

УДК 615.218.3:615.917:547.821:54.061/062

<https://doi.org/10.24959/ubphj.18.159>

О. О. МАМІНА, В. І. КАБАЧНИЙ, С. Г. НИКОЛАЙЧУК, Ю. В. КОВТЮХ

Національний фармацевтичний університет

ВИЗНАЧЕННЯ ХЛОРОПИРАМІНУ У БІОЛОГІЧНОМУ МАТЕРІАЛІ МЕТОДОМ ПОХІДНОЇ СПЕКТРОФОТОМЕТРІЇ

Актуальність. Дослідження біологічних об'єктів у судово-токсикологічних відділеннях бюро судово-медичної експертизи проводяться при відсутності контрольних дослідів. Наявність домішок у витяжках з біологічного матеріалу знижує об'єктивність отриманих результатів при кількісному визначенні речовин методом спектрофотометрії в УФ-області спектра. Застосування методів очистки (хроматографії в тонкому шарі сорбенту (ТШХ), екстракції різними органічними розчинниками) не дозволяє повністю виділити співекстрактивні речовини з витяжок. Вибір методу похідної спектрофотометрії для ідентифікації та кількісного визначення лікарських препаратів у хіміко-токсикологічному аналізі надає можливість усунути вплив фону домішок.

Метою дослідження є розробка методики визначення хлоропіраміну у біологічному матеріалі із застосуванням похідної спектрофотометрії, придатної для судово-токсикологічної експертизи.

Матеріали та методи. Для дослідження використовували розчини хлоропіраміну гідрохлориду у воді, етанолі, 0,1 М розчині кислоти хлоридної, 0,01 М розчині натрію гідроксиду, а також модельні суміші тканини печінки тваринного походження та препарату. Хлоропірамін ізолювали з біологічного матеріалу водою, підкисленою кислотою оксалатною, очистку виконували екстракцією домішок гексаном при рН 2,0 та ТШХ-методом. Вміст речовини визначали методами спектрофотометрії в УФ-області спектра та похідної спектрофотометрії.

Результати та їх обговорення. Проведено ідентифікацію та кількісне визначення хлоропіраміну гідрохлориду в розчинах у воді, етанолі, 0,1 М розчині кислоти хлоридної, 0,01 М розчині натрію гідроксиду при застосуванні другої похідної спектрів світлопоглинання, яку розраховували за допомогою поліноміальної апроксимації методом найменших квадратів. Розрахунок проводили за допомогою диференціальних цифрових фільтрів. При аналізі препарату у біологічному матеріалі встановлено, що спектральні характеристики речовини та біогенних домішок апроксимувалися поліномами різних ступенів, що дозволяло усунути вплив фону домішок на результати дослідження. Проведено порівняльну оцінку методів похідної спектрофотометрії та спектрофотометрії в УФ-області спектра для кількісного визначення хлоропіраміну у витяжках з біологічного матеріалу. Встановлено, що метод похідної спектрофотометрії надає можливість отримувати надійні та об'єктивні результати в умовах відсутності контрольних проб.

Висновки. За результатами досліджень розроблено методику ідентифікації та кількісного визначення хлоропіраміну у біологічному матеріалі із застосуванням похідної спектрофотометрії, придатну для судово-токсикологічної експертизи. Показана можливість використання методу похідної спектрофотометрії для корекції впливу співекстрактивних речовин на результати аналізу біологічних об'єктів. При порівнянні методів похідної спектрофотометрії та спектрофотометрії в УФ-області спектра встановлено, що обидві методики не мають значних розбіжностей, тому є практично рівноцінними. В умовах відсутності контрольних проб та впливу фону домішок метод похідної спектрофотометрії надає можливість отримувати надійні та об'єктивні результати.

Ключові слова: хлоропіраміну гідрохлорид; біологічний матеріал; метод похідної спектрофотометрії

O. O. Mamina, V. I. Kabachny, S. G. Nikolaychuk, Yu. V. Kovtyuh

Determination of chloropyramine in biological material by method of derivative spectrophotometry

Topicality. Studies of biological objects in the forensic toxicology departments of the forensic medical examination bureau are conducted in the absence of control experiments. The presence of impurities in the extracts from the biological material reduces the objectivity of the results obtained in the quantitative determination of substances by spectrophotometry in the UV region of the spectrum. The use of purification methods (chromatography in a thin layer of sorbent (TLC), extraction with various organic solvents) does not allow to completely isolate coextractive substances from the extracts. The choice of the method of derivative spectrophotometry for the identification and quantitative determination of drugs in the chemical-toxicological analysis makes it possible to eliminate the influence of the impurity background.

Aim. To study the elaboration of method for the determination of chloropyramine in biological material using a derivative spectrophotometry suitable for forensic toxicological examination.

Materials and methods. For the study, solutions of chloropyramine hydrochloride in water, ethanol, 0.1 M solution of chloride acid, 0.01 M sodium hydroxide solution, as well as model mixtures of liver tissue of animal origin and the preparation were used. Chloropyramine was isolated from the biological material with water acidified with oxalic acid, purification was carried out by extraction of impurities with hexane at pH 2.0 and TLC-method. The content of the substance was determined by spectrophotometry in the UV region of the spectrum and the derivative of spectrophotometry.

Results and discussion. Identification and quantitative determination of chloropyramine hydrochloride in solutions in water, ethanol, 0.1 M solution of chloride acid, 0.01 M sodium hydroxide solution was carried out using the second derivative of the light absorption spectra, which was calculated by polynomial approximation method of least squares. Calculations were carried out using differential digital filters. When analyzing the preparation in a biological material, it was established that the spectral characteristics of the substance and biogenic impurities are approximated by polynomials of various degrees, which made it possible to eliminate the influence of the impurity background on the results of the study. A comparative evaluation of the methods of derivative spectrophotometry and spectrophotometry in the UV region of the spectrum for the quantitative determination of chloropyramine in extracts from biological material was carried out. It is established that the method of derivative spectrophotometry makes it possible to obtain reliable and objective results in the absence of control samples.

