

EXAMINATION OF THE INFLUENCE OF INORGANIC SALTS ON THE
EXTRACTION OF SALICYLIC ACID FROM AQUEOUS SOLUTIONSISPITIVANJE UTICAJA NEORGANSKIH SOLI NA EKSTRAKCIJU
SALICILNE KISELINE IZ VODENIH RASTVORAKristina Pešić¹, Jovana Momčilović¹, Jelena Živković¹, Goran Nikolić¹¹ Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet, Odsek za farmaciju, Niš, Srbija

Correspondence: krispesic22@gmail.com

Abstract

Introduction: Salicylic acid is a lipophilic compound with keratolytic and antiseptic effects. It is used only locally. The acid's fungicidal effect is notable in dermatology. Salicylic acid promotes desquamation of an infected area and represents an important ingredient of Whitfield's cream. Liquid-liquid extraction is often used during the sample preparation for the analyses of this type of compounds in various samples.

Aim: The aim of this work was to investigate the effect of inorganic salts on the extraction of salicylic acid from aqueous solutions with diethyl ether.

Material and methods: Extraction of salicylic acid from NaCl, KCl, and $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ aqueous solutions of various concentrations was studied by using diethyl ether as an organic solvent. Absorbances of aqueous solutions were measured before and after extraction at the wavelength of the absorption maximum of the investigated compound.

Results: The absorbance values of the aqueous phase prior to (A_0) and after extraction (A) were used to calculate distribution coefficients (D) for the extraction of salicylic acid in the presence of different salts. Salting-out constants (K_s) for individual salts were determined based on the distribution constant dependence on salt concentration.

Conclusion: It has been shown that all examined salts enhance the extraction of salicylic acid and the order of values for salting-out constants is: $K_s((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4) > K_s(\text{NaCl}) > K_s(\text{KCl})$. The results of this study may be important for improving the sensitivity of analytical methods for the salicylic acid determination in which extraction is used for sample preparation, as well as for the characterization of salicylic acid. Also, our work presents a contribution to the study of the salting-out effect which is significant for the characterization of pharmacologically active substances.

Keywords:salicylic acid,
extraction,
diethyl ether,
salting-out

Sažetak

Uvod: Salicilna kiselina je lipofilna supstanca koja deluje keratolitički i antiseptički. Koristi se isključivo za lokalnu primenu. Značajno je njeno dejstvo kao fungicida u dermatologiji. Salicilna kiselina ubrzava deskvamaciju inficirane površine i predstavlja važan sastojak Vitfildove (*Whitfield*) masti. Tečno-tečna ekstrakcija se često koristi za pripremu uzoraka za analizu ovog tipa jedinjenja u različitim uzorcima.

Cilj: Cilj našeg rada bilo je ispitivanje uticaja neorganskih soli na ekstrakciju salicilne kiseline iz vodenih rastvora dietil-etrom.

Materijal i metode: Ispitivana je ekstrakcija salicilne kiseline iz vodenih rastvora natrijum-hlorida (NaCl), kalijum-hlorida (KCl) i amonijum-sulfata ((NH₄)₂SO₄) različitih koncentracija upotrebom dietil-etra kao organskog rastvarača. Spektrofotometrijski su merene apsorbancije vodenog rastvora pre i posle ekstrakcije na talasnoj dužini apsorpcionog maksimuma ispitivanog jedinjenja.

Rezultati: Na osnovu vrednosti apsorbancija vodene faze pre (A₀) i posle ekstrakcije (A) izračunate su vrednosti deobnih koeficijenata (D) za ekstrakciju salicilne kiseline u prisustvu različitih soli. Na osnovu zavisnosti vrednosti deobnih koeficijenata od koncentracije soli određene su vrednosti konstanti izoljavanja (K_s) za ispitivane soli.

Zaključak: Utvrđeno je da sve ispitivane soli poboljšavaju ekstrakciju salicilne kiseline, pri čemu je odnos vrednosti konstanti izoljavanja: K_s((NH₄)₂SO₄) > K_s(NaCl) > K_s(KCl). Rezultati ovog ispitivanja mogu biti od značaja za poboljšanje osetljivosti analitičkih metoda za određivanje salicilne kiseline u kojima je ekstrakcija deo procedure pripreme uzoraka, kao i za fizičko-hemijsku karakterizaciju same salicilne kiseline. Ovaj rad takođe predstavlja doprinos u razmatranju efekta izoljavanja koji je značajan za karakterizaciju farmakološki aktivnih supstanci.

