакринової кислоти в лікарських формах та біорідинах спортсменів.

Ключові слова: етакринова кислота, екстракція, іонний асоціат, фотометричне визначення.

Zholt KORMOSH

PhD, Professor
ORCID: 0000-0001-6018-87870
Scopus Author ID: 35580134800

Leonid HNITETSKII

Candidate of Sciences in Physical Education and Sports, associate professor,
senior teacher of the Department of Educational, Pedagogical Technologies
Academy of Recreational Technologies and Law, 2, Karbysheva Str., Lutsk, Ukraine, 43023
ORCID: 0000-0002-5677-457

Andrii KOVALCHUK

Senior Teacher of the Department of Educational, Pedagogical Technologies
Academy of Recreational Technologies and Law, 2, Karbysheva Str., Lutsk, Ukraine, 43023
ORCID: 0000-0001-5698-393X

Igor SAKHARUK

senior teacher of the Department of Educational, Pedagogical Technologies
Academy of Recreational Technologies and Law, 2, Karbysheva Str., Lutsk, Ukraine, 43023
ORCID: 0000-0002-6145-4722

Oleksandr HRYPLIUK

senior teacher of the Department of Educational, Pedagogical Technologies
Academy of Recreational Technologies and Law, 2, Karbysheva Str., 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”, 2, Karbysheva Str., Lutsk, Ukraine;
43023; teacher of the Department of Educational, Pedagogical Technologies, Academy of Recreational
Technologies and Law, 2, Karbysheva Str., 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”, 2, Karbysheva Str., Lutsk, Ukraine, 43023; teacher of the
Department of Educational, Pedagogical Technologies, Academy of Recreational Technologies and Law, 2,
Karbysheva Str., Lutsk, Ukraine, 43023
ORCID: 0009-0005-0991-7717

Stepan BORYSIUK

Associate Professor of the Department of Educational, Pedagogical Technologies
Academy of Recreational Technologies and Law, 2, Karbysheva Str., Lutsk, Ukraine, 43023
ORCID: 000-0002-1718-8236

Lyudmyla PISKACH

PhD in Chemistry, Professor at the Department of inorganic and Physical Chemistry, Lesya Ukrainka
Volyn National University, 13 Voli ave., Lutsk, Ukraine, 43025
ORCID: 0000-0003-3117-4006

Maxim KORMOSH

student, “Lutsk Professional College of Recreational Technologies and Law”, 2, Karbysheva Str.,
Lutsk, Ukraine, 43023
ORCID:

To cite this article: Kormosh, Zh., Hnitetskyi, L., Kovalchuk, A., Sakharuk, I., Tesunov, V., Krot,
A., Borysiuk, S., Piskach, L., Kormosh, M. (2023). Photometric determination of ethacrynic acid in
dosage forms and biofluids of athletes. *Problems of Chemistry and Sustainable Development*, 3, 13–19
doi: <https://doi.org/10.32782/pcsd-2023-3-2>

PHOTOMETRIC DETERMINATION OF ETHACRYNIC ACID IN DOSAGE FORMS AND BIOFLUIDS OF ATHLETES

It was shown that ethacrynic acid (EA) with the polymethine dye astrafoxin FF (AF) forms an ionic associate (IA). Using the method of mathematical modeling, the energy efficiency of the formation of the IA is substantiated. Molecular modeling of EA + 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 4–12. The effect of dye concentration on the optical density of toluene extracts of ionic associates of EA with AF was studied. The extraction of IA reaches its maximum value at the concentration of the reagent $(1.5–3.0) \cdot 10^{-4}$ M. The extraction equilibrium is reached in 50–60 s. The stoichiometry of IA EA with AF was established 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 EA is described by the equation of the straight line $A = 0.010 + 0.052c$ in the concentration range of 0.7–45.4 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ EC. The EA detection limit, calculated according to the 3s criterion ($n = 5$; $P = 0.95$), is 0.6 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$. A method of extraction-photometric determination of ethacrynic acid in medicinal forms and biofluids of athletes was developed.

Key words: ethacrynic acid, extraction, ion associate, photometric determination.

