

ФАРМХІМІЯ ТА ФАРМАКОГНОЗІЯ

ratio raw materials: extracting agent (1:6), and extraction time - 60 min. The research will be used for further study of lipophilic compounds to develop new medicines on their basis.

Key words: extraction, lipophilic compounds, raw material, medicinal herbs.

Відомості про авторів:

Дегтярьова Катерина Олександрівна – асистент кафедри аптечної технології ліків НФаУ.

Горлачова Вікторія Ігорівна – аспірант кафедри аптечної технології ліків НФаУ.

УДК 543.621:546.48:616.153

© М.Б. КАЛИТОВСЬКА, 2016

М.Б. Калитовська

ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ ВИЗНАЧЕННЯ КАДМІЮ В КРОВІ БЕЗ ПРОВЕДЕННЯ МІНЕРАЛІЗАЦІЇ БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ

Львівський національний медичний університет
імені Данила Галицького, м. Львів

Вступ. Швидка діагностика отруєння кадмієм є важливим завданням, яка дає можливість звести до мінімуму негативний вплив цього токсиканту на організм людини.

Мета. Оцінити ефективність визначення кадмію в крові без проведення мінералізації біологічного матеріалу.

Методи. Досліджувалися зразки крові, що містили іони кадмію, після проведення їх мінералізації і без мінералізації. Твердофазну екстракцію іонів кадмію проводили із використанням Н-клинотилоліту. Кількісне визначення вмісту кадмію у зразках крові здійснювали спектрофотометричним методом за реакцією із сульфурсазеном.

Результати. У крові визначено 88,6 % кадмію після проведення мінералізації біологічних зразків. Після ізолювання іонів металу в комплексі із білками, визначено 96,7 % кадмію у крові. Наведено переваги даної методики визначення кадмію у крові без проведення мінералізації біологічного матеріалу.

Ключові слова: кров, кадмій, мінералізація, твердофазна екстракція.

Вступ. Серед важких металів досить небезпечним для живих організмів є кадмій. Багато сполук кадмію досить добре розчиняються у воді і мігрують в ґрунт та рослинах. Внаслідок цього вони легко надходять в організм людини. Частина металу виводиться з організму, однак не більше 0,01 % кадмію за добу [1]. Тому значна його кількість накопичується і через кров розноситься по всіх внутрішніх органах (нирках, печінці, дванадцятипалій кишці) [2-4].

Для людини токсичною є доза кадмію 3-330 мг/кг. При хронічній інтоксикації сполуками даного металу виникають захворювання органів дихання, дисфункція нирок, прояви анемії, злоякісні новоутворення, остеопластичні та остеопорозні зміни кісткової тканини [5]. Вихорювання однієї сигарети призводить до поступлення в організм людини 0,1 мкг кадмію, що суттєво підвищує ризик інтоксикації кадмієм і може викликати рак легень [6].

Тому, щоб запобігти негативним наслідкам впливу кадмію на людський організм, необхідно правильно і швидко діагностувати даний вид отруєння та надати відповідну дезінтоксикаційну терапію.

Методи визначення важких металів передбачають проведення пробо- підготовки біологічного матеріалу, а саме його мінералізацію (суху або мокру), яка може тривати 6-8 годин [7]. Мінералізація містить, окрім іонів кадмію, ще багато макро- та мікроелементів, що входять у склад крові і заважають прямому визначенню досліджуваного металу інструментальними методами. Для його концентрування та усунення впливу компонентів досліджуваної суміші можна застосовувати екстракційно-фотометричний метод, проте він також є тривалим у виконанні, оскільки необхідно проводити багатократну екстракцію сполуки металу. Після усунення компонентів матриці вміст важкого металу у мінералізаті найчастіше визначають молекулярно-абсорбційними або атомно-абсорбційними методами аналізу. Тому пошук нових методів визначення вмісту важких металів у крові, які можна проводити досить швидко і без використання високовартісного обладнання – актуальне завдання.

Мета дослідження. Оцінити ефективність визначення вмісту кадмію у крові без проведення мінералізації біологічного матеріалу.

Матеріали та методи. Дослідження проводили із використанням зразків донорської крові, які відбирали у Львівському обласному центрі служби крові. Готували серії проб крові по 2,0 мл крові, в які вносили аліквоти стандартного розчину кадмію йодиду. Стандартний розчин із вмістом 112,0 мкг/мл іонів кадмію готували із точної наважки 0,0366 г кадмію йодиду (х.ч.), яку розчиняли у дистильованій воді в колбі ємністю 100,0 мл.

