

УДК 615.218.3:615.917

А. М. ЛЕБЕДИН, О. О. МАМІНА

Національний фармацевтичний університет

ЕКСТРАГУВАННЯ ХЛОРОПІРАМІНУ ГІДРОФІЛЬНИМИ РОЗЧИННИКАМИ З БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ

Проведено екстракцію хлоропіраміну водою з печінки трупів, очищення екстрактів гексаном та методом тонкошарової хроматографії, кількісне визначення хлоропіраміну методом УФ-спектрофотометрії. Екстракція хлоропіраміну водою з біологічного матеріалу дозволяє визначити при застосуванні оксалатної кислоти – $44,6 \pm 2,7$ % та сульфатної кислоти – $53,2 \pm 3,4$ % речовини відповідно.

Ключові слова: хлоропірамін; екстракція водою з біологічного матеріалу; хіміко-токсикологічний аналіз

ВСТУП

Хлоропіраміну гідрохлорид (супрастин) – антигістамінний препарат першого покоління широко застосовується у медичній практиці для лікування алергічних дерматозів, алергічного риніту і кон'юнктивіту, сінної лихоманки, набряку Квінке, медикаментозної алергії. Хлоропірамін та деякі протиалергічні препарати першого покоління при зловживанні можуть викликати токсикоманію, важку інтоксикацію організму, вражати ЦНС, дихальну систему та порушувати функції печінки та нирок. Летальне ураження супроводжується розвитком коматозного стану та паралічу дихального центра [4, 5].

У зв'язку із розповсюдженням комбінованих отруень та відсутністю систематичних досліджень антигістамінних препаратів у біологічних об'єктах розробка методик хіміко-токсикологічного аналізу хлоропіраміну є актуальною задачею.

Однією з важливих проблем сучасної судово-медичної експертизи є вибір ефективних, експресних та економічних методів ізолювання лікарських препаратів різними екстрагентами з біологічного матеріалу, серед яких найбільш широко застосовуються гідрофільні розчинники – вода, підкислена кислота оксалатною (метод Васильєвої О. О.) або сульфатною (метод Крамаренко В. П.) [1].

Новизна дослідження обумовлена відсутністю систематичних даних відносно поведінки хлоропіраміну при ізолюванні його різними екстрагентами з біологічного матеріалу, вибору оптимальних умов очищення екстрактів від домішок.

Мета дослідження – розробка методики аналізу хлоропіраміну у біологічному матеріалі, яка складається з експресних, ефективних та економічних методів екстракції хлоропіраміну водою при застосуван-

ні підкислюючих агентів – кислот щавлевої та сульфатної з тканини печінки тварин з урахуванням індивідуальних властивостей лікарської речовини, очищення екстрактів від домішок та застосування високочутливих методів ідентифікації та кількісного визначення хлоропіраміну.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

При проведенні прободготовки враховували різне кровонаповнення органів, можливість різної локалізації білкових та жирових включень, тому відбирали 100,0 г об'єкта, подрібнювали ножицями, ретельно перемішували, а потім відбирали середні проби об'єкта масою по 10,0 г.

Були підготовлені модельні суміші 10,0 г тканини печінки з 1000,0 мкг хлоропіраміну гідрохлориду при застосуванні водного розчину лікарської речовини, який вміщував 1000,0 мкг/мл; контрольні проби залишали на 24 год при кімнатній температурі.

Через добу проводили дослідження згідно з модифікованими методиками екстрагування водою.

Методика ізолювання хлоропіраміну водою, підкисленою кислотою оксалатною: модельну суміш заливали 20,0 мл води очищеної, після цього підкислювали 10 % водним розчином кислоти оксалатної до рН 2,0-2,5 за універсальним індикаторним папером та залишали на 2 год при постійному перемішуванні і контролі рН середовища. Кислу водну витяжку зливали з біологічного матеріалу, який ще раз протягом 1 год настоювали з водою, підкисленою 10 % водним розчином кислоти оксалатної до рН 2,0-2,5.

Кислі водні витяжки об'єднували, проціджували крізь подвійний шар марлі та центрифугували протягом 10 хв при 5000 об/хв. Надосадову рідину з центрифужного стакана переносили у ділянку лійку. Цю рідину двічі збовтували з порціями хлороформу по 10 мл. Кислі водні витяжки підлужували 25 % роз-

чином аміаку до pH 9,0-10,0 за універсальним індикаторним папером та двічі екстрагували хлоропіраміну основу порціями хлороформу по 10 мл.

Методика ізолювання хлоропіраміну водою, підкисленою кислотою сульфатною: модельну суміш заливали 0,01 М розчином кислоти сульфатної з таким розрахунком, щоб тверді частинки біологічного матеріалу були вкриті цим розчином. Якщо pH суміші перевищувало 2,0-2,5, то додавали краплями 20 % розчин кислоти сульфатної до pH 2,0-2,5. Вміст склянки залишали на 2 год, періодично перемішуючи, а потім проціджували крізь подвійний шар марлі. Біологічний матеріал ще двічі протягом 1 год настоювали з водою, підкисленою кислотою сульфатною до pH 2,0-2,5.