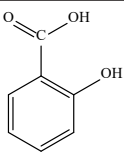
Ključne reči:

salicilna kiselina, ekstrakcija, dietil-etar, izoljavanje

Uvod

Salicilna kiselina (2-hidroksibenzojeva kiselina) je beo kristalni prašak, tj. javlja se u obliku belih ili bezbojnih acikularnih (igličastih) kristala, teško rastvorljivih u vodi, lako rastvorljivih u etanolu i dietil-etru, a slabo rastvorljivih u metilen-hloridu (1). U **tabeli 1** su date neke osnovne fizičko-hemijske osobine ove kiseline (2).

Tabela 1. Fizičko-hemijske osobine salicilne kiseline

Molekulska formula	C ₇ H ₆ O ₃
Strukturna formula	
Molarna masa	138,122 g/mol
Rastvorljivost u vodi	2240 mg/L (na 25 °C)
logP (oktanol/voda)	2,26
pKa	2,97

Lekovi na bazi salicilne kiseline (salicilati) su, po svojoj strukturi, ili soli salicilne kiseline (sa natrijumom, magnezijumom, bizmutom, holinom ili trietanolaminom), ili estarski ili amidni derivati (acetilsalicilna kiselina, salsalat, salicilamid). Acetilsalicilna kiselina (aspirin), koja je prolek (prolek, estar) salicilne kiseline, predstavlja jedan od najvažnijih lekova iz grupe salicilata (3).

Po *Ph. Jug IV* (4), salicilna kiselina se pri koncentracijama od 2% koristi kao antiseptik, a pri koncentraciji od 10% kao keratolitik. Dobar je analgetik, antipiretik, antireumatik i antiseptik, ali se zbog toksičnih efekata

retko koristi. Najveću primenu ima u preparatima za spoljašnju upotrebu (topikalni preparati). Tako kombinacija benzojeve i salicilne kiseline u obliku masti (poznata kao Vitfildova mast) deluje fungistatički i keratolitički (5). Formulacije na bazi salicilne kiseline za spoljašnju upotrebu koje se propisuju u farmaceutskoj (apotekarskoj) praksi (6) date su u **tabeli 2**.

Salicilna kiselina ubrzava deskvamaciju inficirane površine. Kao lipofilna supstanca, ona se može rastvoriti i mešati sa epidermalnim lipidima, kao i lipidima lojnih žlezda u folikulima kose. Salicilna kiselina je keratolitik i komedolitik koji istanjuje rožasti sloj i tako olakšava izlazak sebuma (supstance koje luče lojne žlezde). Na taj način se znatno popravljaju klinička slika kod akni (7).

Korneociti su mrtve ćelije bez jedra, ispunjene keratinom, koje se nalaze u površinskom delu epidermisa (*stratum corneum*). Smatra se da se mehanizam dejstva topikalno administrirane salicilne kiseline zasniva na njenom povezivanju sa korneocitima, deskvamaciji korneocita, kao i hidrataciji i omekšavanju *stratum corneuma*. Ova kiselina je najefikasniji keratolitički agens u lečenju plak psorijaze. Glavni problem u lokalnom tretmanu psorijaze salicilnom kiselinom je potencijalna akutna ili hronična intoksikacija (8).

Trovanje salicilatima (salicilizam) može se javiti posle ponovljene primene prilično visokih doza salicilata. Sindrom karakterišu zujanje u ušima, vrtoglavica, oslabljen sluh i, ponekad, mučnina i povraćanje. Bitna karakteristika akutnog trovanja salicilatima je pojava respiratorne i metaboličke acidoze (9).

