

УДК 615.218.3:615.917

О. О. МАМІНА, Л. І. РИБАЛКА, А. М. ЛЕБЕДИН, Г. А. НІКУЛЬШИНА

Національний фармацевтичний університет

## ВИЗНАЧЕННЯ ХЛОРОПІРАМІНУ У БІОЛОГІЧНИХ РІДИНАХ МЕТОДОМ ЕКСТРАКЦІЙНОЇ ФОТОМЕТРІЇ

*В результаті проведених досліджень розроблено екстракційно-фотометричну методику аналізу хлоропіраміну гідрохлориду з використанням бромотимолового синього, що дає можливість визначити препарат у межах концентрацій 15,0-125,0 мкг/мл. Встановлено, що при ізолюванні хлоропіраміну з крові за розробленими методиками можна виділити  $35,5 \pm 4,51$  %, із сечі –  $53,8 \pm 3,88$  % речовини.*

*Ключові слова:* хлоропіраміну гідро хлорид; екстракційна фотометрія; біологічні рідини

### ВСТУП

Моніторинг лікарських речовин у біологічних рідинах при дослідженні їх фармакокінетики та фармакодинаміки, кількісне визначення лікарських речовин в екстрактах з біологічного матеріалу при проведенні хіміко-токсикологічних досліджень потребують розробки методів аналізу, які характеризуються високою чутливістю, селективністю, можливістю концентрувати речовину в органічній фазі, а також проводити часткове очищення від біогенних домішок. До таких методів належить метод екстракційної фотометрії, який дозволяє проводити кількісне визначення лікарських речовин в екстрактах з крові та сечі без врахування впливу фону співекстрактивних речовин [6, 7, 9].

Хлоропіраміну гідрохлорид є класичним антигістамінним препаратом першого покоління, що володіє вираженим антигістамінним і М-холінолітичним ефектами, який характеризується не лише фармакологічною дією, а й токсичними ефектами, при передозуванні та самолікуванні може спричиняти інтоксикацію організму [4, 8].

Хлоропіраміну гідрохлорид в даний час є одним з антигістамінних препаратів, які найбільше продаються в Україні. Це об'єктивно пов'язано з доведеною високою ефективністю, керованістю його клінічними ефектами, наявністю різних лікарських форм та невисокою вартістю [1].

Для кількісного аналізу хлоропіраміну гідрохлориду у лікарських формах та біологічних об'єктах розроблені спектральні (УФ-спектрофотометрія) та хроматографічні (високоєфективна рідинна та газорідинна хроматографія) методики [2, 3, 5], але на їх результати чинять значний вплив співекстрактивні ре-

човини, що призводить до завищених значень вмісту хлоропіраміну. Для усунення впливу біогенних домішок необхідно проводити ретельне очищення екстрактів, результатом чого є часткова втрата речовини, тому актуальною задачею є розробка екстракційно-фотометричної методики дослідження хлоропіраміну гідрохлориду у біологічних рідинах.

Метою роботи є розробка експресних та ефективних методик ізолювання хлоропіраміну гідрохлориду з крові та сечі, очищення від домішок та кількісного визначення методом екстракційної фотометрії.

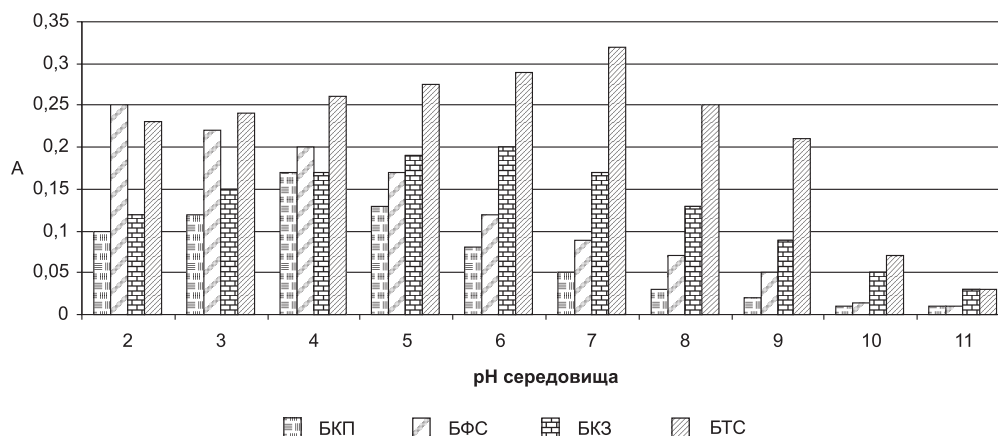
### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для вибору оптимальних умов екстракційно-фотометричного аналізу хлоропіраміну нами були застосовані сульфоталеїнові індикатори – бромотимоловий синій (БТС), бромфеноловий синій (БФС), бромкрезоловий пурпуровий (БКП), бромкрезоловий зелений (БКЗ), які широко використовуються у ХТА [6, 7, 9].

