



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **106265**

(13) **U**

(51) МПК

G01N 31/20 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки:	u 2015 09112	(72) Винахідник(и):	Клименко Ліна Юріївна (UA), Трут Станіслав Миколайович (UA), Іванчук Ірина Михайлівна (UA)
(22) Дата подання заявки:	22.09.2015	(73) Власник(и):	НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, вул. Пушкінська, 53, м. Харків, 61002 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель:	25.04.2016		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	25.04.2016, Бюл.№ 8		

(54) СПОСІБ ДЕРИВАТИВНОЇ ТШХ-ОЧИСТКИ ВИТЯГІВ ІЗ КРОВІ ТА СЕЧІ, ЩО МІСТЯТЬ ДОКСИЛАМІН

(57) Реферат:

Спосіб деривативної ТШХ-очистки витягів із крові та сечі, що містять доксиламін, включає їх нанесення на лінію старту хроматографічної пластини (паралельно на пластину наносять "свідок"), елюювання хроматографічної пластини послідовно з використанням двох рухомих фаз та елюювання доксиламіну 0,1 моль/л розчином кислоти хлористоводневої з зони хроматографічної пластини, що відповідає плямі "свідка". Отримують четвертинну N-хлорамонієву основу доксиламіну шляхом обробки досліджуваної проби та проби "свідка" на лінії старту хроматографічної пластини надлишком розчину натрію гіпохлориту в розчині натрію гідрокарбонату після елюювання пластини в хлороформі, використовують суміш гексан-діетиловий етер (2:1) як другу рухому фазу та проявляють пляму "свідка" 1 % розчином п-амінодіетиланілінсульфату.

UA 106265 U

Корисна модель належить до аналітичної хімії, а саме до ізолювання із біологічних рідин та аналізу снодійного лікарського препарату доксиламіну, і може знайти застосування у хіміко-токсикологічному аналізі для виявлення та кількісного визначення зазначеної лікарської речовини.

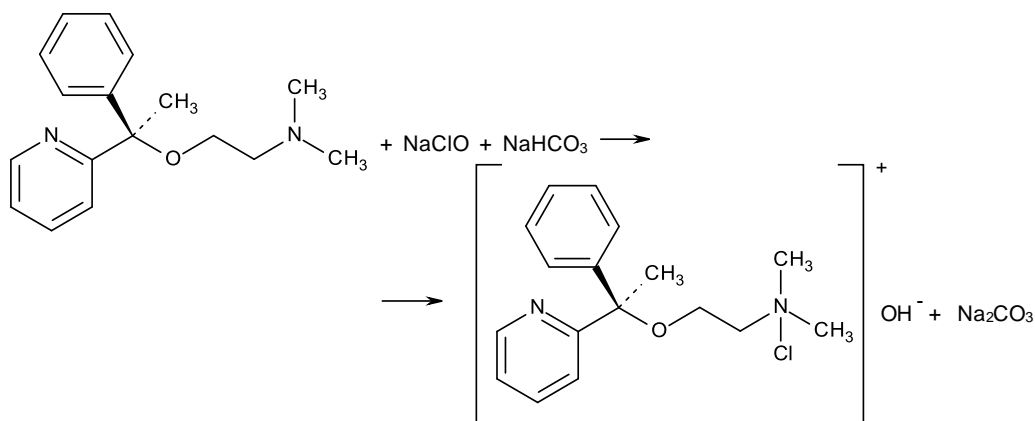
Відомий спосіб ТШХ-очистки витягів із крові та сечі, що містять доксиламін, шляхом їх нанесення на лінію старту хроматографічної пластини (паралельно на пластину наносять "свідок"), проведення елюювання хроматографічної пластини з використанням рухомих фаз: 1) хлороформ; 2) хлороформ - метанол (9:1), проявлення плями "свідка" реактивом Драгендорфа та елюювання доксиламіну 0,1 моль/л розчином кислоти хлористоводневої з зони хроматографічної пластини, що відповідає плямі "свідка" [Болотов, В.В. Хіміко-токсикологічний аналіз біологічного матеріалу на дономіл: метод, рекомендації / В.В. Болотов, І.М. Іванчук, Л.Ю. Клименко. - К., 2009. - 20 с.].

Недоліком описаного способу є низький ступінь елюювання доксиламіну з хроматографічної пластини та відносно велика кількість співекстрактивних речовин в отриманих елюатах.

Задача корисної моделі полягає у створенні способу ТШХ-очистки витягів із біологічних рідин, що містять доксиламін, який би дозволяв збільшити ступінь елюювання доксиламіну з хроматографічної пластини та зменшити кількість співекстрактивних речовин в отриманих елюатах.

Поставлена задача вирішується таким чином, що у способі деривативної ТШХ-очистки витягів із біологічних рідин, що містять доксиламін, проводять їх нанесення на лінію старту хроматографічної пластини (паралельно на пластину наносять "свідок"), елюювання хроматографічної пластини послідовно з використанням двох рухомих фаз та елюювання доксиламіну 0,1 моль/л розчином кислоти хлористоводневої з зони хроматографічної пластини, що відповідає плямі "свідка", корисною моделлю передбачено отримання четвертинної N-хлорамонієвої основи доксиламіну шляхом обробки досліджуваної проби та проби "свідка" на лінії старту хроматографічної пластини надлишком розчину натрію гіпохлориту в розчині натрію гідрокарбонату після елюювання пластини в хлороформі, використання суміші гександіетиловий етер (2:1) як другої рухомої фази та проявлення плями "свідка" 1 % розчином п-амінодіетиланілінсульфату.