Za određivanje koncentracije salicilne kiseline u različitim uzorcima (vodeni rastvori, biološke tečnosti)

Tabela 2. Galenski lekovi na bazi salicilne kiseline

Latinski naziv galenskog leka	Srpski naziv galenskog leka	Delovanje	Način upotrebe
Kapi za uši			
<i>Acidi borici 3% et acidi salicylici 2% otoguttae</i>	Borna kiselina 3% i salicilna kiselina 2%, kapi za uši	Antiseptik, dezinficijens	Prema preporuci lekara
Polučvrsti preparati za primenu na koži (masti)			
<i>Acidi salicylici 10% et iodi 1% unguentum aquosum</i>	Salicilna kiselina 10% i jod 1% lipofilni krem	Antiseptik, dezinficijens	Kod površinskih povreda i infekcija na koži
Tečni preparati za primenu na koži			
<i>Acidi salicylici solutio collodii 25%</i>	Salicilna kiselina, kolodijumski rastvor za kožu 25%	Keratolitik	Tretman žulja ili kurjeg oka (nanosi se samo na promenu na koži)
<i>Acidi salicylici solutio composita</i>	Salicilna kiselina, rastvor za kožu, složeni	Antiseptik	Kod seboroične kože sa aknama
<i>Acidi salicylici solutio ethanolica 1%, 3% et 6%</i>	Salicilna kiselina, etanolni rastvor za kožu 1%, 3% i 6%	Antiseptik, antimikotik	Kod seboroičnog dermatitisa ili nekih gljivičnih infekcija kože
<i>Acidi salicylici solutio oleosa 6%</i>	Salicilna kiselina, uljani rastvor za kožu 6%	Keratolitik	Upotreba kod hiperkeratoza kože glave

koristi se više metoda, pri čemu se za pripremu uzoraka za analizu vrlo često koristi tečno-tečna ekstrakcija (10). Tečno-tečna ekstrakcija je proces raspodele neke supstance u binarnom tečnom sistemu, gde se dve tečne faze ne mešaju. Kao binarni sistem obično se koristi voda/organski rastvarač ili smeša dva organska rastvarača (11). Veličina kojom se opisuje raspodela supstance između faza ova-kvog sistema je deobni koeficijent (D), koji je jednak odnosu koncentracija jedinjenja u dve tečne faze u ravnoteži. Najčešće upotrebljavani organski rastvarači su dietil-etar, metilen-hlorid, etil-acetat i hloroform. Ekstrakcija se vrši efikasnije ako je supstanca bolje rastvorna u ekstrakcionom sredstvu nego u vodenoj fazi. Ova metoda ima veliki značaj kao postupak za izdvajanje aktivne supstance iz nekog doziranog oblika.

Veliki uticaj na ekstrakciju neelektrolita mogu imati neorganske, u vodi rastvorne, soli. Poznato je da su organska jedinjenja generalno manje rastvorljiva u rastvorima soli nego u čistoj vodi i taj efekat nazvan je isaljavanje. Ovaj efekat se koristi da olakša ekstrakciju organskih jedinjenja, između ostalog lekova organske prirode, iz vodenih rastvora. Takođe, soli prisutne u rastvorima smanjuju rastvorljivost nekih organskih rastvarača, koji se delimično rastvaraju u vodi. Tako neorganske soli imaju dvostruki povoljan efekat na efikasnost ekstrakcije.

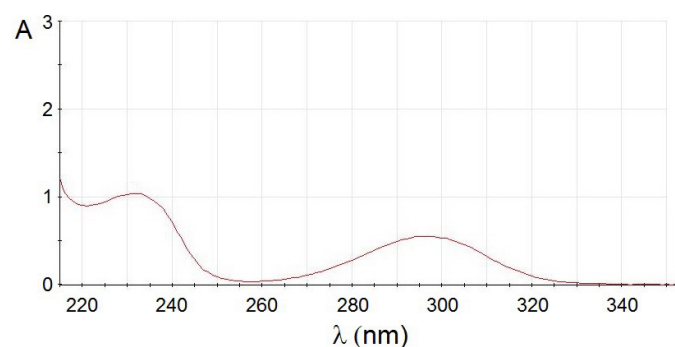
Cilj našeg rada bio je ispitivanje uticaja nekih neorganskih soli (NaCl, KCl i $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) na tečno-tečnu ekstrakciju salicilne kiseline iz vodenih rastvora pomoću dietil-etra. Poznavanje uticaja efekta isaljavanja na ekstrakciju salicilne kiseline doprineće boljem razumevanju ekstraktibilnosti ovog keratolitika i antiseptika koji ima veliku primenu u dermatologiji i kozmetičkoj industriji.