**Визначення впливу природи сульфоталеїнових індикаторів на утворення іонних асоціатів хлоропіраміну та індикаторів методом екстракційної фотометрії проводили за такою методикою:** 0,05 г хлоропіраміну гідрохлориду вносили в мірну колбу місткістю 1000,0 мл, розчиняли у воді та доводили об'єм розчину до позначки водою (стандартний розчин, концентрація 50 мкг/мл).

В ділільні лійки послідовно вносили по 4 мл буферного розчину з рН 1,8-11,0 [1-3]; 1 мл водного розчину хлоропіраміну гідрохлориду з концентрацією 50,0 мкг/мл, 5 мл 0,04 % розчину сульфоталеїнового індикатора (БТС, БКЗ, БФС та КП) та 10,0 мл хлороформу.

Суміш струшували протягом 2-3 хв, залишали на 3-5 хв для розділення фаз та відокремлювали хлороформний шар. Оптичну густину отриманого хло-



**Рис.** Залежність оптичної густини розчинів, які містили іонні асоціати хлоропіраміну із сульфопфталейновими індикаторами, від рН середовища.

роформного екстракту жовтого кольору вимірювали на спектрофотометрі СФ-46, кювета товщиною 10 мм;  $\lambda_{\max} = 400 \pm 2$  нм; розчин порівняння – хлороформ.

Встановлено, що іонні асоціати з хлоропіраміном утворюють індикатори БФС, БКП, БКЗ та БТС – у діапазоні рН – 3,0-7,0, але значення оптичної густини найбільше у БТС (при 7,0), що свідчить про високу чутливість фотометричного аналізу з БТС (рис.).

В результаті дослідження була розроблена **екстракційно-фотометрична методика визначення хлоропіраміну**: в ділянку лійку вносили 4 мл буферного розчину Бриттона-Робінсона (рН 7,0), 5 мл реактиву БТС; по 1 мл досліджуваних розчинів. Для одноразової екстракції іонних асоціатів застосовували 10,0 мл хлороформу. Суміш струшували протягом 2-3 хв, залишали на 3-5 хв для розділення фаз та відокремлювали хлороформний шар жовтого кольору. Оптичну густину отриманого хлороформного екстракту вимірювали на спектрофотометрі СФ-46, кювети товщиною 10 мм, при  $\lambda_{\max} = 410 \pm 2$  нм, розчин порівняння – хлороформ.

#### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

**Побудову градувального графіка для кількісного визначення хлоропіраміну гідрохлориду проводили за такою методикою:** 0,02 г досліджуваної речовини вносили в мірну колбу місткістю 100,0 мл, розчиняли у воді та доводили об'єм розчину до позначки розчинником (вихідний розчин, концентрація 200 мкг/мл). У ряд мірних колб місткістю 100,0 мл вносили із бюретки 7,5; 12,5; 17,5; 25,0; 37,5; 50,0 та 62,5 мл стандартного розчину і доводили об'єми розчинів до позначки водою (розчини 1-7 з концентраціями 15,0; 25,0; 35,0; 50,0; 75,0; 100,0 та 125,0 мкг/мл відповідно). Кількісне визначення хлоропіраміну гідрохлориду у розчинах виконували методом екстракційної фотометрії за вищенаведеною методикою.