Conclusions. Based on the results of the research, a method for the identification and quantitative determination of chloropyramine in a biological material was developed using a derivative spectrophotometry suitable for forensic toxicological examination. The possibility of using the method of derivative spectrophotometry to correct the effect of coextractive substances on the results of biological objects analysis was shown. When comparing the methods of derivative spectrophotometry and spectrophotometry in the UV region of the spectrum, it was established that both methods didn't not have significant discrepancies, therefore practically equivalent. In the absence of control samples and impurity background influence, the method of derivative spectrophotometry made it possible to obtain reliable and objective results.

Key words: chloropyramine hydrochloride; biological material; the method of derivative spectrophotometry

Е. А. Мамина, В. И. Кабачный, С. Г. Николайчук, Ю. В. Ковтюх
Определение хлоропирамина в биологическом материале методом производной спектрофотометрии

Актуальность. Исследования биологических объектов в судебно-токсикологических отделениях бюро судебно-медицинской экспертизы проводятся при отсутствии контрольных опытов. Наличие примесей в вытяжках из биологического материала снижает объективность полученных результатов при количественном определении веществ методом спектрофотометрии в УФ-области спектра. Использование методов очистки (хроматографии в тонком слое сорбента (ТСХ), экстракции различными органическими растворителями) не позволяет полностью выделить соэкстрактивные вещества из вытяжек. Выбор метода производной спектрофотометрии для идентификации и количественного определения лекарственных препаратов в химико-токсикологическом анализе дает возможность устранить влияние фона примесей.

Целью исследования является разработка методики определения хлоропирамина в биологическом материале с использованием производной спектрофотометрии, пригодной для судебно-токсикологической экспертизы.

Материалы и методы. Для исследования использовали растворы хлоропирамина гидрохлорида в воде, этаноле, 0,1 М растворе кислоты хлоридной, 0,01 М растворе натрия гидроксида, а также модельные смеси ткани печени животного происхождения и препарата. Хлоропирамин изолировали из биологического материала водой, подкисленной кислотой щавелевой, очистку проводили экстракцией примесей гексаном при pH 2,0 и ТСХ-методом. Содержание вещества определяли методами спектрофотометрии в УФ-области спектра и производной спектрофотометрии.

Результаты и их обсуждение. Проведено идентификацию и количественное определение хлоропирамина гидрохлорида в растворах в воде, этаноле, 0,1 М растворе кислоты хлоридной, 0,01 М растворе натрия гидроксида при использовании второй производной спектров поглощения, которую рассчитывали с помощью полиномиальной аппроксимации методом наименьших квадратов. Расчеты проводили с помощью дифференцирующих цифровых фильтров. При анализе препарата в биологическом материале установлено, что спектральные характеристики вещества и биогенных примесей аппроксимируются полиномами различных степеней, что позволило устранить влияние фона примесей на результаты исследования. Проведено сравнительную оценку методов производной спектрофотометрии и спектрофотометрии в УФ-области спектра для количественного определения хлоропирамина в вытяжках из биологического материала. Установлено, что метод производной спектрофотометрии дает возможность получить надежные и объективные результаты в условиях отсутствия контрольных проб.

Выводы. По результатам исследований разработано методику идентификации и количественного определения хлоропирамина в биологическом материале с использованием производной спектрофотометрии, пригодной для судебно-токсикологической экспертизы. Показана возможность использования метода производной спектрофотометрии для коррекции влияния соэкстрактивных веществ на результаты анализа биологических объектов. При сравнении методов производной спектрофотометрии и спектрофотометрии в УФ-области спектра установлено, что обе методики не имеют значительных расхождений, поэтому практически равноценные. В условиях отсутствия контрольных проб и влияния фона примесей метод производной спектрофотометрии дает возможность получать надежные и объективные результаты.

Ключевые слова: хлоропирамина гидрохлорид; биологический материал; метод производной спектрофотометрии

ВСТУП

Метод похідної спектрофотометрії в УФ-області спектра широко застосовується у фармацевтичному та хіміко-токсикологічному аналізі (ХТА) для ідентифікації та кількісного визначення препаратів у сумішах ліків [1, 2], лікарських формах [3, 4], а також у біологічних об'єктах [5, 6]. У сучасних дослідженнях лікарських препаратів метод похідної спектрофотометрії використовується у сполученні з хроматографічними методами [7, 8].

Дослідження біологічних об'єктів у судово-токсикологічних відділеннях бюро судово-медичної експертизи проводяться при відсутності контрольних дослідів. Наявність домішок у витяжках з біологічного

матеріалу знижує об'єктивність отриманих результатів при кількісному визначенні речовин методом спектрофотометрії в УФ-області спектра. Застосування методів очистки (хроматографії в тонкому шарі сорбенту (ТШХ), екстракції різними органічними розчинниками) не дозволяє повністю виділити співекстрактивні речовини з витяжок. Вибір методу похідної спектрофотометрії для ідентифікації та кількісного визначення лікарських препаратів у ХТА надає можливість усунути вплив фону домішок при аналізі біологічних об'єктів.

Хлоропіраміну гідрохлорид (супрастин), один з найбільш широко використовуваних антигістамінних препаратів першого покоління, представляє інтерес в хіміко-токсикологічному відношенні.

Згідно з даними FDA (U.S. Food and Drug Administration) Research Report були проведені FactMed онлайн-дослідження пацієнтів, вчених і лікарів щодо оцінки профілю ризику різних лікарських препаратів у період з січня 2004 року по жовтень 2012 року. Результати статистичного аналізу відгуків споживачів супрастину свідчили про отруєння супрастином (один випадок) та негативний вплив на стан здоров'я (43 випадки). Отримані дані вказують на те, що супрастин може викликати важку інтоксикацію, але при правильному прийомі і врахуванні побічних ефектів може активно застосовуватися в лікувальній практиці [9]. Для кількісного визначення хлоропіраміну у біологічних об'єктах були розроблені спектрофотометричні методики аналізу в УФ-області спектра, в яких для отримання об'єктивних результатів були застосовані контрольні досліди, але ці методи мали певні обмеження при використанні в судово-токсикологічній експертизі [10].

