КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ АЦЕТИЛХОЛІНУ МЕТОДОМ ХЕМІЛЮМІНЕСЦЕНЦІЇ

Блажеєвський М. Є., Ковальська О.В.
Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна
lena05021985@ukr.net

Актуальність.. Дослідження патогенезу низки захворювань пов'язаних з порушеням передачі нервового імпульсу, (а саме хвороби Хантінгтона, хвороби Альцгеймера, шизофренії та хвороби Паркінсона), що супроводжуються, періодичною кульгавістю, спазмами артерій сітківки, ендартеритом, атонією кишечника та сечового міхура, та з метою створення лікарських засобів, потребує можливості вимірювати концентрацію ацетилхоліну (АХ), як основного передавача нервового імпульсу, простими, швидкими, недорогими та точними методами.

Мета. З метою вирішення цього завдання нами опрацьований новий спосіб кількісного визначення ацетилхоліну методом хемілюмінесценції у водних розчинах.

Матеріали та методи. Опрацьований кінетико-хемілюмінесцентний метод кількісного визначення ацетилхоліну хлориду, заснований на використанні спряженої системи двох послідовних реакцій: пергідролізу ацетилхоліну (реакція з надлишком гідроген пероксиду в слабко лужному середовищі) та індукованої нею реакції окиснення хемілюмінесцентного індикатору люмінолу - гідразиду 3-амінофталевої кислоти (H_2L). Надацетатна кислота, що утворюється у первинній реакції пергідролізу АХ, взаємодіє з H_2L в присутності гідроген пероксиду з виникненням яскравої хемілюмінесценції. Вміст ацетилхоліну визначають при pH 8.5, використовуючи залежність величини інтегральної хемілюмінесценції ($\Delta\Sigma$) від *c* (АХ).

Отримані результати. Метрологічні характеристики результатів кількісного визначення ацетилхоліну опрацьованим методом: $\overline{X} \pm \Delta\overline{X} = (2.20 \pm 0.06)\cdot 10^{-4}$ моль/л; RSD = 2.2 %, правильність 0 %. Нижня межа визначуваних концентрацій LOQ (10*S*) = $7.7\cdot 10^{-5}$ моль/л.

Висновки. Опрацьований новий метод та показана можливість кількісного визначення вмісту ацетилхоліну, котрий характеризується високою чутливістю та достатньою точністю результатів, а також є простим та швидким у виконанні. Крім того, запопонований метод може бути використаний для визначення активності ацетилхолінестерази (АХЕ) за залишком субстрату біохімічної реакції – ацетилхоліну.

ОСОБЛИВОСТІ ПРИГОТУВАННЯ РОЗЧИНІВ 2-ІМІНО-*2H*-ХРОМЕН-3-КАРБОКСАМІДІВ ДЛЯ РЕЄСТРАЦІЇ ЯМР-СПЕКТРІВ

Горінчой Я.К.
Наукові керівники: Билов І.Є., Бризицька О.А.
Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна
orgchem.bylov@gmail.com

Актуальність. ЯМР-спектроскопія є одним із основних методів ідентифікації органічних речовин, який не тільки доводить їх будову, а й підтверджує їх індивідуальність. Дейтерований диметилсульфоксид (ДМСО-D_6) є найчастіше вживаним розчинником при реєстрації спектрів ЯМР.

Мета роботи. Показати вплив розчинника та умов підготовки розчину на результати спектрів ПМР 2-іміно-*2H*-хромен-3-карбоксамідів.

Матеріали та методи. Використані результати власних спектральних досліджень, а також літературні дані та дані відкритих електронних джерел. Проведено інтерпретацію спектрів ЯМР 2-іміно-*2H*-хромен-3-карбоксамідів та зроблено їх порівняльний аналіз.

Отримані результати. В результаті реєстрації спектрів ЯМР розчинів 2-іміно-*2H*-хромен-3-карбоксамідів у ДМСО-D_6 було зафіксовано наявність домішки (рис. 1). Оскільки індивідуальність речовин була доведена за допомогою ТШХ і вони мали чіткі температури топлення, було зроблено висновок, що утворення домішки відбувається при приготуванні досліджуваного розчину.