За одержаними даними будували градувальний графік залежності оптичної густини розчину від вмісту хлоропіраміну в пробі та розраховували від-

повідне рівняння лінійної залежності оптичної густини розчинів від їх концентрації:  $A = 0,00692 C - 0,00007$ , де: А – оптична густина розчину хлоропіраміну гідрохлориду; С – концентрація розчину хлоропіраміну гідрохлориду, мкг/мл.

Встановлено, що підлягання світлопоглинання хлороформних розчинів хлоропіраміну закону Бугера – Ламберта – Бера спостерігається у межах концентрацій 15,0-125,0 мкг/мл, межа визначення – 15,0 мкг/мл, коефіцієнт кореляції – 0,9998. При проведенні екстракційно-фотометричного аналізу хлоропіраміну гідрохлориду у модельних розчинах встановлено, що за розробленою методикою у досліджуваних діапазонах концентрацій відносна невизначеність середнього результату не перевищувала  $\pm 2,16$  %.

При хіміко-токсикологічних дослідженнях використовували модельні суміші крові та сечі з хлоропіраміну гідрохлоридом. Для цього до 10 мл відповідної біологічної рідини додавали 500,0 мкг хлоропіраміну гідрохлориду при застосуванні водного розчину лікарської речовини, який вміщував 1000,0 мкг/мл, а також контрольні проби залишали на 1 год при кімнатній температурі.

**Методика ізолювання хлоропіраміну з крові та сечі.** До 10 мл модельної суміші крові або сечі з хлоропіраміну гідрохлоридом додавали 5 мл 10 % розчину кислоти трихлороцтової, перемішували та перевіряли за універсальним індикаторним папером рН суміші – 2,0-2,5, залишали на 2 год при постійному перемішуванні. Суміш центрифугували при 3000-5000 об/хв протягом 10 хв, зливали надсадкову рідину та тричі екстрагували домішки гексаном порціями по 5 мл. Гексанові фази не досліджували.

Водний шар підлугували 0,1 М розчином натрію гідроксиду до рН 9,0-10,0 і двічі екстрагували хлоропірамін-основу хлороформом порціями по 10 мл з наступним центрифугуванням при 3000-5000 об/хв протягом 10 хв. Хлороформні витяжки об'єднували та фільтрували через паперовий фільтр («червона стрічка») з 1,0 г натрію сульфату безводного, упарю-

Таблиця

**РЕЗУЛЬТАТИ ІЗОЛЮВАННЯ ХЛОРОПІРАМІНУ З КРОВІ ТА СЕЧІ (n = 5, P = 95 %)**

Біологічна рідина	Виділено хлоропіраміну, %	Метрологічні характеристики					
		$\bar{X}$	S <sup>2</sup>	S	S <sub>x</sub>	$\Delta\bar{x}$	$\bar{\epsilon}$
Кров	33,9-37,1	35,5	1,66	1,29	0,58	1,60	4,51
Сеча	51,7-55,9	53,8	2,82	1,68	0,75	2,08	3,88

вали на водяній бані до сухого залишку, який розчиняли 2,0-3,0 мл 0,1 М кислоти хлористоводневої.

Отриманий розчин упарювали до сухого залишку, який розчиняли у воді очищеній, кількісно переносили в мірну колбу місткістю 5,0 мл та доводили до мітки водою. Враховуючи те, що аналіз хлоропіраміну за розробленою екстракційно-фотометричною методикою характеризується можливістю дослідження у присутності біогенних домішок, додаткове ТШХ-очищення не проводили. Для кількісного визначення хлоропіраміну використовували розчин порівняння, отриманий з контрольного дослідження. Результати наведені в таблиці.

За результатами досліджень встановлено, що при ізолюванні хлоропіраміну з крові за розробленими методиками можна виділити 35,5 ± 4,51 %, із сечі – 53,8 ± 3,88 % речовини.

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. Розроблено екстракційно-фотометричну методику аналізу хлоропіраміну з використанням бромтимолового синього, що дає можливість визначити препарат у межах концентрацій 15,0-125,0 мкг/мл.
2. В результаті проведених досліджень встановлено, що при ізолюванні хлоропіраміну з крові за розробленими методиками можна виділити 35,5 ± 4,51 %, із сечі – 53,8 ± 3,88 % речовини.

**ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ  
ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ**

1. Коряцька І. В. Сучасні підходи до лікування алергічних захворювань / І. В. Коряцька // Здоров'я України. – 2008. – № 3/1. – С. 60-61.
2. Лебедин А. М. Використання ВЕРХ-методу для ідентифікації та кількісного визначення хлоропіраміну / А. М. Лебедин, О. О. Мамаїна, Н. Ю. Бевз // Укр. журн. клін. та лабораторної медицини. – 2011. – Т. 6, № 3 – С. 132-134.
3. Лебедин А. М. Вибір оптимальних умов аналізу хлоропіраміну методом УФ-спектрофотометрії, придатних для хіміко-токсикологічних досліджень / А. М. Лебедин, О. О. Мамаїна, Л. І. Боряк // Зб. наукових 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. Пат. на корисну модель № 89401 Україна, МПК G 01 N 30/02. Спосіб визначення хлоропіраміну гідрохлориду методом газорідинної хроматографії / А. М. Лебедин, О. О. Мамаїна, Є. Л. Бондаренко. – № u 2013 09835. Заявл.: 08.08.2013. Опубл.: 25.04.2014. – Бюл. № 8. – 6 с.
6. Скринінг сечі на наявність речовин основного характеру із застосуванням тимолового синього / В. В. Болотов, П. О. Безуглий, О. О. Мамаїна, Н. В. Гарная // Фармац. журн. – 2010. – № 2. – С. 105-109.
7. Bezugly P. O. Use of sulfophthalein dyes for screening of poisons of basic character / P. O. Bezugly, V. V. Bolotov, O. O. Mamina, G. O. Buryan // Nauka and studia. – 2009. – Vol. 21, № 9. – P. 89-97.
8. Clarke E. J. C. Isolation and Identification of Drugs in Pharmaceuticals, Body Fluids and Postmortem Material London: The Pharm.Press, electronic version, 2011.
9. Zeyner A. Spectrophotometric Determination of doxazosin mesylate in tablets by ion-pair and charge-transfer complexation reactions / A. Zeyner, B. Asli // J. of AOAC Internation. – 2009. – Vol. 92, № 1. – P. 131-137.

**УДК 615.218.3:615.917****Е. А. Мамина, Л. И. Рыбалко, А. Н. Лебедин, Г. А. Никульшина****ОПРЕДЕЛЕНИЕ ХЛОРОПИРАМИНА В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ МЕТОДОМ ЭКСТРАКЦИОННОЙ ФОТОМЕТРИИ**

В результате проведенных исследований разработана экстракционно-фотометрическая методика анализа хлоропирамина гидрохлорида с использованием бромтимолового синего, которая дает возможность определить препарат в пределах концентраций 15,0-125,0 мкг/мл. Установлено, что при изолировании хлоропирамина из крови по разработанным методикам можно выделить  $39,4 \pm 5,4$  %, а из мочи –  $53,8 \pm 3,88$  % вещества.

**Ключевые слова:** хлоропирамина гидрохлорид; экстракционная фотометрия; биологические жидкости

**UDC 615.218.3:615.917****О. О. Mamina, L. I. Rybalko, A. M. Lebedin, G. A. Nikulshina****DETERMINATION OF CHLOROPYRAMINE IN BIOLOGICAL FLUIDS BY EXTRACTION PHOTOMETRY**

As a result of researches the extraction-photometric method of analysis Chloropyramine hydrochloride using bromothymol blue has been suggested, which makes it possible to determine the concentration of the drug within 15,0-125,0 mg/ml. It was found that the isolation of blood Chloropyramine developed techniques possible to allocate  $39,4 \pm 5,4$  %, and urine –  $53,8 \pm 3,88$  % substances.

**Key words:** Chloropyramine hydrochloride; extraction photometry; biological fluids

Адреса для листування:  
61168, м. Харків, вул. Блюхера, 4.  
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції  
30.05.2015 р.