Метою дослідження є розробка методики визначення хлоропіраміну у біологічному матеріалі із застосуванням похідної спектрофотометрії, придатної для судово-токсикологічної експертизи.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для вибору оптимальних умов аналізу методом похідної спектрофотометрії УФ-спектри світлопоглинання досліджуваних розчинів хлоропіраміну гідрохлориду знімали на спектрофотометрі СФ-46 (НВО «ЛОМО») у діапазоні довжин хвиль 200-350 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм, а як розчин порівняння використовували відповідні розчинники.

Хлоропіраміну гідрохлорид виділяли з таблеток «Супрастин®» (20 шт) по 25 мг (Егіс, Фармацевтичний завод, ВАР, Угорщина) наступним чином: 10 таблеток переносили до порцелянової ступки та розтирали до однорідного стану, потім додавали 50 мл етанолу та ретельно перемішували. Отриману суміш фільтрували через паперовий фільтр у порцелянову чашку та випаровували на водяній бані при температурі, не вищій ніж 40 °С до видалення органічного розчинника; залишок висушували. Чистоту субстанції перевірено методами ТШХ та УФ-спектроскопії і встановлено відповідність якості щодо вимог фармакопейної статті [11].

Реактиви відповідали кваліфікації «ЧДА»: етанол 96 % (Sigma-Aldrich, USA), натрію гідроксид, кислота хлоридна (37 %) (Chimmed, Москва, Росія).

Методика приготування стандартних та модельних розчинів хлоропіраміну гідрохлориду: 0,0100 г досліджуваної речовини вносили в мірну колбу місткістю 100,0 мл, розчиняли у відповідному розчиннику (воді, етанолі, 0,1 М розчині кислоти хлоридної та 0,01 М розчині натрію гідроксиду) та доводили об'єм розчину до позначки відповідним розчинником (стандартний розчин 1, концентрація 100 мкг/мл). У мірну колбу місткістю 50,0 мл вносили з бюретки

10,0 мл стандартного розчину 1 і доводили об'єм розчину до позначки відповідним розчинником (стандартний розчин 2, концентрація 20,0 мкг/мл). У мірні колби місткістю 100,0 мл вносили із бюретки по 20,0 мл стандартного розчину 1 у 0,1 М розчині кислоти хлоридної і доводили об'єм розчину до позначки 0,1 М розчином кислоти хлоридної (модельні розчини з концентрацією 20,0 мкг/мл).

Для розрахунку похідної спектрів світлопоглинання вимірювали різницю значень поглинання при двох довжинах хвиль, розділених інтервалом $\Delta\lambda = \lambda_2 - \lambda_1$. Різниця в значеннях оптичної густини при двох близьких довжинах хвиль, віднесена до значення інтервалу між ними $\Delta A / \Delta\lambda = f(\lambda)$ як функція довжини хвилі, складала похідну спектра поглинання – $dA/d\lambda = f(\lambda)$. Значення похідної прямо пропорційні крутизні нахилу кривої спектра світлопоглинання. Точки перетину похідної з осями довжини хвиль відповідають екстремумам вихідної кривої, тобто максимумам або мінімумам.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Порівняльна оцінка першої, другої та четвертої похідних УФ-спектра світлопоглинання свідчила, що до недоліків першої похідної відноситься ускладнення форми кривої, тобто окремому максимуму поглинання відповідають позитивний та негативний максимуми на похідній. Друга похідна за загальною формою значно ближча до вихідного спектра: максимум поглинання на вихідному спектрі відповідає максимуму на другій похідній, узятий із оберненим знаком. Друга похідна дозволяє визначити дві смуги поглинання, розділені меншим інтервалом (рис. 1).

Згідно з даними літератури четверта похідна немає застосування в аналізі токсичних речовин, що обумовлено зростанням випадкової похибки при підвищенні порядку похідної. Таким чином, у хіміко-токсикологічних дослідженнях широко використовується друга похідна спектра [6].

Другу похідну спектрів поглинання ($d^2A/d\lambda^2$) розраховували за допомогою поліноміальної апроксимації методом найменших квадратів. Розрахунок проводили за допомогою диференційних цифрових фільтрів.

Для розрахунку другої похідної для довжини хвилі λ_3 вимірювали значення оптичної густини розчину (A) при довжинах хвиль $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3, \lambda_4, \lambda_5$ з інтервалом 4 нм. Отримані значення помножували на коефіцієнти поліному для відповідної кількості точок. Алгебраїчна сума похідної надавала значення для середньої точки, тобто розрахунок другої похідної проводили за формулою: $P'' = 2A_1 - A_2 - 2A_3 - A_4 + 2A_5$.

Ідентифікацію хлоропіраміну гідрохлориду проводили у розчинниках – воді, етанолі, 0,1 М розчині кислоти хлоридної, 0,01 М розчині натрію гідроксиду за наявністю максимумів, мінімумів та точок перетину похідної з осями довжин хвиль, які більш чітко виявлялись на другій похідній спектра порів-

