



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **96005**

(13) **U**

(51) МПК

**G01N 31/20** (2006.01)

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2014 08968**

(22) Дата подання заявки: **08.08.2014**

(24) Дата, з якої є чинними  
права на корисну  
модель: **12.01.2015**

(46) Публікація відомостей  
про видачу патенту: **12.01.2015, Бюл.№ 1**

(72) Винахідник(и):

**Бондар Володимир Степанович (UA),  
Багуля Олександр Вікторович (UA),  
Клименко Ліна Юріївна (UA)**

(73) Власник(и):

**НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ  
УНІВЕРСИТЕТ,  
вул. Пушкінська, 53, м. Харків, 61002 (UA)**

## (54) СПОСІБ ІЗОЛЮВАННЯ ДИФЕНІНУ ІЗ БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ

### (57) Реферат:

Спосіб ізолювання дифеніну із біологічного матеріалу шляхом настоювання біологічного матеріалу із підлученою водою, підкислення та екстракції органічним розчинником із кислого середовища. Проводять гомогенізацію зразка біологічного матеріалу шляхом розтирання з піском, настоювання підлученою водою проводять тричі. Осадження співекстрактивних речовин виконують за допомогою натрію вольфрамату при нагріванні. Екстракцію препарату після підкислення проводять хлороформом тричі, проводять наступну двократну реекстракцію розчином натрію гідроксиду, підкислення рафінату розчином кислоти сульфатної та трикратну екстракцію його хлороформом.

**UA 96005 U**



Корисна модель належить до аналітичної хімії, а саме до ізолювання із біологічного матеріалу та аналізу лікарського препарату протисудомної дії дифеніну, і може знайти застосування у хіміко-токсикологічному аналізі для виявлення та кількісного визначення зазначеної лікарської речовини.

Відомий спосіб ізолювання похідних барбітурової кислоти із крові та тканин внутрішніх органів шляхом настоювання з підлуженою водою [Valov, P. Rapid qualitative and quantitative determination of barbiturates from postmortem specimens / P. Valov // Industrial and Engineering Chemistry. Analytical Edition.-1946. - V. 18, №7. - P. 456-457.].

Метод ґрунтується на здатності барбітуратів утворювати в лужному середовищі солі, що легко розчиняються у воді, завдяки чому зазначені речовини переходять у водний витяг в процесі настоювання біологічного матеріалу з підлуженою водою. Завдяки наявності у структурі дифеніну таких саме функціональних груп, як і в молекулах похідних барбітурової кислоти, цей метод ізолювання може бути застосований і до дифеніну.

Недоліком описаного способу ізолювання відносно до дифеніну є низький ступінь вивільнення речовини із біологічного матеріалу, погана відтворюваність отриманих результатів та велика кількість співекстрактивних речовин у витягах із біологічного матеріалу.

Задачею корисної моделі є створення способу ізолювання дифеніну із біологічного матеріалу, що дає можливість виділити дифенін із біологічного матеріалу з високим ступенем ізолювання і задовільною відтворюваністю та при цьому отримати витяги, що є практично звільненими від співекстрактивних речовин.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі ізолювання дифеніну із біологічного матеріалу проводиться гомогенізація зразка біологічного матеріалу, трикратне настоювання його з водою, підлуженою розчином натрію гідроксиду, осадження співекстрактивних речовин за допомогою натрію вольфраму при нагріванні, підкислення витягу розчином кислоти сульфатної, трикратна екстракція хлороформом, наступна двократна реекстракція розчином натрію гідроксиду, підкислення рафінату розчином кислоти сульфатної та трикратна екстракція його хлороформом.

Заявлений спосіб здійснюють наступним чином: 10,00 г біологічного матеріалу переносять до ступки, додають до нього 10 г чистого піску і ретельно розтирають. Гомогенізовану масу переносять до склянки, ступку ополіскують 20 мл води очищеної та переносять до тієї ж склянки. В склянку з гомогенізованим біологічним матеріалом додають 2 мл 10 % розчину натрію гідроксиду. Вміст склянки залишають на 30 хв. при постійному перемішуванні, після чого суміш центрифугують (протягом 30 хв. при 3000-5000 об./хв.) та збирають центрифугат до чистої склянки. Настоювання біологічного матеріалу з новими порціями підлуженої води проводять ще двічі протягом 30 хв. До об'єднаних лужних водних витягів додають 120 мл 10 % розчину натрію вольфраму та 0,05 моль/л розчин кислоти сульфатної до pH = 2 за універсальним індикаторним папером. Рідину нагрівають на водяній бані протягом 20 хв., а потім центрифугують протягом 30 хв. при 3000-5000 об./хв. Центрифугат збирають до ділильної лійки та тричі екстрагують хлороформом порціями по 20 мл. Одержані витяги ("кислий" хлороформний витяг А) об'єднують та двічі реекстрагують 10 % розчином натрію гідроксиду порціями по 20 мл. До об'єднаних лужних водних витягів додають 25 % розчин кислоти сульфатної до pH = 2 за універсальним індикаторним папером та двічі екстрагують хлороформом порціями по 10 мл. Одержані витяги ("кислий" хлороформний витяг Б) об'єднують, фільтрують через паперовий фільтр ("червона стрічка") з 1 г натрію сульфату безводного до мірної колби місткістю 25,0 мл, доводять об'єм хлороформом до позначки.