Materijal i metode

Sve hemikalije korišćene u eksperimentalnom delu (salicilna kiselina, neorganske soli i dietil-etar) bile su analitičke čistoće i upotrebljene su bez dodatnih prečišćavanja. Osnovni rastvor salicilne kiseline (10 mmol/L)

i osnovni rastvori neorganskih soli (2 mol/L za NaCl, KCl i $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) pripremani su rastvaranjem tačno odmerenih masa supstanci u odgovarajućoj zapremini destilovane vode. Radni rastvori salicilne kiseline (2 mmol/L) iz kojih je vršena ekstrakcija pripremani su razblaživanjem osnovnog rastvora vodom i/ili mešanjem sa rastvorima soli u odgovarajućem odnosu, neposredno pre ekstrakcije. Da bi se izbegao uticaj disocijacije salicilne kiseline na njenu raspodelu, rastvori iz kojih je vršena ekstrakcija zakiseljavani su dodatkom hlorovodonične kiseline (HCl, 1 mol/L) do $\text{pH} \approx 2$. Ekstrakcije su vršene manuelno u levkovima za odvajanje na uniforman način za sve uzorke.

Za merenje apsorbancije vodene faze pre i posle ekstrakcije korišćen je UV-Vis spektrofotometar *Evolution 60* (Thermo Scientific, USA). Merenje vrednosti apsorbancije vršeno je na talasnoj dužini od 296 nm, što odgovara vrednosti talasne dužine apsorpcionog maksimuma salicilne kiseline u vodenom rastvoru, što se može videti na **slici 1**.

**Slika 1.** UV spektar salicilne kiseline

Sve ekstrakcije su vršene paralelno u dva odvojena levka, a za izračunavanje deobnih koeficijenata su korišćene srednje vrednosti apsorbancije za dve probe. Odnos zapremina vodene i organske faze pri ekstrakciji podešavan je tako da spektrofotometrijska merenja apsorbancije vodene faze daju vrednosti koje omogućavaju zadovoljavajuću tačnost merenja.

Deobni koeficijenti su računati prema formuli:

$$D = \frac{R \times A_0 - A}{A} \times \frac{V_{aq}}{V_{org}}$$

gde su A_0 i A vrednosti apsorbancije vodene faze pre i posle ekstrakcije, R je faktor razblaženja osnovnog rastvora salicilne kiseline potreban za dobijanje vrednosti A_0 , V_{aq} je zapremina vodene faze, a V_{org} je zapremina organske faze (8).

Rezultati

Konstanta izoljavanja (konstanta Sečenova), koja predstavlja kvantitativno merilo efekta izoljavanja, može se izračunati preko rastvorljivosti pomoću izraza:

$$\log(S_0/S) = K_s C_s$$

gde su: S_0 i S rastvorljivosti neelektrolita u čistoj vodi i u rastvoru soli, C_s je koncentracija soli, a K_s je konstanta izoljavanja. Međutim, u slučajevima kada je rastvorljivost organskog jedinjenja veoma mala ili veoma velika, izraz koji uključuje vrednosti rastvorljivosti ne daje pouzdane rezultate (12).

Efekat izoljavanja za razblažene rastvore može se proceniti na osnovu raspodele neelektrolita između vode ili vodenih rastvora soli i rastvarača koji se ne meša sa vodom pomoću izraza:

$$\log(D/D_0) = K_s C_s$$

koji se može predstaviti i u obliku:

$$\log D = K_s C_s + \log D_0$$

gde su D i D_0 deobni koeficijenti neelektrolita za vodeni rastvor soli i za vodeni rastvor bez prisustva soli (12).

Grafički prikaz zavisnosti logaritma deobnog koeficijenta od koncentracije soli pri ekstrakciji salicilne kiseline dietil-etrom iz vodenih rastvora neorganskih soli ispitivanih u ovom radu dat je na **sluci 2**.