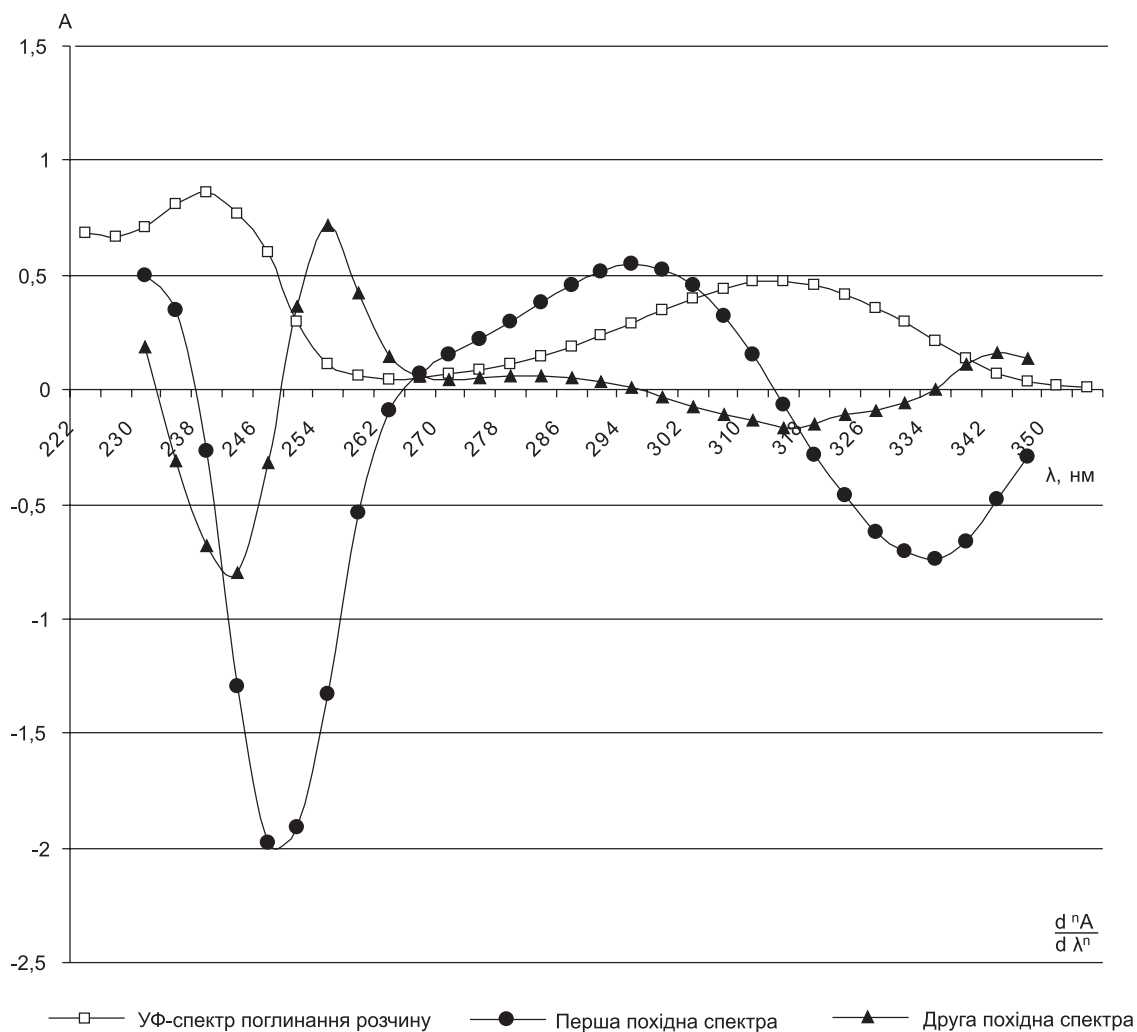


Рис. 1. УФ-спектр світлопоглинання розчину хлоропіраміну гідрохлориду (концентрація 20,0 мкг/мл) у 0,1 М розчині кислоти хлоридної та похідні спектра

няно з вихідним УФ-спектром (табл. 1, рис. 2), що давало можливість отримувати надійні результати.

Для кількісного визначення хлоропіраміну гідрохлориду методом похідної спектрофотометрії оптичну густина стандартного та модельних розчинів вимірювали при застосуванні спектрофотометра СФ-46, кювети товщиною 10 мм, при довжинах хвиль – 298, 306, 314, 326 та 338 ± 2 нм, розчин порівняння – 0,1 М розчин кислоти хлоридної. Проведено п'ять ви-

мірювань для кожної концентрації хлоропіраміну гідрохлориду у розчині.

Одночасно була визначена друга похідна при таких же довжинах хвиль УФ-спектра стандартного розчину хлоропіраміну гідрохлориду в 0,1 М розчині кислоти хлоридної з концентрацією 20,0 мкг/мл. Результати проведених досліджень наведені в табл. 2.

Розрахунок кількості хлоропіраміну гідрохлориду проводили за формулою:

$$C_x = P''_x \cdot C_{ст} / P''_{ст},$$

де: C_x – концентрація речовини у модельних розчинах (мкг/мл); $C_{ст}$ – концентрація стандартного розчину речовини (20,0 мкг/мл); P''_x – друга похідна УФ-спектра світлопоглинання речовини у модельних розчинах; $P''_{ст}$ – друга похідна УФ-спектра світлопоглинання стандартного розчину хлоропіраміну гідрохлориду.

Кількісний аналіз хлоропіраміну за розробленою методикою похідної спектрофотометрії дозволяє отри-

Таблиця 1

РЕЗУЛЬТАТИ ІДЕНТИФІКАЦІЇ ХЛОРОПІРАМІНУ ГІДРОХЛОРИДУ ЗА ДОПОМОГОЮ ДРУГОЇ ПОХІДНОЇ УФ-СПЕКТРА (n = 5)

Розчинники	λ_{\max} , нм	λ_{\min} , нм	λ (перетину осі абсцис), нм
0,1 М НСІ	254, 342	250, 314	232, 248, 312, 332
0,01 М NaOH	266, 234	250, 314	236, 260, 296, 328
Вода	262, 230	246, 310	236, 252, 292, 320
Етанол	262, 334	246, 310	236, 256, 292, 324