До об'єднаних рідин додавали кристалічний амонію сульфат (з розрахунку 4,3 г на 10 мл розчину), перемішували та центрифугували протягом 10 хв при 6000 об/хв. Надосадову рідину переносили у ділільну лійку та двічі збовтували з порціями хлороформу по 10 мл.

Кислу водну витяжку підлужували 20 % розчином натрію гідроксиду до pH 9,0-10,0 за універсальним індикатором та двічі екстрагували хлоропіраміну основу порціями хлороформу по 10 мл.

Хлороформні витяжки, які отримували за вищенаведеними методиками, об'єднували та центрифугували протягом 10 хв при 5000 об/хв для руйнування стійких емульсій. Хлороформні витяжки фільтрували через паперовий фільтр («червона стрічка») з 1,0 г натрію сульфату безводного, проводили екстракційне та ТШХ-очищення за розробленими методиками.

Екстракційне очищення витяжок проводили при висушуванні хлороформних екстрактів при кімнатній температурі з наступним розчиненням сухого залишку у 20 мл 0,1 М розчину кислоти хлористоводневої та екстрагуванням домішок гексаном тричі по 5 мл, які відкидали. Очищені розчини кислоти хлористоводневої випаровували до сухого залишку, який розчиняли в 10 мл етанолу.

ТШХ-очищення хлоропіраміну у витяжках проводили за наступною методикою: 1,0 мл отриманого етанольного розчину хлоропіраміну після екстракційного очищення, який відповідав 1,0 г біологічного матеріалу, упарювали до 0,3-0,5 мл та наносили у вигляді смуги довжиною 2 см на лінію старту хроматографічної пластинки Сорбфіл ПСТХ-АФ-А. На відстані 2 см від смуги наносили в точку 50 мкг свідка, використовуючи стандартний етанольний розчин (50 мкг/мл) хлоропіраміну гідрохлориду. На відстані 2 см від точки, яка відповідала свідку, наносили отриману, як зазначено вище, витяжку з контрольної проби.

Хроматографування проводили у камері об'ємом 500 см³, в яку вносили 50 мл системи органічних роз-

чинників етилацетат – метанол – 25 % розчин аміаку (85:10:5) з наступним насиченням камери парами розчинників не менше 30 хв; довжина пробігу фронту рухомої фази – 8 см.

Хроматографічну пластинку висушували при кімнатній температурі, після чого її частину, де знаходився свідок та витяжка з контрольної проби, проявляли найбільш чутливим реактивом Драгендорфа за Мунье, (чутливість проявника – 1-3 мкг речовини у пробі); $R_{f, \text{хлоропіраміну}} = 0,60-0,63$, домішки розташовані на лінії старту або на лінії фінішу [2].

На рівні знаходження плями стандартного розчину досліджуваної речовини з частини пластинки, яка не була оброблена проявником, знімали шар сорбенту площею 4-5 см², переносили на фільтр та тричі елюювали речовину 0,1 М розчином кислоти хлористоводневої по 5 мл та фільтрували через фільтр («червона стрічка»). Отриманий розчин упарювали на водяній бані до об'єму 2-3 мл, кількісно переносили в мірну колбу місткістю 5,0 мл та доводили до мітки розчинником.

Оптичну густину отриманого після очищення розчину визначали на спектрофотометрі СФ-46, кювета товщиною 10 мм; $\lambda_{\text{max}} 312 \pm 2$ нм; розчин порівняння, отриманий з контрольного дослідження. Концентрацію хлоропіраміну в розчині (С, мкг/мл) розраховували за допомогою градуювального графіка або за відповідним рівнянням лінійної залежності оптичної густини та його концентрації.

Значення оптичної густини вимірювали на спектрофотометрі СФ-46, кювета товщиною 10 мм; $\lambda_{\text{max}} 312 \pm 2$ нм; розчин порівняння – 0,1 М розчин кислоти хлористоводневої. Згідно з результатами досліджень, підлягання світлопоглинання розчинів хлоропіраміну у 0,1 М розчині кислоти хлористоводневої закону Бугера-Ламберта-Бера спостерігається у межах концентрацій (5,0-35,0 мкг/мл); нижня межа визначення – 5,0 мкг/мл.

Наведеному градуювальному графіку відповідає рівняння прямої, що має вигляд:

$$C = -0,018 + 0,024 A,$$

де: А – оптична густина розчину хлоропіраміну гідрохлориду;

С – концентрація розчину хлоропіраміну гідрохлориду, мкг/мл [3].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Отримані дані наведені в таблиці та свідчать про відтворюваність результатів визначення за розробленим алгоритмом аналізу хлоропіраміну у тканині печінки тварини при застосуванні гідрофільних розчинників – води, підкисленої кислотами оксалатною або сульфатною, що підтверджується метрологічними характеристиками.