Diskusija

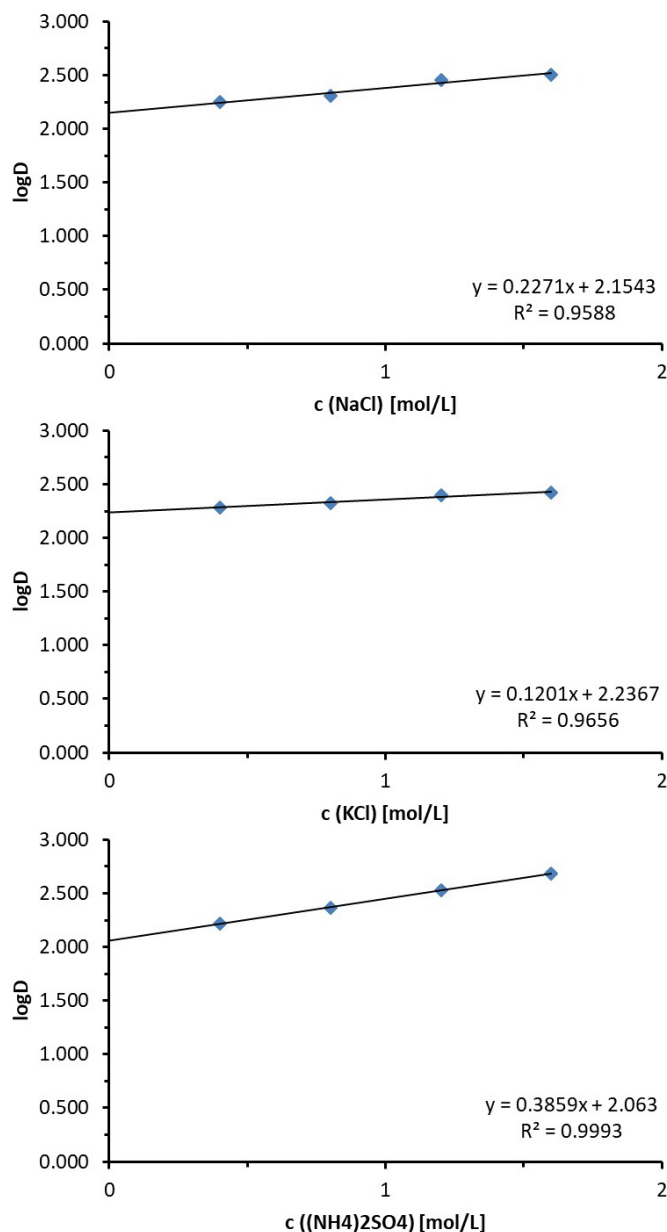
Sve ispitivane soli pokazuju povoljan efekat na ekstrakciju salicilne kiseline dietil-etrom iz vodenih rastvora. Sa porastom koncentracije soli povećava se efikasnost ekstrakcije.

U **tabeli 3** su dati parametri izoljavanja za ispitivane soli.

Odnos vrednosti konstanti izoljavanja soli ispitivanih u ovom radu je:

$$K_s((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4) > K_s(\text{NaCl}) > K_s(\text{KCl})$$

Vrednost konstante izoljavanja, dobijena u ovom radu za NaCl, nešto je veća od vrednosti u literaturi koja je određena na osnovu merenja rastvorljivosti salicilne kiseline ($K_s(\text{NaCl}) = 0,1707$), dok je kod KCl znatno bolje slaganje ($K_s(\text{KCl}) = 0,1209$) (13).



Slika 2. Zavisnost $\log D$ od koncentracije neorganskih soli (NaCl, KCl i $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) u vodenoj fazi pri ekstrakciji salicilne kiseline dietil-etrom

Tabela 3. Zbirni prikaz parametara izoljavanja za ispitivane soli

So	K_s	R^2	$\log D_0$ (izračunato)
NaCl	0,2271	0,9588	2,154
KCl	0,1201	0,9656	2,237
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0,3859	0,9993	2,063

Vrednosti $\log D_0$, dobijene ekstrapolacijom, razlikuju se od ekperimentalno određene vrednosti ($\log D_0(\text{exp.}) = 2,230$) koja je dobijena pri ekstrakciji salicilne kiseline dietil-etrom iz vodenog rastvora bez dodatka soli. Uzrok odstupanja je delimično mešanje dietil-etra i vode u odsustvu soli, što se vidi i po tome što je odstupanje veće za soli sa većom konstantom izoljavanja.

