

РОЗРОБКА УМОВ ІЗОЛЮВАННЯ ТА СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНОГО ВИЗНАЧЕННЯ МЕТФОРМІНУ В ОБ'ЄКТАХ БІОЛОГІЧНИХ ПОХОДЖЕННЯ

Москаленко В. Ю., Мерзлікін С. І.

Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна

Метформін – пероральний антидіабетичний засіб, який широко застосовується для лікування цукрового діабету (ЦД) 2 типу. Проте, довічне застосування, побічні дії, доступність в аптечній мережі, постійно зростаюча кількість пацієнтів на ЦД – фактори, що створюють токсикологічну небезпеку при неконтрольованому застосуванні метформіну. Про це свідчить проведений нами інформаційний огляд щодо випадків летальних отруень препаратом, а також безпосередньо хіміко-токсикологічне дослідження на метформін у практиці Республіканського бюро судово-медичної експертизи МОЗ Республіки Татарстан, м. Казань.

Тому, метою роботи була розробка визначення метформіну в тканинах печінки для направленої хіміко-токсикологічного аналізу, який включає: індивідуальну методику ізолювання метформіну з печінки; заходи очищення одержаних вилучень від домішок різної природи; виявлення та кількісне визначення метформіну в одержаних вилученнях методом УФ-спектрофотометрії.

Для моделювання отруєння метформіном 10 г подрібненої свинячої печінки насичували 1 мл водного розчину метформіну у концентрації 1000 мкг/мл, та витримували протягом доби. Додавали 20 мл води, настоювали двічі новими порціями кожного разу по 2 год. Одержані водні витяги з біологічного матеріалу зливали, проціджували, додавали 5,0 г кристалічного амонію сульфату та центрифугували. Надосадову рідину переносили у ділильну лійку та тричі по 20 мл збовтували з новими порціями гексан-толуен (1:1). Органічну фазу відділяли та не досліджували. Водний шар, що залишився у ділильній лійці, підлужнювали 5 М розчином NaOH до рН 13, додавали 5 мл 25% розчину NaCl та тричі екстрагували новими порціями суміші ізопентанол-бутанол (1:1) по 20 мл. Спиртові екстракти об'єднували, фільтрували через безводний Na₂SO₄ та центрифугували. Одержану надосадову рідину переносили у порцелянову чашку, розчинник випаровували на водяному огрівнику, сухий залишок розчиняли у метанолі та очищували методом ТШХ (система розчинників н-бутанол-кислота ацетатна льод.-вода (60:10:30), елюент метанол, пластинки Merck silica gel). Одержаний метанольний елюат досліджували методом УФ-спектрофотометрії.

З метою розробки умов виявлення та кількісного визначення метформіну в одержаних вилученнях з біологічного матеріалу методом УФ-спектрофотометрії нами було виміряно спектр метанольного розчину метформіну. Встановлено, що УФ-спектр метанольного розчину метформіну характеризується максимумом поглинання за довжини хвилі 236±2 нм. Для кількісного визначення метформіну методом спектрофотометрії будували градувальний графік залежності оптичної густини від концентрації препарату на основі приготованої серії розчинів метформіну в метанолі. За побудованим графіком виводили рівняння прямої, яке використовували для кількісного визначення метформіну в модельних розчинах. Розроблені умови були опрацьовані нами в дослідженнях за кількісним визначенням метформіну у вилученнях з біологічного матеріалу. Встановлено, що запропоновані умови дозволяють виділити метформін з біологічних об'єктів у діапазоні 77–82%. При цьому, відносна невизначеність середнього результату за кількісним визначенням метформіну методом спектрофотометрії становить ±11,36%, а відносне стандартне відхилення – 4,08. Це свідчить про придатність розроблених умов для цілей направленої ХТА при отруєнні метформіном.