Таблиця

РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСТРАКЦІЇ ХЛОРОПІРАМІНУ ВОДОЮ З ТКАНИНИ ПЕЧІНКИ ($n = 5, P = 95 \%$)

Внесено хлоропіраміну, мкг	Оптична густина, A_x	Виділено хлоропіраміну		Метрологічні характеристики, %
		мкг	%	
Екстракція водою, підкисленою кислотою оксалатною				
1000,0	0,218	9,84	44,3	$\bar{X} = 44,6$ $S^2 = 0,92, S = 0,96$ $S_{\bar{x}} = 0,43$ $\Delta \bar{x} = 1,19$ $\bar{\varepsilon} = \pm 2,67$
	0,211	9,57	43,1	
	0,225	10,13	45,6	
	0,221	9,98	44,9	
	0,222	10,02	45,1	
Екстракція водою, підкисленою кислотою сульфатною				
1000,0	0,276	12,29	55,3	$\bar{X} = 53,2$ $S^2 = 2,15, S = 1,47$ $S_{\bar{x}} = 0,66$ $\Delta \bar{x} = 1,83$ $\bar{\varepsilon} = \pm 3,44$
	0,267	11,89	53,5	
	0,255	11,38	51,2	
	0,264	11,76	52,9	
	0,265	11,80	53,1	

У результаті дослідження встановлено, що найбільш ефективним методом для виділення хлоропіраміну у тканині печінки тварини при застосуванні гідрофільних розчинників є модифікований метод Крамаренко В. П., що зумовлено активним руйнуванням зв'язків хлоропірамін-білок кислотою сульфатною та утворенням стійких солей з хлоропіраміновою основою.

Розроблені методики можуть бути запропоновані для впровадження в практику роботи бюро судово-медичної експертизи, токсикологічних центрів, клінічних лабораторій з вивчення лікарських речовин у біологічних об'єктах.

ВИСНОВКИ

1. Проведено екстракцію хлоропіраміну водою з печінки трупа, очищення екстрактів гексаном та методом тонкошарової хроматографії, кількісне визначення хлоропіраміну методом УФ-спектрофотометрії.
2. Встановлено, що екстракція хлоропіраміну водою з біологічного матеріалу дозволяє визначити при застосуванні оксалатної кислоти – $44,6 \pm 2,7 \%$ та сульфатної кислоти – $53,2 \pm 3,4 \%$ речовини відповідно.

**ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ
ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ**

1. Бурчинський В. Г. Загальні методи ізолювання отруйних та сильнодіючих речовин із біологічного матеріалу: [метод. рекоменд.] / [В. Г. Бурчинський, Ф. М. Кахановський, К. І. Кахановська та ін.]. – Одеса: Астропринт, 2010. – 44 с.
2. Дослідження антигістамінних препаратів методом тонкошарової хроматографії / О. О. Маміна, А. М. Лебедин, Є. Л. Бондаренко, Н. О. Шум // XI зб. наук. праць «Питання судової медицини та експертної практики», присвячена 90-річчю Донецької судово-медичної експертизи. – Донецьк, 2013. – С. 101-102.
3. Лебедин А. М. Вибір оптимальних умов аналізу хлоропіраміну методом УФ-спектрофотометрії, придатних для хіміко-токсикологічних досліджень / А. М. Лебедин, О. О. Маміна, Л. І. Боряк // Зб. наук. праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика. – 2012. – Вип. 21. Кн. 4. – С. 313-318.
4. Машковский М. Д. Лекарственные средства. – М.: ООО Изд-во «Новая волна», 2010. – 1216 с.
5. Clarke E. J. C. Isolation and Identification of Drugs in Pharmaceuticals, Body Fluids and Postmortem Material London: The Pharm. Press, electronic version, 2005.

УДК 615.218.3:615.917**А. Н. Лебедин, Е. А. Мамина****ЭКСТРАКЦИЯ ХЛОРОПИРАМИНА ГИДРОФИЛЬНЫМИ РАСТВОРИТЕЛЯМИ ИЗ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА**

Проведена экстракция хлоропирамина водой из печени трупа, очищение экстрактов гексаном и методом тонкослойной хроматографии, количественное определение хлоропирамина методом УФ-спектрофотометрии. Экстракция хлоропирамина водой из биологического материала позволяет определить при использовании щавелевой кислоты – $44,6 \pm 2,7$ % и сульфатной кислоты – $53,2 \pm 3,4$ % вещества соответственно.

Ключевые слова: хлоропирамин; экстракция водой из биологического материала; химико-токсикологический анализ

UDC 615.218.3:615.917**A. M. Lebedin, O. O. Mamina****THE EXTRACTION OF CHLOROPYRAMINE BY HYDROPHILIC SOLVENTS FROM BIOLOGICAL MATERIAL**

The extraction of chloropyramine by water from liver of corpse, purifying extracts by hexane and Thin-layer Chromatography – method, quantitative determination of chloropyramine by UV-spectrophotometry have been conducted. The extraction of chloropyramine by water from biological material allows to determine with use of acid oxalic – $44,6 \pm 2,7$ % and acid sulphuric – $53,2 \pm 3,4$ % the substances accordingly.

Key words: chloropyramine; extraction by water from biological material; chemical-toxicological analysis

Адреса для листування:
61002, м. Харків, вул. Мельникова, 12.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 17.06.2014 р.