

## ЕКТРАКЦІЯ ІМІЗИНУ З БІОЛОГІЧНИХ РІДИН У ПРИСУТНОСТІ ВИСОЛЮВАЧІВ

Баюрка С.В., Карпушина С.А.

*Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна  
svitkrp@gmail.com*

Імізин (іміпрамін) – 5-(3-диметиламінопропіл)-10,11-дигідро-5Н-дибензо-[b,f]-азепіну гідрохлорид є представником трициклічних антидепресантів, який за механізмом фармакологічної дії невибірково інгібує зворотнє нейрональне захоплення моноамінів – норадреналіну, дофаміну та інших нейромедіаторів. Імізин застосовується у медичній практиці при терапії депресивних станів різного ступеню важкості, особливо при депресивних станах, що супроводжують психопатії та неврози. У зв'язку з відносною доступністю зазначеного антидепресанта, а також здатністю імізину потенціювати дію ряду лікарських засобів, а також при вживанні сумісно з алкоголем, можливі випадки отруєнь зазначеним препаратом. Методи судово-токсикологічного аналізу імізину в об'єктах біологічного походження розроблені недостатньо, а опрацьовані методики його ізолювання з крові та сечі відрізняються недостатньою ефективністю.

Метою дослідження було вдосконалення розробленої нами раніше методики виділення імізину з модельних проб крові та сечі за допомогою рідинно-рідинної екстракції. Попередньо було вивчено умови екстрагування імізину з водних розчинів органічними розчинниками у залежності від рН водного середовища та встановлено його оптимальні значення для екстракції препарату. Найвищий ступінь екстракції було отримано для хлороформу при рН водної фази 11. За наведених умов з сечі було виділено 71% імізину, з крові – 39% препарату.

Для підвищення ефективності ізолювання досліджуваного антидепресанта з біологічних рідин використовували метод висолювання імізину із крові та сечі. Для цього до модельних проб біологічних рідини, які вміщували від 200 до 1000 мкг імізину, додавали насичений розчин натрій сульфату, підлюговували 25% розчином амоній гідроксиду до рН 11 і тричі екстрагували основу препарату хлороформом по 10 мл кожного разу. Паралельно ставили «холості» досліді з біологічними рідинами.

При виділенні імізину з крові попередньо осаджували білкові домішки додаванням 10% розчину кислоти хлоридної та наступним центрифугуванням протягом 15 хв при 4000 об/хв. Після цього осад відокремлювали, а з кислого центрифугату екстрагували ендогенні домішки діетиловим етером двічі по 15 мл кожного разу. Потім до кислих центрифугатів додавали 10 мл насиченого розчину натрій сульфату, підлюговували 25% розчином амоній гідроксиду до рН 11 і тричі екстрагували імізин хлороформом по 15 мл кожного разу. Отримані екстракти з крові та сечі об'єднували, при необхідності фільтрували через паперовий фільтр, який містив 0,5 г безводного натрій сульфату, та переносили до мірних колб на 50 мл і доводили до мітки хлороформом. В отриманих екстрактах проводили ідентифікацію та кількісне визначення імізину.

Витяжки із біологічних рідин, особливо з крові, які отримували зазначеним вище методом ізолювання, при необхідності додатково очищували від ендогенних компонентів біологічних рідин екстракційним методом з використанням діетилового етеру та хлороформу.

Виявляли імізин в одержаних екстрактах за допомогою методу тонкошарової хроматографії, осадкових та кольорових реакцій.

Хроматографування екстрактів проводили послідовно з використанням двох рухомих фаз: хлороформ та метанол–25% розчин амоній гідроксиду (100:1,5); проявник – реактив Драгендорфа у модифікації за Мун'є (при цьому детектували коричневі плями імізину на оранжевому фоні). Значення  $R_f$  плям імізину у досліджуваних біологічних екстрактах та в стандартному розчині імізину співпадали та складали 0,80–0,83. Домішки з біологічних рідин не заважали хроматографуванню імізину, адже вони переважно мігрували до лінії фінішу з фронтом рухомої фази при хлороформу як рухомої фази. У «холостому» досліді імізин не виявлявся.

При виявленні імізину за допомогою осадкових реакцій попередньо було встановлено, що зазначений препарат утворював різні за забарвленням аморфні осадки з сіллю Рейнеке, розчином кислоти пікринової, реактивами Зонненшейна, Шейблера, Майєра, Марме та Вагнера, роданідними комплексами кадмію, феруму (II), мангану, хрому, кобальту та цинку. Екстракти, отримані для «холостих» дослідів з біологічними рідинами, аморфних або кристалічних осадків з осадковими реактивами не утворювали. Реакції з осадковими реактивами відрізняються високою чутливістю, але вони не специфічні.

При виявленні імізину в одержаних екстрактах з біологічних рідин за допомогою кольорових реакцій дослідження проводили з наступними реактивами: концентрованими мінеральними кислотами (сульфатна, нітратна), реактивами Маркі, Фреде, Лібермана та Манделіна. Найбільш характерні забарвлення препарат утворював з реактивами Лібермана (блакитне) та Манделіна (блакитне при наступній обробці водою). Попередніми дослідями зі стандартними розчинами імізину було встановлено, що чутливість виявлення вказаного препарату за допомогою кольорових реакцій знаходиться в межах 2,0–6,0 мкг імізину в пробі. Екстракти, отримані в «холостих» дослідях, забарвлень з кольоровими реактивами не утворювали. Кольорові реакції відрізняються достатньо високою чутливістю, і в більшості випадків їх зручно використовувати на етапі скринінгу при судово-токсикологічних дослідженнях.

Кількісне визначення імізину в екстрактах проводили екстракційно-спектрофотометричним методом у видимій ділянці спектру за реакцією утворення іонного асоціату препарату з кислотним барвником бромфеноловим синім. Вміст імізину у витяжках з крові та сечі розраховували за допомогою градувального графіку. Результати кількісного визначення показали, що з крові вдається виділити до 58,4% імізину, відносна помилка визначення 4,7%, а з сечі – 8,6%, відносна помилка 4,2%, що задовольняє вимогам до методів, що використовуються при судово-токсикологічних дослідженнях.