Вступ. Кислота етакринова – сечогінний засіб (діуретик), що діє на рівні петлі нефрону (петлевий діуретик). Використовується при лікуванні набряків, зумовлених наявністю застійної серцевої недостатності або патології нирок чи печінки. Також застосовується при лікуванні гіпертонії, зазвичай у комбінації з іншими ліками. При тривалому застосуванні кислота може викликати гіпокаліємію і гіпохолоемічний алкалоз. Щоб уникнути цих ускладнень етакринову кислоту поєднують з калійзберігальними діуретиками. Для кислоти етакринової є також характерна ототоксична дія. Її не можна комбінувати з препаратами, які мають ото- і нефротоксичну дію (антибіотики з групи аміноглікозидів та цефалоспоринів) (Безуглий, 2008; 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, жокеїв, 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 (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 етакринової кислоти а провести апробацію у реальних об'єктах.

Матеріали та методи дослідження. Початковий 0,01 М стандартний розчин етакринової кислоти 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 воді. 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 етакринат астрафлосину FF (АФ) екстрагували при кімнатній температурі (18–20 °С) у пробірках із притертими пробками. Для цього в пробірці вводили досліджуваній розчин, що містить 0–300 мкг ЕК, 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 «ЕК⁻ + АФ⁺» та пов'язані з ним розрахунки проводили з використанням пакета «HyperChem 8.0» для різноманітних початкових варіантів розташування протиіонів відносно один одного (процедура «single point»). Геометричну оптимізацію іонів проводили методом молекулярної механіки ММ+. Стандартну ентальпію (ΔH_0) утворення іонів та асоціату «ЕК⁻ + АФ⁺» визначали напівемпіричним методом РМЗ. Параметри цих методів підібрані таким чином, щоб вони дозволяли найкращим чином відтворювати експериментальні значення ΔH_0 органічних сполук. Як приклад у табл. 1 та рис. 1 наведені енергетичні характеристики взаємодії «ЕК⁻ + АФ⁺». Як видно, різниця в енергії утворення іонного асоціату і суми енергій утворення його компонентів дорівнює 292,6 кДж/моль. Отже, процес утворення ІА є термодинамічно вигідним.

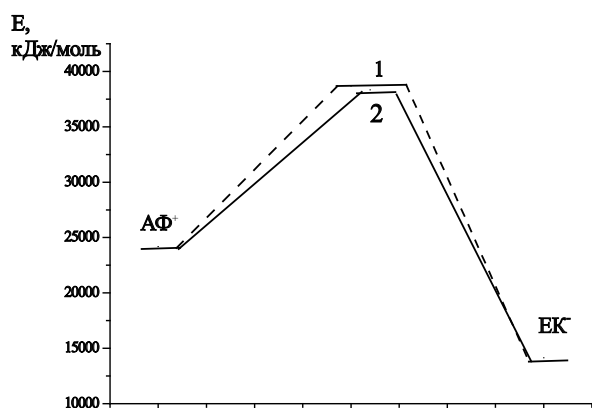


Рис. 1. Рівні енергії іонів ЕК⁻, АФ⁺ та їх ІА; (1) сума енергій ЕК⁻ + АФ⁺ і (2) енергія ІА

Таблиця 1
Енергетичні характеристики взаємодії
ЕК⁻ + АФ⁺

Частинка	Е, кДж/моль
АФ ⁺	24 187
ЕК ⁻	13667,8
Σ (ЕК ⁻ + АФ ⁺)	37974,3
ЕК ⁻ АФ ⁺	38266,9
Σ (ЕК ⁻ + АФ ⁺) – ЕК ⁻ АФ ⁺	292,6

Оптимальні умови для екстракції. ЕК є кислотою середньої сили (рК = 3,1) (Ventura, Segura, 1996). Як видно з рис. 2, в межах рН 4-14 домінує однозарядна аніонна форма. Залежно від кислотності середовища АФ може перебувати у трьох

формах – однозарядної іонної (R⁺), протонованої (RH²⁺) та „гідролізованої“ (ROH). Відповідні константи протолізу АФ складають: рК1 = -1,18 (константа протонування) та рК2 = 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 1,1·10⁵. Результати експериментального дослідження впливу кислотності водної фази на екстракцію толуолом ІА ЕК з АФ, показало, що рН максимальної екстракції ІА становить 4–12. Вивчено вплив концентрації барвника на оптичну густина толуольних екстрактів іонних асоціатів ЕК з АФ. Екстракція ІА досягає максимального значення при концентрації АФ (1,5–3,0)·10⁻⁴ М, після чого оптична густина екстрактів практично не змінюється (надлишок барвника залишається у водній фазі). Рівновага екстракції досягається за 50–60 с.