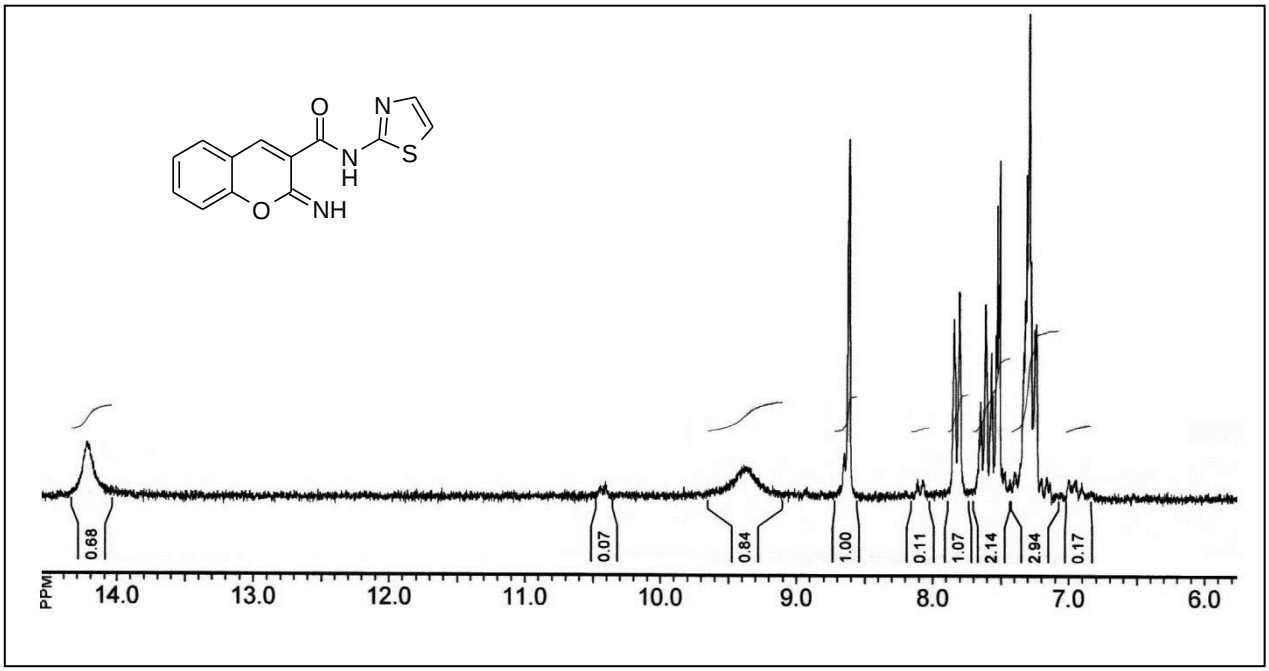
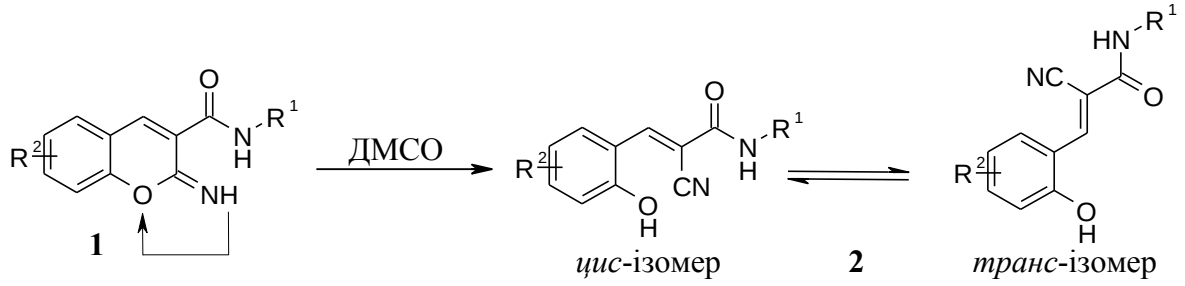


Рис. 1. ПМР-спектр 2-іміно-*2H*-хромен-3-(2'-тіазоліл)карбоксаміду в ДМСО-D_6 (розчин приготований при підігріві)

Було встановлено, що у таких розчинниках, як ДМФА та ДМСО відбувається ізомеризація 2-іміно-*2H*-хромен-3-карбоксамідів (**1**) у відповідні нециклічні 2-ціано-3-(2-гідроксифеніл)проп-2-ен-1-карбоксаміди (**2**).



Швидкість утворення відповідних сполук **2** залежить від природи замісників. Незаміщені (R^1 = H) аміди ізомеризуються вже при кімнатній температурі (домішки незамкнених форм **2** для R^2 = 6-CH_3O, 6-Cl, 8-CH_3O складають 23, 30 та 46% відповідно); також легко розкриваються алкілзаміщені (R^1 = метил, циклогексил, адамантил) аміди. Якщо R^1 відповідає арилу або гетарилу, при кімнатній температурі ізомеризації, практично, не відбувається. Однак, вони утворюють домішки сполук **2** в разі незначного підігріву: R^1 = бензил (5%– 40% ізомеру в залежності від R^2), R^1 = феніл (17%– 25%), R^1 = тіазоліл – 9%.

Значно впливає на ступінь ізомеризації природа замісника R^2: найбільш легко розкриваються 6-нітро-, 7-гідрокси(алкокси)-, 7-діетиламіно-, 6-галогензаміщені та незаміщені 2-іміно-*2H*-хромен-3-карбоксаміди. 5,6-Бензо-2-іміно-*2H*-хромен-3-карбоксаміди практично не ізомеризуються.

