

УДК 615.9:615.07:615.212.7:54-438  
© Ковальська О.В., Мамаїна О.О., 2012

## ВИДІЛЕННЯ ДОКСАЗОЗИНУ ОРГАНІЧНИМИ РОЗЧИННИКАМИ З БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ

Ковальська О.В., Мамаїна О.О.

Національний фармацевтичний університет України

**Вступ.** При проведенні сучасної судово-медичної експертизи однією з важливих проблем є вибір ефективних та економічних методів виділення лікарських препаратів з біологічного матеріалу.

Найбільш широко розповсюджені методи екстракційного виділення лікарських речовин, особлива увага приділяється вибору екстрагентів в залежності від їх гідро-ліпофільних властивостей: гідروفобний розчинник хлороформ легко екстрагує речовини у молекулярній формі, амфіфільний розчинник ацетон виділяє лікарські речовини в іонізованій та молекулярній формі[3,5].

У сучасних дослідженнях біологічних об'єктів на наявність лікарських речовин використовують багатостадійні, довготривалі та недостатньо ефективні методи виділення без урахування властивостей індивідуальних отрут або обмежених груп речовин.

Доксазозин як  $\alpha_1$ -адреноблокатор характеризується не лише фармакологічною дією, а і токсичними ефектами при передозуванні, самолікуванні та може викликати інтоксикації організму і летальні випадки, тому розробка методів його дослідження у біологічних об'єктах є актуальною проблемою[6-8].

**Мета дослідження** – розробка ефективних методик виділення доксазозину органічними розчинниками – ацетоном та хлороформом з тканини печінки трупів з урахуванням індивідуальних властивостей лікарської речовини.

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

Дослідження виконано у відповідності з планом науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету “Хімічний синтез і аналіз біологічно-активних речовин, створення лікарських засобів синтетичного походження”, номер державної реєстрації 0103U000475 та Проблемної комісії “Фармація” МОЗ і АМН України.

**Матеріали та методи дослідження.** Пробопідготовка тканини печінки трупа до екстракції доксазозину хлороформом включала подрібнення біологічного матеріалу ножицями до часток розміром 0,3-0,5 см; руйнування клітин та зв'язування води, яка знаходиться у клітинах та міжклітинному просторі; руйнування зв'язків “білок-отрута” та переведення речовин в неіонізований стан, оптимальний для розчинення в хлороформі[5].

Підготовлені модельні суміші 10,0 г тканини печінки тварини та 0,2 мг доксазозину мезилату, а також контрольні проби залишали на 24 год при кімнатній температурі. Через добу до проб додавали по 15-20 г безводного натрію сульфату та розтирали у ступці до утворення сипкої маси.

Згідно з даними літератури при порівнянні ре-

зультатів статичного та динамічного режимів екстрагування лікарських речовин хлороформом було встановлено, що чотириступенева екстракція (послідовна екстракція) та безперервна екстракція через скляну колонку мають незначні відмінності у значеннях виходу речовини. Чотириступенева екстракція більш проста та економічна при виконанні, що обумовлює її вибір[5]. Екстрагування доксазозину проводили після настоювання чотири рази по 20 хв з об'ємами хлороформу по 25 мл з наступним фільтруванням через фільтр, змочений хлороформом з 1,0 г безводного натрію сульфату.

Хлороформні витяжки упарювали на водяній бані до сухого залишку, який розчиняли в 20 мл 0,1 М розчині кислоти хлористоводневої. Домішки тричі екстрагували гексаном порціями по 5 мл, гексанову фазу не досліджували. Після підлогування водних фаз 25% розчином амонію гідроксиду до рН 9-10 доксазозин-основу екстрагували хлороформом двічі по 10 мл. Водно-хлороформні емульсії руйнували центрифугуванням 6000 об/хв протягом 10 хв.

Отриману хлороформну фазу упарювали на водяній бані до сухого залишку, який розчиняли у етанолі, після чого кількісно переносили в мірну колбу місткістю 5 мл та доводили до мітки етанолом.

Для очищення етанольних розчинів доксазозину використовували метод тонкошарової хроматографії (ТШХ). Оптимальні умови хроматографування: система рухомих розчинників – хлороформ-ацетон (8:2); хроматографічні пластини Сорбфл ПСТХ-АФ-А; проявник – реактив Драгендорфа за Мунье, (чутливість проявнику –1-3 мкг речовин у пробі);  $Rf_{\text{доксазозину}} = 0,54-0,56$ , домішки - на лінії старту або на лінії фінішу[1].

Для кількісного визначення доксазозину в екстрактах застосовували УФ-спектрофотометричний метод при використанні спектрофотометру СФ-46, кювети товщиною 10 мм;  $\lambda_{\text{max}} 250 \pm 1$  нм.

Вміст препарату розраховували за рівнянням градувального графіку  $C = 0,001 + 8,99 A$ , де  $C$  – концентрація доксазозину у стандартному розчині, мкг/мл,  $A$  – оптична густина. Інтервал лінійності градувального графіку складав у діапазоні концентрацій 1,0 – 8,0 мкг/мл; нижня межа визначення – 0,9 мкг/мл[2]. Як розчин порівняння використовували розчин, отриманий при аналізі контрольної проби. Оптична густина розчину порівняння, отриманого з контрольного дослідження, не перевищувала 0,05 одиниць оптичної густини.

Ізолювання доксазозину ацетоном з тканини печінки трупа проводили за наведеною вище методикою чотириступеневої екстракції, але без руйнування клітин та зв'язування води безводним натрію сульфатом, враховуючи здатність ацетону розчиняти ліпідні та білкові фрагменти мембран клітин.