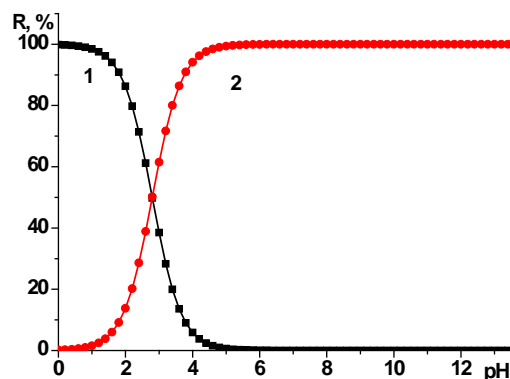


Рис. 2. Діаграма розподілу різних форм етакринової кислоти від рН середовища: 1 – молекулярна форма, 2 – аніонна форма

Іонні асоціати досить добре екстрагуються різними малополярними розчинниками. Враховуючи високу токсичність і канцерогенність бензолу, найкращими визнані о-ксилол та толуол. Надалі використовували толуол, тому що при цьому світлопоглинання екстракту контрольного дослідження є мінімальним. Стехіометрію ІА ЕК з АФ досліджували спектрофотометричними методами ізомолярних серій та зсуву рівноваги; співвідношення компонентів складає 1:1. Умовний молярний коефіцієнт поглинання ІА становить 1,0·10⁵. Градувальний графік залежності оптичної густини екстрактів від концентрації ЕК описується рівнянням прямої $A = 0,010 + 0,052c$ в інтервалі концентрацій

0,7–45,4 мкг/см³ ЕК. Межа виявлення ЕК, розрахована за 3s-критерієм (n = 5; P = 0,95), становить 0,6 мкг/см³. Розроблена методика екстракційно-фотометричного визначення етакринової кислоти в лікарських формах та біорідинах спортсменів. Результати визначення етакринової кислоти наведено в таблицях 2, 3.

Таблиця 2

Результати визначення етакринової кислоти у лікарських формах

Препарат	Вміст згідно специфікації, мг	Знайдено, мг
Урегит, Егіс (Угорщина)	50	49±1

Таблиця 3

Результати визначення фуросеміду у сечі спортсменів

Проба	Введено, мг	Знайдено, мг
1	50	50±2
2	40	38±3
3	80	78±2
4	55	54±1
5	60	59±2

Висновки. Показано, що етакринова кислота з поліметиновим барвником астрафлосин FF (АФ) утворює іонний асоціат (ІА). Методом математичного моделювання обґрунтовано енергоєфективність формування ІА. Максимальне вилучення ІА з водної фази досягається при рН 4–12. Вивчено вплив концентрації барвника на оптичну густину толуольних екстрактів іонних асоціатів ЕК з АФ. Екстракція ІА досягає максимального значення при концентрації реагенту $(1,5 - 3,0) \cdot 10^{-4}$ М. Рівновага екстракції досягається за 50–60 с. Стехіометрію ІА ЕК 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 етакринової кислоти описується рівнянням прямої $A = 0,010 + 0,052c$ в інтервалі концентрацій 0,7–45,4 мкг/см³ ЕК. Межа виявлення ЕК, розрахована за 3s-критерієм (n = 5; P = 0,95), становить 0,6 мкг/см³. Розроблена методика екстракційно-фотометричного визначення етакринової кислоти 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. Farmatsevychna khimiia: [arkh.11 bereznia 2021]: pidruchnyk / red. P.O. Bezuhlyi. Vinnytsia: Nova Knyha [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., Kazaniuk T.V. Farmakolohiia: pidruchnyk. 4-e vyd., vypravl. K.: VSV «Medytsyna» [Nekoval I.V., Kazanyuk T.V. Pharmacology: textbook. – 4th ed., corrected. – K.: VSV "Medicine"], 2011. – 520 p. ISBN 978-617-505-147-4.
3. Shtryhol S.Iu. Diuretyky. Farmatsevychna entsyklopediia Kharkiv: NFAU [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., Vynohradskyi B. Vidnovlennia u sporti. Monohrafiia. L: LDUFK [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. Temnyi bik peremoh [The dark side of victory]. <https://gk-press.if.ua/x3068/>. [in Ukrainian].
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>