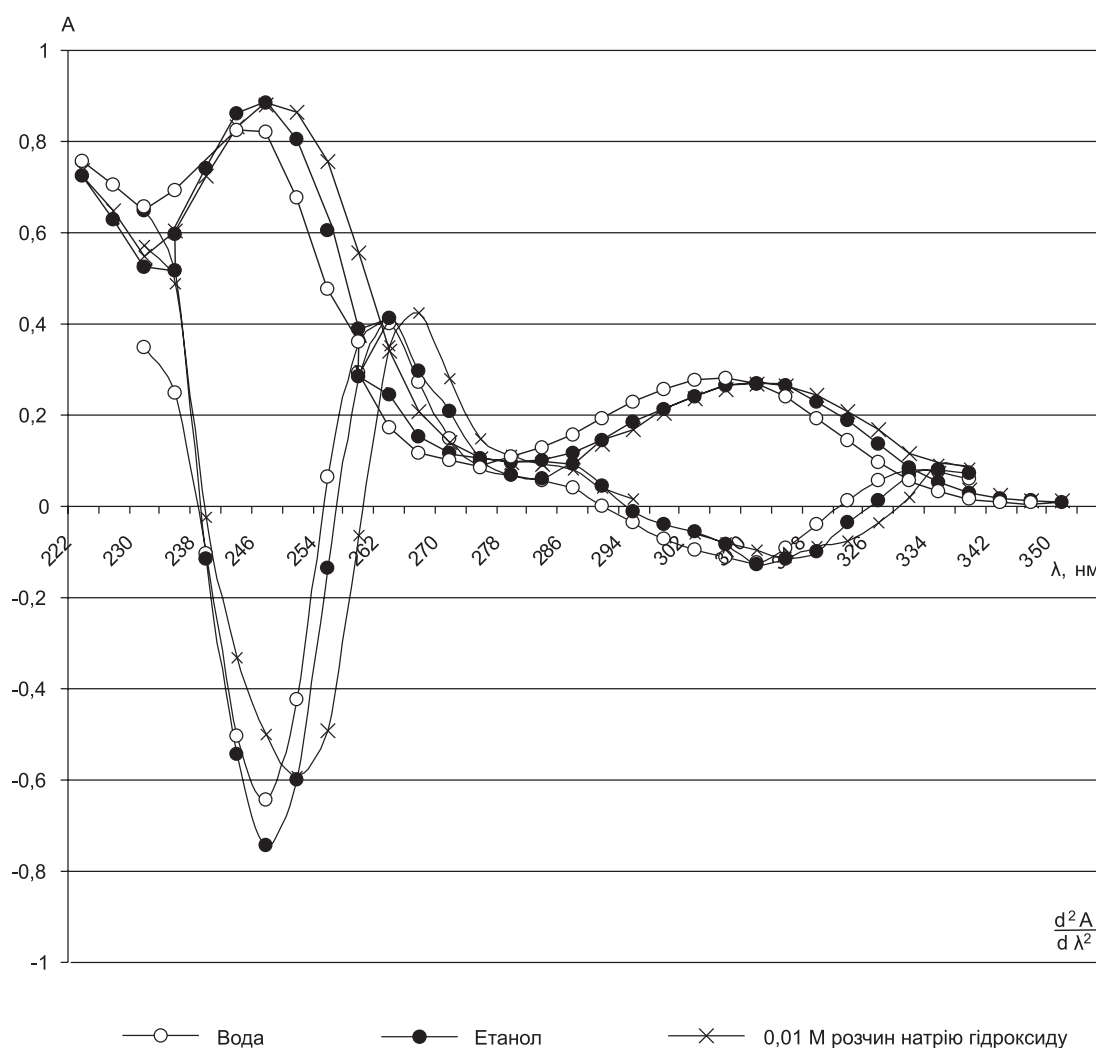


Рис. 2. УФ-спектри світлопоглинання розчину хлоропіраміну гідрохлориду (концентрація 20,0 мг/мл) та другі похідні спектрів розчинів у розчинниках: воді; етанолі; 0,01 М розчині натрію гідроксиду

Таблиця 2

РЕЗУЛЬТАТИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ХЛОРОПІРАМІНУ ГІДРОХЛОРИДУ В МОДЕЛЬНИХ РОЗЧИНАХ ЗА ДОПОМОГОЮ ПОХІДНОЇ СПЕКТРОФОТОМЕТРІЇ (n = 5, P = 95 %)

Довжина хвилі, λ, нм	Оптична густина стандартного розчину, A _{ст}	Оптична густина модельних розчинів хлоропіраміну гідрохлориду				
		A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅
298	0,289	0,288	0,287	0,292	0,289	0,288
306	0,440	0,442	0,438	0,436	0,438	0,444
314	0,473	0,474	0,470	0,471	0,473	0,475
326	0,358	0,360	0,356	0,355	0,359	0,364
338	0,133	0,130	0,131	0,135	0,132	0,132
Друга похідна спектра, P _x ^{''}	P _{ст} ^{''} = -0,900	P ₁ ^{''} = -0,914	P ₂ ^{''} = -0,898	P ₃ ^{''} = -0,879	P ₄ ^{''} = -0,901	P ₅ ^{''} = -0,918
Концентрація речовини в модельних розчинах, C _м , мг/мл		C ₁ = 20,31	C ₂ = 19,96	C ₃ = 19,53	C ₄ = 20,02	C ₅ = 20,40
Виділено речовини, C _в , %		101,55	99,80	97,65	100,1	102,0
Метрологічні характеристики, % (n = 5, P = 95 %)						
\bar{X}	S ²	S	S \bar{x}	$\Delta\bar{x}$	RSD \bar{x}	$\bar{\varepsilon}$
100,22	2,94	1,71	0,76	2,13	0,78	2,12
$\bar{X} \pm \Delta\bar{x} = 100,22 \pm 2,13 \%$						

мувати надійні та відтворювані результати при наявності фону домішок, але цей метод характеризується чутливістю до співекстракційних речовин, тому рекомендовано використовувати його після відповідної очистки.

Для застосування методу похідної спектрофотометрії в аналізі біологічних об'єктів необхідно, щоб спектральні характеристики речовин та домішок були апроксимовані поліномами різних ступенів, причому ступінь поліному для спектральної кривої речовини повинен бути вище за ступінь поліному для спектральної кривої біогенних домішок.