Iako u literaturi nema podataka za vrednost konstante isoljavanja za $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ kod salicilne kiseline, može se naći podatak da za veliki broj organskih supstanci postoji odnos $K_s((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4) = 2,07 \times K_s(\text{NaCl})$ ($R^2 = 0,72$) (14). Mi smo u našem istraživanju utvrdili da je pri ekstrakciji salicilne kiseline iz vodenih rastvora soli dietil-etrom dobijen odnos $K_s((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4) = 1,699 \times K_s(\text{NaCl})$.

Dobijanje novih podataka za vrednosti konstanti isoljavanja za različite soli od posebnog je značaja za bolju fizičko-hemijsku karakterizaciju različitih supstanci i razvoj prediktivnih modela za procenu njihovog ponašanja u različitim sistemima (14-16).

Zaključak

Rezultati dobijeni u ovom radu pokazuju da ispitivane neorganske soli značajno povećavaju efikasnost ekstrakcije salicilne kiseline iz vodenih rastvora dietil-etrom. Odnos vrednosti konstanti isoljavanja ispitivanih soli je: $K_s((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4) > K_s(\text{NaCl}) > K_s(\text{KCl})$. Rezultati ovog istraživanja mogu biti od značaja za poboljšanje osetljivosti analitičkih metoda za određivanje salicilne kiseline kod kojih je ekstrakcija deo uobičajene procedure za pripremu uzoraka za analizu. Naše istraživanje predstavlja i doprinos u razmatranju efekta isoljavanja, koji je veoma važan zbog boljeg poznavanja fizičko-hemijskih osobina farmakološki aktivnih supstanci.

Zahvalnost

Ovaj rad je podržan od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije kroz finansiranje projekta TR 31060.

Literatura

1. Jugoslovenska farmakopeja, Pharmacopoea Jugoslavica. Editio quinta (Ph. Jug. V). Beograd: Savremena administracija; 2000.
2. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
3. Beale JM, Block JH, editors. Wilson and Gisvold's Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry. 12th ed. Baltimore, MD: Lippincott Williams & Wilkins; 2011.
4. Farmakopeja SFRJ, Pharmacopoea Jugoslavica. Editio quarta (Ph. Jug. IV). Beograd: Savezni zavod za zdravstvenu zaštitu; 1984.
5. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Moore PK. Farmakologija. 5. izd. Beograd: Data Status; 2005.
6. Vuleta G, Milić J. Magistralne formule. Beograd: Farmaceutsko društvo Srbije; 2008.
7. Arif T. Salicylic acid as a peeling agent: a comprehensive review. Clin Cosmet Invest Dermatol. 2015, 8:455-61.
8. Fluhr JW, Cavallotti C, Berardesca E. Emollients, moisturizers, and keratolytic agents in psoriasis. Clin Dermatol. 2008, 26(4):380-6.
9. Varagić VM, Milošević MP. Farmakologija. 20. Izd. Beograd: ELIT MEDICA; 2009.
10. Belov Vyu, Kursakov SV, Sevast'yanov VI, Antonov EN, Bogorodskii SÉ, Popov VK. Development of an HPLC-UV method for quantitative determination of acetylsalicylic acid and its main metabolite. Pharm Chem J. 2018, 52(2):151-5.
11. Živanović Lj. Odabrane metode za farmaceutsku analizu. Analitika lekova - prvi deo. Zemun: Nijansa; 2003.
12. Nikolić GM, Živković JV, Veselinović AM, Atanasković D, Vlajin D. Salting-out effects in the ether extraction of paracetamol. Maced Pharm Bull. 2011, 57 Suppl:41-42.
13. Barriada JL, Brandariz I, de Vicente MES. Salting coefficients of carboxylic acids in various saline media. Ann Chim. 2001, 91:615-25.
14. Wang C, Lei YD, Endo S, Wania F. Measuring and modeling the salting-out effect in ammonium sulfate solutions. Environ Sci Technol. 2014, 48:13238-45.
15. Ni N, Yalkowsky SH. Prediction of Setschenow constants. Int J Pharm. 2003, 254:167-72.
16. Burant A, Lowry GV, Karamalidis AK. Measurement and modeling of Setschenow constants for selected hydrophilic compounds in NaCl and CaCl₂ simulated carbon storage brines. Acc Chem Res. 2017, 50:1332-41.