**Результати дослідження та їх обговорення.**

Отримані дані наведені в табл. та свідчать про відтворюваність результатів визначення доксазозину за розробленими методиками виділення з біологіч-

ного матеріалу при застосуванні екстракції хлороформом та ацетоном, що підтверджується метрологічними характеристиками.

**Таблиця.** Результати виділення доксазозину органічними розчинниками з тканини печінки труп (n = 5, P = 95%)

Внесено, мг	Виділено доксазозину, %	Метрологічні характеристики					
		X	S <sup>2</sup>	S	S <sub>x</sub>	Δx	ε
<b>Виділення хлороформом</b>							
0,2	33,9 – 37,4	35,6	1,99	1,41	0,63	1,75	4,91
<b>Виділення ацетоном</b>							
0,2	29,5 – 32,8	31,1	1,77	1,33	0,59	1,65	5,27

Результати дослідження будуть застосовані при розробці схем спрямованого або неспрямованого аналізу біологічних об'єктів на доксазозин та його суміші з іншими лікарськими речовинами.

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

#### Висновки:

1. В результаті проведених досліджень розроблено методики виділення доксазозину з біологічного матеріалу екстракцією хлороформом та ацетоном.

2. Визначено умови ефективного очищення хлороформних та ацетонових витяжок з біологічного матеріалу методом рідинної екстракції домішок гексаном та ТШХ-методом в розроблених умовах хроматографування.

3. Встановлено, що екстракція доксазозину ацетоном та хлороформом з біологічного матеріалу дозволяє визначити  $31,1 \pm 5,3\%$  та  $35,6 \pm 4,9\%$  речовини відповідно.

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

#### ЛІТЕРАТУРА:

1. Ковальська О.В. Вибір оптимальних умов аналізу блокторів  $\alpha_1$ -адренорецепторів у біологічних об'єктах методом тонкошарової хроматографії / О.В. Ковальська, О.О.Маміна //Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П.Л.Шупика - 2011.– Вип. 20. Кн.3. – С.496-503.
2. Ковальська О.В. Застосування спектральних методів в аналізі доксазозину, придатних для хіміко-токсикологічних досліджень / О.В. Ковальська, О.О.Маміна //Український медичний альманах - 2011. – Т.14. - № 1. - С.106-108.
3. Маміна О.О. Порівняльна оцінка методів ізолювання «лікарських» отрут основного характеру з біологічних об'єктів /О.О. Маміна // Фармацевт. журн. – 2001. - № 5.- С.70-74.
4. Маміна О.О. Порівняльна оцінка методів очищення хлороформних витяжок з біологічного матеріалу / О.О. Маміна, В.В.Болотов //Фармацевт. журн. – 2006.-№ 5. - С.81-85.

лу / О.О. Маміна, В.В.Болотов //Фармацевт. журн. – 2006.-№ 5. - С.81-85.

5. Маміна О.О. Пробопідготовка при ізолюванні отрут основного характеру з тканини печінки трупа хлороформом / О.О. Маміна, В.В. Болотов // Запорозький мед. журн. - 2006. - № 5. - С.38-41.

6. Машковский М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковский – М.: ООО «Изд-во «Новая волна», 2010.– 1216 с.

7. Топчій І.І. Роль доксазозину в лікуванні хворих на діабетичну нефропатію з артеріальною гіпертензією / І.І.Топчій, В.П. Денисенко, А.О. Несен// Врач. практ. - 2006. - № 2. - С. 45—49.

8. Clarke E.J.C. Isolation and Identification of Drugs in Pharmaceuticals, Body Fluids and Postmortem Material / E.J.C. Clarke. - London: The Pharm.Press, electronic version, 2005.

**Ковальська О.В., Маміна О.О.** Виділення доксазозину органічними розчинниками з біологічного матеріалу // Український медичний альманах. – 2012. – Том 15, № 1. – С. 63-64.

Проведено екстракцію доксазозину ацетоном та хлороформом з печінки трупа, очищення екстрактів гексаном та методом тонкошарової хроматографії, кількісне визначення доксазозину методом УФ-спектрофотометрії.

Екстракція доксазозину ацетоном та хлороформом з біологічного матеріалу дозволяє визначити -  $31,1 \pm 5,3\%$  та  $35,6 \pm 4,9\%$  речовини відповідно.

**Ключові слова:** доксазозин, екстракція ацетоном та хлороформом з біологічного матеріалу.

**Ковальская Е.В., Мамина Е.А.** Выделение доксазозина органическими растворителями из биологического материала // Украинский медицинский альманах. – 2012. – Том 15, № 1. – С. 63-64.

Проведено екстракцію доксазозина ацетоном і хлороформом із печінки трупа, очистка екстрактів гексаном і методом тонкослойної хроматографії, кількісне визначення доксазозина методом УФ-спектрофотометрії.

Екстракція доксазозина ацетоном і хлороформом із біологічного матеріалу дозволяє визначити -  $31,1 \pm 5,3\%$  і  $35,6 \pm 4,9\%$  речовини відповідно.

**Ключевые слова:** доксазозин, екстракція ацетоном і хлороформом із біологічного матеріалу.

**Kovalska O.V., Mamina O.O.** The extraction of doxazosin by organic solvents from biological material // Український медичний альманах. – 2012. – Том 15, № 1. – С. 63-64.

The extraction of doxazosin by acetone and chloroform from liver of corpse, purifying extracts by hexane and Thin-layer Chromatography – method, quantitative determination of doxazosin with UV-spectrophotometry – method has been conducted.

The extraction of doxazosin by acetone and chloroform from biological material permit to determine -  $31,1 \pm 5,3\%$  and  $35,6 \pm 4,9\%$  of substance accordingly.

**Key words:** doxazosin, extraction by acetone and chloroform from biological material.

Надійшла 14.11.2011 р.  
Рецензент: проф. Л.В.Савченкова