У результаті досліджень встановлено, що оптимальним було використання ортогональних функцій для визначення досліджуваних речовин на фоні лінійного поглинання домішок або розчинника. Так, в області максимумів поглинання токсичних речовин спостерігалась лінійна залежність світлопоглинання

фону домішок від довжини хвилі при застосуванні апроксимації спектральних характеристик співекстрактивних сполук – поліномом першого ступеня ($A_{\text{фон}} = v_0 + v_1x$), а речовин – поліномом другого ступеня ($A_{\text{речовина}} = a_0 + a_1x + a_2x^2$), де a_0, a_1, a_2 – коефіцієнти поліному, який описує УФ-спектр речовини; v_0, v_1 – коефіцієнти поліному, який описує УФ-спектр фону; x – порядковий номер довжини хвилі.

Кількісне визначення хлоропіраміну проводили ізольованням водою, підкисленою кислотою оксалатною, із модельної суміші тканини печінки тваринного походження [12]. Екстракційну очистку екстрактів проводили гексаном при рН 2,0, ТШХ-очистку екстрактів виконували в умовах - система рухомих розчинників – етилацетат-метанол-25 % розчин аміаку (85 : 10 : 5), хроматографічні пластинки Сорбфил – ПТСХ – АФ – А, $Rf_{\text{хлоропіраміну}} = 0,60-0,63$. Проявники – УФ-світло та реактив Драгендорфа в модифікації за Мунье. Кон-

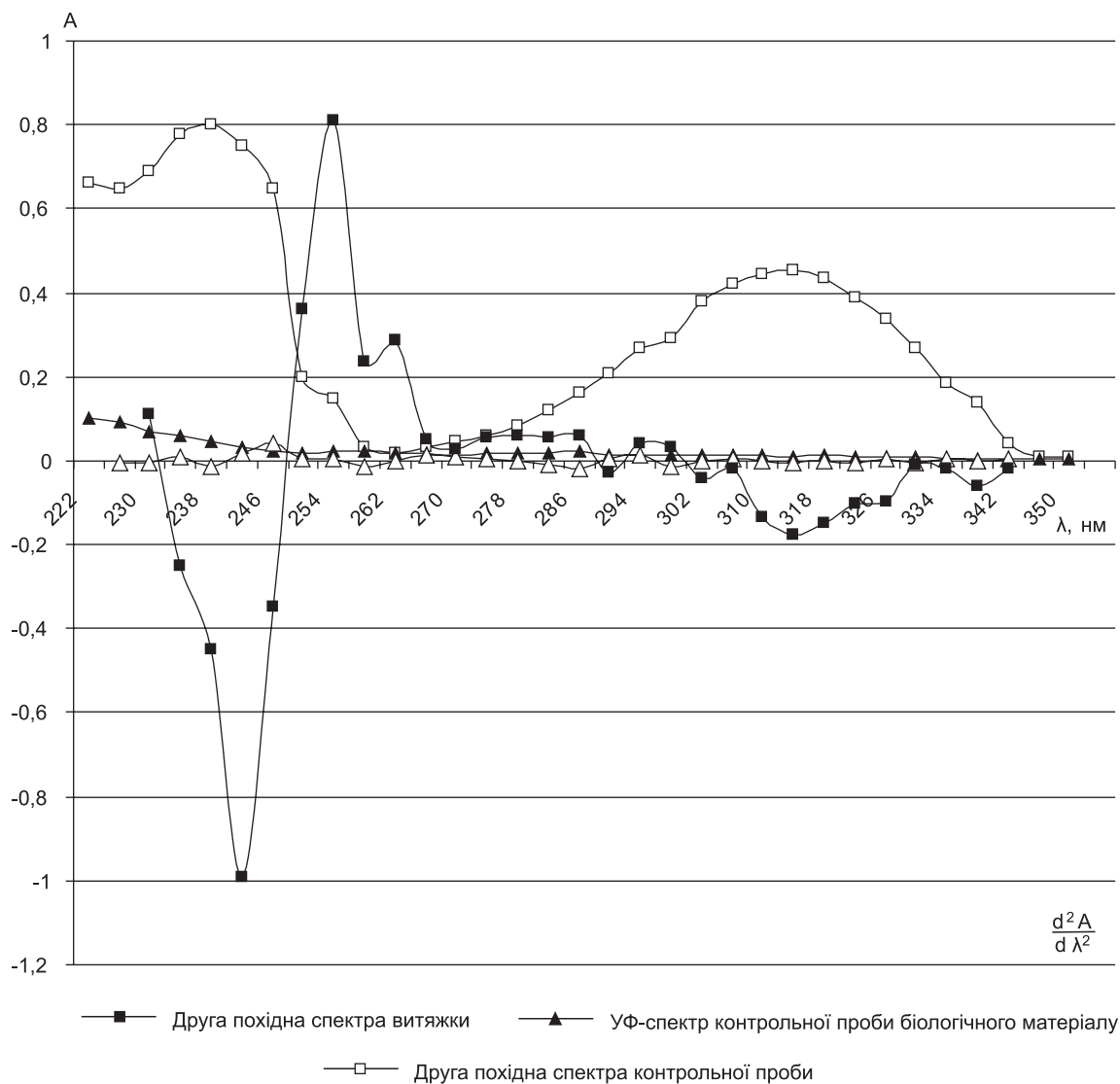


Рис. 3. УФ-спектри світлопоглинання хлоропіраміну у витяжках з тканини печінки і контрольної проби та другі похідні спектрів

РЕЗУЛЬТАТИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ХЛОРОПІРАМІНУ У ВИТЯЖКАХ З ТКАНИНИ ПЕЧІНКИ МЕТОДАМИ СПЕКТРОФОТОМЕТРІЇ В УФ-ОБЛАСТІ СПЕКТРА ТА ПОХІДНОЇ СПЕКТРОФОТОМЕТРІЇ (n = 5, P = 95 %)

Виділені речовини, %	Метрологічні характеристики						
	\bar{X}	S ²	S	RSD \bar{x}	S \bar{x}	$\Delta\bar{x}$	$\bar{\epsilon}$
Похідна спектрофотометрія							
41,9-45,3	44,8	1,93	1,39	1,39	0,62	1,72	3,84
Спектрофотометрія в УФ-області спектра							
45,9-48,9	47,4	1,51	1,23	1,16	0,55	1,53	3,23

центрацію хлоропіраміну в розчині (С, мкг/мл) визначали методом спектрофотометрії в УФ-області спектра при $\lambda_{\text{max}} = 312 \pm 2$ нм, розчин порівняння – витяжка з контрольної проби – за допомогою градуального графіка або за відповідними рівняннями лінійної залежності оптичної густини та його концентрації – $A = -0,018 + 0,024 C$ [12].