Висновки. Тому, з метою запобігання ізомеризації, ми пропонуємо використовувати для реєстрації спектрів ЯМР розчини 2-іміно-*2H*-хромен-3-карбоксамідів **1** у дейтерохлороформі ($CDCl_3$) з додаванням, у разі необхідності, дейтерованої трифтороцтової кислоти (CF_3COOD).

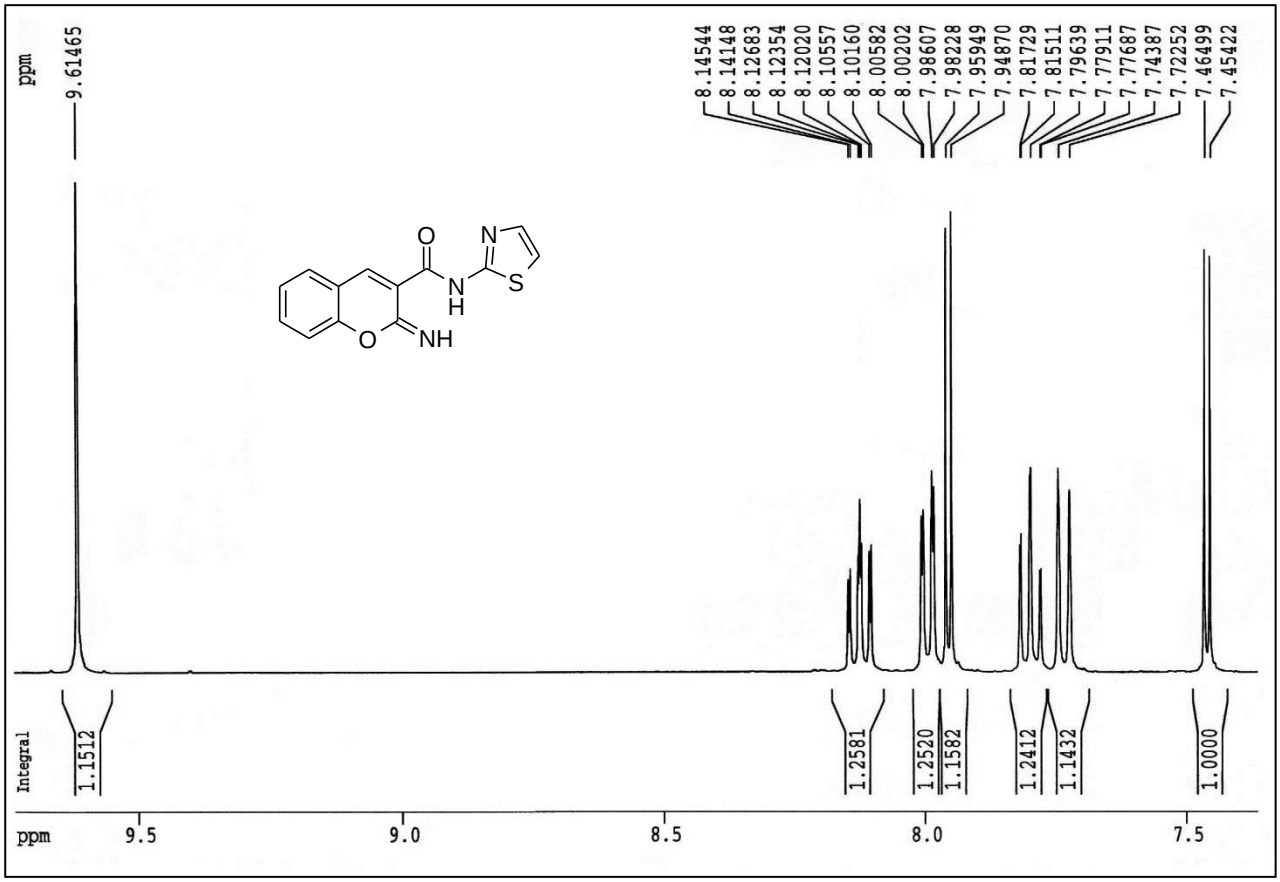


Рис. 2. ПМР-спектр 2-іміно-*2H*-хромен-3-(2'-тіазоліл)карбоксаміду в $CDCl_3$ з додаванням CF_3COOD

Єдиним недоліком додавання CF_3COOD є неможливість визначення сигналів кислих протонів (–NH– амідної та іміногруп, –OH) через швидкий дейтерообмін.

Висновки. Таким чином, при приготуванні розчинів 2-іміно-*2H*-хромен-3-карбоксамідів у ДМСО можлива ізомеризація у відповідні нециклічні 2-ціано-3-(2-гідроксифеніл)проп-2-ен-1-карбоксаміди, що прогресує при підвищенні температури. Тому найбільш придатним розчинником для реєстрації спектрів ЯМР (^1H та ^{13}C) 2-іміно-*2H*-хромен-3-карбоксамідів є дейтерохлороформ з додаванням, у разі необхідності, дейтерованої трифтороцтової кислоти.