Мінералізацію зразків крові проводили у муфельній печі при 350 °С протягом 6 год в присутності 0,5 г амонію хлориду. Залишок золи розчиняли в 4,0 мл 0,1 М HNO_3 . Ізолювання меркурію в комплексі із білковими сполуками проводили за допомогою твердофазної екстракції Н-клинотилолітом, який одержували після обробки сорбенту 1М розчином HCl протягом 24 год. з наступним промиванням, висушуванням та зберіганням в ексикаторі. Для виготовлення сорбційних колонок відбирали фракцію целюліти з розміром зерен 0,2 мм наважками по 0,60 г. Висота сорбційної колонки становила 10 мм, а ширина – 6 мм. Стабілізацію сорбційної колонки проводили 2,0 мл 1 М HCl , потім 1,0 мл універсальної буферної суміші Бріттона-Робінсона із рН 5,2.

Для кількісного визначення іонів металу використовували 0,05 % розчин сульфарсазену (мононатрієва сіль (2-арсоно-4-нітрофеніл)-1,4-діазо-аміноазобензол-4 сульфокислоти), який готували розчиненням 50,0 мг барвника у дистильованій воді в присутності 1,01 г натрію тетраборату.

Визначення вмісту іонів кадмію проводили спектрофотометрично за реакцією із сульфарсазеном ($\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{O}_8\text{N}_6\text{SAsNa}$) в присутності аміачного буферного розчину (рН 10,0). Іони кадмію в інтервалі рН 8,7-10,2 утворюють із сульфарсазеном стійку комплексну сполуку складу 1:1[8]. Для визначення меркурію спектрофотометричним методом до 2,0 мл елюату додавали 2,7 мл дистильованої води, 5,0 мл аміачного буферного розчину із рН 10,0 та 0,3 мл 0,05 % розчину сульфарсазену і вимірювали світлопоглинання розчину. Для вимірювання оптичної густини використовували спектрофотометр СФ-56 (довжина хвилі 510 нм, товщина робочого шару кювети – 10 мм). Концентрацію іонів кадмію знаходили за градувальним графіком. Лінійна залежність оптичної густини розчинів від концентрації іонів металу зберігається в межах від 1,0 до 30,0 мкг в 10,0 мл кінцевого об'єму. Вміст кадмію у досліджуваних зразках крові розраховували за наступною формулою:

$$m_{Cd^{2+}} = \frac{m_{ал.} \cdot V_{ел.} \cdot V_{р.ф.}}{0,66 \cdot V_{ал.}}$$

де $m_{Cd^{2+}}$ – вміст кадмію, визначеного у зразку крові, мкг; $m_{ал.}$ – визначено десорбованих іонів кадмію в аліквоті елюату, мкг; $V_{ел.}$ – об'єм елюату, мл; $V_{р.ф.}$ – об'єм відібраної рідкої фази крові, мл; 0,66 – коефіцієнт поправки на процес твердофазної екстракції; $V_{ал.}$ – об'єм елюату, відібраний для спектрофотометричного визначення, мл.

Результати та їх обговорення. З метою порівняння ефективності кількісного визначення кадмію у крові без проведення мінералізації біологічного зразку, одночасно проводили сухе озолення однієї серії зразків крові (по 2,0 мл), що містила іони цього металу в кількості 500,0 мкг. Оскільки при проведенні сухої мінералізації може втрачатися частина іонів металу (до 30 %), тому кількість введених іонів кадмію була набагато більшою, аніж у зразках, які не мінералізувалися. В інших серіях зразків крові, що містили по 225,0 та 337,0 мкг іонів кадмію, ізолювання металу проводили за допомогою твердофазної екстракції Н-клинтоптілолітом у комплексі із білками. Попередні дослідження показали, що із плазми можна вилучити до 72 % білків плазми, з якими зв'язані іони кадмію [9].

Дослідження зразків крові, що були мінералізовані. Мінералізатор, одержаний після розчинення залишку золи в 0,1 М HNO_3 , нейтралізували до рН 5,2 цієї ж кислотою. По 1,0 мл кожної проби пропускали через стабілізовані сорбційні колонки із швидкістю 5 кр./хв. Десорбція іонів кадмію проводилася у статичних умовах водним розчином 0,1 М KCl , об'єм якого становив 10,0 мл [10]. В аліквоті одержаного елюату спектрофотометричним методом за реакцією із сульфарсазеном визначали кількість іонів кадмію та розраховували їх вміст у досліджуваному зразку крові.