Одночасно проводили кількісне визначення хлоропіраміну у витяжках методом похідної спектрофотометрії після очистки екстракцією гексаном та ТШХ-методом. Встановлено, що світлопоглинання витяжок з контрольного досліджуваного з тканини печінки апроксимувалося поліномами різних ступенів, при цьому ступінь поліному для спектральної кривої хлоропіраміну був вище за ступінь поліному для спектральної кривої домішок (рис. 3). Кількісне визначення хлоропіраміну в отриманих витяжках при застосуванні другої похідної УФ-спектра проводили при довжинах хвиль 298, 306, 314, 326 та 338 ± 2 нм методом стандарту. Результати досліджень наведені в табл. 3.

При порівнянні дисперсій за F-критерієм для похідної спектрофотометрії та спектрофотометрії в УФ-області спектра встановлено, що обидві методики не мають значних розбіжностей, тому є практич-

но рівноцінними. В умовах відсутності контрольних проб та впливу фону домішок метод похідної спектрофотометрії надає можливість отримувати надійні та об'єктивні результати.

ВИСНОВКИ

1. За результатами досліджень розроблено методику ідентифікації та кількісного визначення хлоропіраміну у біологічному матеріалі із застосуванням похідної спектрофотометрії, придатної для судово-токсикологічної експертизи.
2. Показано можливість використання методу похідної спектрофотометрії для корекції впливу співекстрактивних речовин на результати аналізу біологічних об'єктів.
3. При порівнянні дисперсій за F-критерієм для похідної спектрофотометрії та спектрофотометрії в УФ-області спектра встановлено, що обидві методики не мають значних розбіжностей, тому є практично рівноцінними. В умовах відсутності контрольних проб та впливу фону домішок метод похідної спектрофотометрії дає можливість отримувати надійні та об'єктивні результати.

Конфлікт інтересів: відсутній.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Attimarad, M. Simultaneous Determination of Ofloxacin and Flavoxate Hydrochloride by Absorption Ratio and Second Derivative UV Spectrophotometry / M. Attimarad // J. Basic Clin. Pharm. – 2010. – Vol. 2, Issue 1. – P. 53–61.
2. Spectrophotometric method for simultaneous determination of valsartan and substances from the group of statins in binary mixtures / M. Stolarczyk, A. Apola, A. Maślanka et al. // Acta Pharm. – 2017. – Vol. 67, Issue 4. – P. 463–478. doi: 10.1515/acph-2017-0031
3. Derivative spectrophotometric method for simultaneous determination of zofenopril and fluvastatin in mixtures and pharmaceutical dosage forms / M. Stolarczyk, A. Maślanka, A. Apola et al. // Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc. – 2015. – Vol. 148. – P. 66–71. doi: 10.1016/j.saa.2015.03.100
4. Development of the second-order derivative UV spectrophotometric method for direct determination of paracetamol in urine intended for biopharmaceutical characterisation of drug products / J. Parojčić, K. Karljiković-Rajić, Z. Đurić et al. // Biopharm. Drug Dispos. – 2003. – Vol. 24, Issue 7. – P. 309–314. doi: 10.1002/bdd.367
5. Comparison of UV derivative-spectrophotometry and partial least-squares (PLS-1) calibration for determination of methotrexate and leucovorin in biological fluids / I. Durán Merás, A. Espinosa Mansilla, F. Salinas López, M. Rodríguez Gómez // Anal. and Bioanal. Chem. – 2002. – Vol. 373, Issue 4–5. – P. 251–258. doi: 10.1007/s00216-002-1348-1
6. Вергейчик, Т. Х. Химико-токсикологический анализ биологических объектов на метопролол и кветиапин / Т. Х. Вергейчик, В. А. Линникова, Г. Б. Гуськова // Изв. Самарского науч. центра Рос. академии наук. – 2012. – Т. 14, № 5 (3). – С. 700–703.
7. Tolba, M. M. Derivative Quotient Spectrophotometry and an Eco-Friendly Micellar Chromatographic Approach with Time-Programmed UV-Detection for the Separation of Two Fluoroquinolones and Phenazopyridine / M. M. Tolba, M. M. Salim // J. Chromatogr. Sci. – 2016. – Vol. 54, Issue 5. – P. 776–789. doi: 10.1093/chromsci/bmw010
8. Derivative spectrophotometric and liquid chromatographic methods for the simultaneous determination of metoclopramide hydrochloride and aspirin in pharmaceuticals / F. F. Belal, M. K. Sharaf El-Din, M. M. Tolba, H. Elmansi // J. Chromatogr. Sci. – 2014. – Vol. 52, Issue 10. – P. 1224–1232. doi: 10.1093/chromsci/bmt202
9. About this FactMed analysis covering adverse side effect reports of SUPRASTIN patients who developed POISONING : FDA Research Report. – Available at : <http://www.factmed.com/report-SUPRASTIN-causing-POISONING.php>
10. 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 // 36. наук. праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупика. – 2012. – Вип. 21 (4). – С. 313–318.
11. Государственная фармакопея Российской Федерации. – М. : Научн. центр экспертизы средств мед. применения, 2008. - XII изд. – Ч. 1. – 704 с.
12. Лебедин, А. М. Екстрагування хлоропіраміну гідрофільними розчинниками з біологічного матеріалу / А. М. Лебедин, О. О. Маміна // Укр. біофарм. журн. – 2014. – Т. 34, № 5. – С. 79–82.