Корисна модель пояснюється прикладами.

Приклад 1. Експериментальним шляхом здійснено визначення ефективності ізолювання дифеніну із біологічного матеріалу способом за прототипом.

Модельну суміш тканин печінки з дифеніном переносили до ступки, додавали до неї 10 г чистого піску і ретельно розтирали. Гомогенізовану масу переносили до склянки, ступку ополіскували 20 мл води очищеної та переносили до тієї ж склянки. В склянку з гомогенізованим біологічним матеріалом додавали 2 мл 10 % розчину натрію гідроксиду. Вміст склянки залишали на 30 хв. при постійному перемішуванні, після чого суміш центрифугували (протягом 30 хв. при 3000-5000 об./хв.) та збирали центрифугат до чистої склянки. Настоювання біологічного матеріалу з новими порціями підлуженої води проводили ще двічі протягом 30 хв. До об'єднаних лужних водних витягів додавали 0,05 моль/л розчин кислоти сульфатної до pH = 2 за універсальним індикаторним папером, переносили до ділильної лійки та тричі екстрагували діетиловим етером порціями по 20 мл. Одержані витяги ("кислий" етерний витяг) об'єднували, фільтрували через паперовий фільтр ("червона стрічка") з 1 г натрію сульфату безводного до мірної колби місткістю 25,0 мл, доводили об'єм діетиловим етером до позначки.

Кількісне визначення дифеніну проводили методом УФ-спектро-фотометрії в 5,00 мл отриманого етерного витягу.

Ступінь ізолювання дифеніну становить  $45 \pm 12$  %.

Фонове поглинання контрольного дослідження становить 0,168, або -34 % від поглинання основного дослідження.

Приклад 2. Експериментальним шляхом здійснено визначення ефективності ізолювання дифеніну із біологічного матеріалу заявленим способом.

Модельну суміш тканин печінки з дифеніном переносили до ступки, додавали до неї 10 г чистого піску і ретельно розтирали. Гомогенізовану масу переносили до склянки, ступку ополіскували 20 мл води очищеної та переносили до тієї ж склянки. В склянку з гомогенізованим біологічним матеріалом додавали 2 мл 10 % розчину натрію гідроксиду. Вміст склянки залишали на 30 хв. при постійному перемішуванні, після чого суміш центрифугували (протягом 30 хв. при 3000-5000 об./хв.) та збирали центрифугат до чистої склянки. Настоявання біологічного матеріалу з новими порціями підлушеної води проводили ще двічі протягом 30 хв. До об'єднаних лужних водних витягів додавали 120 мл 10 % розчину натрію вольфрамату та 0,05 моль/л розчин кислоти сульфатної до pH = 2 за універсальним індикаторним папером. Рідину нагрівали на водяній бані протягом 20 хв., а потім центрифугували протягом 30 хв. при 3000-5000 об./хв.

Центрифугат збирали до ділильної лійки та тричі екстрагували хлороформом порціями по 20 мл. Одержані витяги ("кислий" хлороформний витяг А) об'єднували та двічі реекстрагували 10 % розчином натрію гідроксиду порціями по 20 мл. До об'єднаних лужних водних витягів додавали 25 % розчин кислоти сульфатної до pH = 2 за універсальним індикаторним папером та двічі екстрагували хлороформом порціями по 10 мл. Одержані витяги ("кислий" хлороформний витяг Б) об'єднували, фільтрували через паперовий фільтр ("червона стрічка") з 1 г натрію сульфату безводного до мірної колби місткістю 25,0 мл, доводили об'єм хлороформом до позначки.

Кількісне визначення дифеніну проводили методом УФ-спектрофотометрії в 5,00 мл отриманого етерного витягу.

Ступінь ізолювання дифеніну становить  $74 \pm 5$  %.

Фонове поглинання контрольного дослідження становить 0,074, або -11 % від поглинання основного дослідження.

Експериментально доведено, що два аналітичні чинники - застосування хлороформу замість діетилового етеру та осадження співекстрактивних речовин натрію вольфраматом - роблять зазначений спосіб ізолювання ефективним для дифеніну.

Таким чином, заявлений спосіб ізолювання дифеніну із біологічного матеріалу є ефективним та відтворюваним та може знайти застосування у хіміко-токсикологічному аналізі для виявлення та кількісного визначення зазначеної лікарської речовини.

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб ізолювання дифеніну із біологічного матеріалу шляхом настоювання біологічного матеріалу із підлушеною водою, підкислення та екстракції органічним розчинником із кислого середовища, який **відрізняється** тим, що проводять гомогенізацію зразка біологічного матеріалу шляхом розтирання з піском, настоювання підлушеною водою проводять тричі, осадження співекстрактивних речовин виконують за допомогою натрію вольфрамату при нагріванні, екстракцію препарату після підкислення проводять хлороформом тричі, проводять наступну двократну реекстракцію розчином натрію гідроксиду, підкислення рафінату розчином кислоти сульфатної та трикратну екстракцію його хлороформом.

---

Комп'ютерна верстка Л. Ціхановська

---

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

---

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601