Дослідження зразків крові без проведення мінералізації. Зразки крові (2,0 мл), що містили по 225,0 і 337,0 мкг іонів кадмію, гемолізували за допомогою дистильованої води (1,0 мл) та проводили їх центрифугування (10 хв при 3000 об./хв.). Для досліджень відбирали рідку фазу. По 1,0 мл сироватки, одержаної із кожної проби, пропускали через стабілізовану сорбційну колонку із швидкістю 5 кр./хв. Десорбцію іонів кадмію із цеоліту проводили 15,0 мл 0,1 М водно-метанольного розчину KCl (1:1), у динамічних умовах, при швидкості пропускання сироватки 10 кр./хв. В аліквоті елюату визначали кількість десорбованих іонів кадмію також спектрофотометричним методом за реакцією із сульфарсазеном. Далі розраховували масу знайденого кадмію у досліджуваних зразках крові. Результати визначення вмісту кадмію у зразках крові після проведення мінералізації біологічного матеріалу та не мінералізованих зразків наведено у таблиці.

Дані дослідження показали, що після проведення мінералізації біологічної проби, шляхом сухого озолення крові у муфельній печі при 350 °С протягом 6 годин в присутності нітрату амонію, можна визначити до 88,6 % введених іонів кадмію. Частина концентрації введених іонів металу, очевидно, була втрачена в процесі мінералізації проби. При визначенні токсичних доз металу це є не бажаним результатом. Щоб усунути вплив компонентів матриці мінералізатору, необхідно було проводити ізолювання

іонів кадмію за допомогою сорбції на Н-клинотиллоліті. Загальна тривалість аналізу є досить довгою.

Таблиця

Порівняльна оцінка кількісного визначення кадмію у крові спектрофотометричним методом із проведенням та без проведення мінералізації біологічної проби

Спосіб пробопідготовки крові	Внесено Cd ²⁺ у кров, мкг	Визначено Cd ²⁺ у крові, мкг	Метрологічні характеристики				Визначено Cd ²⁺ у крові, %
			$\bar{x} \pm \Delta x$	S _x	S ²	ε	
Мінералізовані проби	500,0	442,5	443,2±3,4	2,7	7,30	0,76	88,6
		445,0					
		441,5					
		443,0					
		444,0					
Не мінералізовані проби	225,0	219,8	221,1±1,3	0,46	1,06	0,59	98,2
		221,0					
		222,4					
		220,5					
		221,8					
	337,0	319,2	320,7±5,3	1,90	17,97	1,65	95,2
		326,0					
		315,8					
		324,2					
		318,4					

Метод ізолювання іонів металу із крові в комплексі із білками, без проведення мінералізації біологічних проб, дозволяє визначити до 96,7 % від введеної кількості кадмію. Ці результати перевищують попередні. В даному випадку значно скорочується тривалість проведення аналізу, втрати іонів металу практично відсутні. Одночасно проводяться операції пробопідготовки та ізолювання іонів металу цеолітом. Після десорбції, кадмій в елюатах знаходиться в іонному стані, що дає можливість його кількісного визначення як спектральними, так і електрохімічними методами аналізу.

Висновки. Наведено методику визначення кадмію у крові після проведення мінералізації біологічного матеріалу, якою визначено 88,6 % іонів кадмію, від введеної кількості. Запропоновано умови ізолювання іонів кадмію із крові у комплексі із білковими сполуками за допомогою твердофазної екстракції Н-клинотиллолітом та наступного їх кількісного визначення спектрофотометричним методом. Визначено, в середньому, 96,7 % іонів кадмію. Оцінено ефективність методики кількісного визначення кадмію у крові без проведення мінералізації біологічного матеріалу із використанням твердофазної екстракції Н-клинотиллолітом. Методика є досить проста і швидка у виконанні, не потребує дорого вартісного обладнання. Для визначення вмісту іонів металу в елюатах можна використати будь-який фізико-хімічний метод аналізу.

Література

1. Стусь В.П. Взаємозв'язок захворювань сечостатевої системи із вмістом важких металів у біосубстратах / В.П. Стусь, Е.М. Білецька, І.О. Губар // Профілактична медицина. – 2010. – Т. 15, № 2. – С. 1–6.
2. Кадмій в організмі людини і тварин. Надходження до клітин і акумуляція / Г.Л. Антоняк, Л.П. Білецька, Н.О. Бабич [та ін.] // Біологічні Студії. – 2010. – Т. 4, № 2. – С. 127–140.
3. Klaassen C.D. Metallionein protection of cadmium toxiciti / C.D. Klaassen, J. Liu, S. Choudhuri // Toxicol. Lett. – 2008. – Vol. 46 – P. 48-52.
4. Калінін І.В. Вплив важких металів на спектральні характеристики металотіонеїнів печінки щурів / І.В. Калінін, Б.О. Цудзевич, Н.А. Петрук // Фізика живого. – 2010. – Т. 18, № 3. – С. 33–35
5. Joseph P. Mechanisms of cadmium carcinogenesis / P. Joseph // Toxicol Appl Pharmacol. – 2009. – Vol. 27. – P. 147-151.
6. 50Determination of Blood Levels of Cadmium and Zinc in humans from Zaria, Nigeria / A. Musa, M. Garba, I.A. Yakasai [et al.] // New Clues in Sciences. – 2011. – № 3. – P. 49-54.
7. Стрелова О.Ю. Оценка эффективности методов изолирования токсических веществ из крови / О.Ю. Стрелова, Н.А. Чувина // Судебно-медицинская экспертиза. – 2008. – № 3. – С. 22-24.
8. Чернова С.П. Использование некоторых азореагентов при определении содержания ионов Pb (II), Cd (II), Hg (II) / С.П. Чернова, Л.В. Трубачева // Химия. – 2006. – № 8. – С. 223–230.
9. Калитовська М.Б. Дослідження твердофазної екстракції іонів кадмію та свинцю із плазми з використанням Н-клинотилоліту / М.Б. Калитовська, І.Й. Галькевич // Фармацевтичний часопис. – 2011. – № 4. – С. 104–109.
10. Калитовська М.Б. Фотометричне визначення Кадмію в крові з використанням сорбційного концентрування на кислотномодифікованому клинотилоліті / М.Б. Калитовська, І.Й. Галькевич // Методи та об'єкти хімічного аналізу. – 2009. – Т. 4, № 1. – С. 34–37.