REFERENCES

1. Attimarad, M. (2010). Simultaneous Determination of Ofloxacin and Flavoxate Hydrochloride by Absorption Ratio and Second Derivative UV Spectrophotometry. *Journal of Basic Clinical Pharmacology*, 2 (1), 53–61.
2. Stolarczyk, M., Apola, A., Maślanka, A., Kwiecień, A., Opoka, W. (2017). Spectrophotometric method for simultaneous determination of valsartan and substances from the group of statins in binary mixtures. *Acta Pharmaceutica*, 67 (4). doi: 10.1515/acph-2017-0031
3. Stolarczyk, M., Maślanka, A., Apola, A., Rybak, W., Krzek, J. (2015). Derivative spectrophotometric method for simultaneous determination of zofenopril and fluvastatin in mixtures and pharmaceutical dosage forms. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 148, 66–71. doi: 10.1016/j.saa.2015.03.100
4. Parojčić J., Karlijković–Rajić K., Durić Z., Jovanović M., Ibrić S. (2003). Development of the second-order derivative UV spectrophotometric method for direct determination of paracetamol in urine intended for biopharmaceutical characterisation of drug. *Biopharmaceutics and Drug Disposition*, 24 (7), 309–314. doi: 10.1002/bdd.367
5. Durán Merás, I., Espinosa Mansilla, A., Salinas López, F., Rodríguez Gómez, M. (2002). Comparison of UV derivative-spectrophotometry and partial least-squares (PLS-1) calibration for determination of methotrexate and leucovorin in biological fluids. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 373 (4–5), 251–258. doi: 10.1007/s00216-002-1348-1
6. Vergeichik, T. Kh., Linnikova, V. A., Guskova, G. B. (2012). *Izvestiia Samarskogo nauchnogo tcentra Rossiiskoi akademii nauk*, 14 (5 (3)), 700–703.
7. Tolba, M. M., Salim, M. M. (2016). Derivative Quotient Spectrophotometry and an Eco-Friendly Micellar Chromatographic Approach with Time-Programmed UV-Detection for the Separation of Two Fluoroquinolones and Phenazopyridine. *Journal of Chromatographic Science*, 54 (5), 776–789. doi: 10.1093/chromsci/bmw010
8. Belal, F. F., Sharaf El-Din, M. K., Tolba, M. M., Elmansi, H. (2014). Derivative Spectrophotometric and Liquid Chromatographic Methods for the Simultaneous Determination of Metoclopramide Hydrochloride and Aspirin in Pharmaceuticals. *Journal of Chromatographic Science*, 52 (10), 1224–1232. doi: 10.1093/chromsci/bmt202
9. *About this FactMed analysis covering adverse side effect reports of SUPRASTIN patients who developed POISONING : FDA Research Report*. Available at: <http://www.factmed.com/report-SUPRASTIN-causing-POISONING.php>
10. Lebedyn, A. M., Mamina, O. O., Boriak, L. I. (2012). *Zbirnyk naukovykh prats spivrobitykiv NMAPO im. P. L. Shupyka*, 21 (4), 313–318.
11. *Gosudarstvennaia farmakopeia Rossiiskoi federatsii*. (2008). Moscow: Nauchnyi tcentr ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniia, XII ed., Part 1, 704.
12. Lebedyn, A. M., Mamina, O. O. (2014). *Ukrainskyi biofarmatsevtichnyi zhurnal – Ukrainian biopharmaceutical journal*, 34 (5), 79–82.

Відомості про авторів:

Маміна О. О., д-р фарм. наук, професор кафедри фізичної та колоїдної хімії, Національний фармацевтичний університет.

E-mail: a_mamina@ukr.net. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6673-1488>

Кабачний В. І., д-р фарм. наук, професор, завідувач кафедри фізичної та колоїдної хімії, Національний фармацевтичний університет.

E-mail: vikpharm@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8620-2225>

Ніколайчук С. Г., лікар, судово-медичний експерт-токсиколог вищої категорії, Харківське обласне бюро судово-медичної експертизи.

E-mail: svetnik1966@gmail.com

Ковтюх Ю. В., лікар, судово-медичний експерт-токсиколог вищої категорії, Харківське обласне бюро судово-медичної експертизи.

E-mail: himiktoxikol58@gmail.com

Information about the authors:

Mamina O. O., doctor of pharmaceutical sciences, professor of the department of physical and colloid chemistry, National University of Pharmacy.

E-mail: a_mamina@ukr.net. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6673-1488>

Kabachny V. I., doctor of pharmaceutical sciences, professor, head of the department of physical and colloid chemistry, National Pharmaceutical University. E-mail: vikpharm@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8620-2225>

Nikolaychuk S. G., doctor, forensic expert-toxicologist of the highest qualification, Kharkiv Regional Bureau of Forensic Medical Examination.

E-mail: svetnik1966@gmail.com

Kovtyuh Yu. V., doctor, forensic expert-toxicologist of the highest qualification, Kharkiv Regional Bureau of Forensic Medical Examination.

E-mail: himiktoxikol58@gmail.com

Сведения об авторах:

Маміна Е. А., д-р фарм. наук, професор кафедри фізической и коллоидной химии, Национальный фармацевтический университет.

E-mail: a_mamina@ukr.net. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6673-1488>

Кабачный В. И., д-р фарм. наук, профессор, заведующий кафедрой физической и коллоидной химии, Национальный фармацевтический университет. E-mail: vikpharm@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8620-2225>

Николайчук С. Г., врач, судебно-медицинский эксперт-токсиколог высшей категории, Харьковское областное бюро судебно-медицинской экспертизы. E-mail: svetnik1966@gmail.com

E-mail: svetnik1966@gmail.com

Ковтюх Ю. В., врач, судебно-медицинский эксперт-токсиколог высшей категории, Харьковское областное бюро судебно-медицинской экспертизы. E-mail: himiktoxikol58@gmail.com

E-mail: himiktoxikol58@gmail.com

Рекомендована д. хім. н., професором І. С. Гриценком

Надійшла до редакції 15.02.2018 р.