М.Б. Калытовская

Оценка эффективности определения кадмия в крови без проведения минерализации биологического материала

Львовский национальный медицинский университет

имени Данила Галицкого, г. Львов

Введение. Быстрая диагностика отравления кадмием является важной задачей, которая дает возможность свести к минимуму негативное влияние этого токсиканта на организм человека.

Цель. Оценить эффективность определения кадмия в крови без проведения минерализации биологического материала.

Методы. Изучались образцы крови, содержащие ионы кадмия, после проведения их минерализации и без минерализации. Твердофазную экстракцию ионов кадмия проводили с использованием Н-клинотилолита. Количественное определение содержания кадмия в образцах крови осуществляли спектрофотометрическим методом по реакции с сульфарсазеном.

Результаты. В крови определено 88,6% кадмия после проведения минерализации биологических образцов. После изолирования ионов металла в комплексе

с белками, определены 96,7% кадмия в крови. Приведены преимущества данной методики определения кадмия в крови без проведения минерализации биологического материала.

Ключевые слова: кровь, кадмий, минерализация, твердофазная экстракция.

M.B. Kalytovska

Evaluation of cadmium determination in blood without mineralization of biological material

Danylo Halytsky Lviv National Medical University

Introduction. Rapid diagnosis of cadmium poisoning is an important task, which makes it possible to minimize the negative impact of toxicants on humans.

Aim. Evaluate the effectiveness of cadmium levels determination in blood without mineralization of biological material.

Methods. We studied blood samples containing cadmium ions, after their mineralization and not mineralization. Solid phase extraction of cadmium ions was performed using H-clinoptilolite. Quantitative determination of cadmium in the blood samples was performed spectrophotometric method for the reaction of sulfarsazene.

Results. The blood identified 88.6% of cadmium after mineralization biological samples. After isolation of metal ions in the complex of proteins identified 96.7% of cadmium in the blood. An advantage of this technique determination of cadmium in the blood without mineralization biological material.

Key words: blood, cadmium, salinity, solid phase extraction.

Відомості про автора:

Калитовська Мирослава Богданівна - кандидат фармацевтичних наук, асистент кафедри токсикологічної та аналітичної хімії. адреса: 79010, м. Львів, вул. Пекарська,69, ЛНМУ ім. Данила Галицького, кафедра токсикологічної та аналітичної хімії.

УДК 615.322:633.15:581.43:581.192

© КОЛЕКТИВ АВТОРІВ, 2016

У.В.Карпюк, В.С.Кисличенко, І.С.Чолак, О.І.Ємельянова, З.Х.Абудейх

КОРЕНІ КУКУРУДЗИ ЗВИЧАЙНОЇ: АСПЕКТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ПОЛІФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК ТА МІКРОСКОПІЧНИХ ОЗНАК СИРОВИНИ

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ,

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Вступ. На сьогоднішній день стоїть питання про впровадження нових кровоспинних лікарських засобів. Застосування поліфенольних сполук є дуже перспективним для фармації, адже вони мають здатність зупиняти кровотечу.

Мета. Встановлення наявності деяких груп поліфенольних сполук в коренях кукурудзи звичайної, вивчення їх якісного складу, кількісного вмісту дубильних речовин та дослідження мікроскопічних ознак коренів кукурудзи.

Матеріали і методи. Встановлення наявності деяких груп поліфенольних сполук в коренях кукурудзи звичайної за допомогою загальновідомих якісних реакцій; визначення якісного складу та кількісного вмісту дубильних речовин