Заявлений спосіб ґрунтується на отриманні четвертинної N-хлорамонієвої основи доксиламіну при обробці проби розчином натрію гіпохлориту в розчині натрію гідрокарбонату за схемою:



Очистка витягів із крові та сечі, що містять доксиламін, проводиться з використанням методу реакційної (деривативної) хроматографії у тонкому шарі сорбенту, який передбачає отримання деривату досліджуваної речовини та встановлення його R_f після елюювання у відповідній системі розчинників та проявлення відповідним проявником.

Експериментальним шляхом встановлено, що надлишок розчину натрію гіпохлориту (0,5 г/л активного хлору) в 6 % розчині натрію гідрокарбонату в умовах проведення заявленого способу не заважає проведенню очистки витягів із крові та сечі, що містять доксиламін, та проявленню плям "свідка", оскільки 1 % розчином п-амінодіетиланілінсульфату він проявляється на пластині повільно (протягом 10 хвилин), має блідо-фіолетове забарвлення (на відміну від яскраво-рожевого для цільової речовини) та після елюювання його плями завжди знаходяться на лінії старту хроматографічної пластини.

Заявлений спосіб здійснюють таким чином: необхідну кількість отриманого органічного витягу випаровують на водяній бані за температури 80 °C до повного видалення органічного

шару; сухий залишок розчиняють в ~0,5 мл хлороформу і кількісно наносять на лінію старту хроматографічної пластини "Sorbfil" ПТСХ-ПВ смугою шириною 2 см. Поряд наносять розчин "свідка" в точку. Пластину двічі елюють в хлороформі. Після висушування лінію старту хроматографічної пластини обробляють розчином натрію гіпохлориту (0,5 г/л активного хлору) в 6 % розчині натрію гідрокарбонату. Після висушування пластину елюють з використанням рухомої фази гексан-діетиловий етер (2:1), висушують, проявляють смугу "свідка" 1 % розчином п-амінодіетиланілінсульфату і спостерігають пляму яскраво-рожевого кольору в зоні $R_f=0,3-0,4$. За допомогою скальпеля навпроти плями "свідка" з пластини ретельно знімають сорбент з площі 3 см × 1 см в скляний флакон. У флакон додають 10,00 мл 0,1 моль/л розчину кислоти хлористоводневої і струшують протягом 5 хв., після чого фільтрують до мірної колби місткістю 10,0 мл і доводять об'єм розчину через фільтр елюентом до позначки.

Корисна модель ілюструється прикладами.

Приклад 1. Експериментальним шляхом визначено ефективність елюювання доксиламіну з хроматографічної пластини та фонове поглинання blank-зразків крові та сечі в способі за прототипом.

Для проведення експерименту було отримано по 5 органічних витягів (50,0 мл) для blank-зразків крові та сечі, в кожний з яких було додано по 100 мкг доксиламіну сукцинату.

Відміряли піпеткою 25,00 мл органічного витягу та випаровували на водяній бані за температури 80 °С до повного видалення органічного шару; сухий залишок розчиняли в ~0,5 мл хлороформу і кількісно наносили на лінію старту хроматографічної пластини "Sorbfil" ПТСХ-ПВ смугою шириною 2 см. Поряд наносили 10 мкл стандартного розчину "свідка" (концентрація 1 мг/мл) в точку. Пластину двічі елюювали в хлороформі. Після висушування пластину елюювали з використанням рухомої фази хлороформ - метанол (9:1), висушували, проявляли смугу "свідка" реактивом Драгендорфа і спостерігали пляму коричневого кольору у зоні $R_f=0,5-0,7$. За допомогою скальпеля навпроти плями "свідка" з пластини ретельно знімали сорбент з площі 3 см × 1 см в скляний флакон. У флакон відміряли піпеткою 10,00 мл 0,1 моль/л розчину кислоти хлористоводневої і струшували протягом 5 хв., після чого фільтрували до мірної колби місткістю 10,0 мл і доводили об'єм розчину через фільтр ("червона стрічка") елюентом до позначки (елюат).

Хроматографування проводили в камері об'ємом 500 мл, в яку вносили 10 мл рухомої фази. Камеру насичували впродовж 30 хв. Довжина шляху пробігу рухомої фази становила 8 см.

Середнє значення ступеня елюювання доксиламіну з хроматографічної пластини становить 90 ± 3 %.

Фонове поглинання blank-зразка крові та сечі становить 0,012 та 0,011 відповідно.

Приклад 2. Експериментальним шляхом визначено ефективність елюювання доксиламіну з хроматографічної пластини та фонове поглинання blank-зразків крові та сечі в заявленому способі.

Для проведення експерименту було отримано по 5 органічних витягів (50,0 мл) для blank-зразків крові та сечі, в кожний з яких було додано по 100 мкг доксиламіну сукцинату.

Відміряли піпеткою 25,00 мл органічного витягу та випаровували на водяній бані за температури 80 °С до повного видалення органічного шару; сухий залишок розчиняли в ~0,5 мл хлороформу і кількісно наносили на лінію старту хроматографічної пластини "Sorbfil" ПТСХ-ПВ смугою шириною 2 см. Поряд наносили 10 мкл стандартного розчину "свідка" (концентрація 1 мг/мл) в точку. Пластину двічі елюювали в хлороформі. Після висушування лінію старту хроматографічної пластини обробляли розчином натрію гіпохлориту (0,5 г/л активного хлору) в 6 % розчині натрію гідрокарбонату. Після висушування пластину елюювали з використанням рухомої фази гексан-діетиловий етер (2:1), висушували, проявляли смугу "свідка" 1 % розчином п-амінодіетиланілінсульфату і спостерігали пляму яскраво-рожевого кольору в зоні $R_f=0,3-0,4$. За допомогою скальпеля навпроти плями "свідка" з пластини ретельно знімали сорбент з площі 3 см × 1 см в скляний флакон. У флакон відміряли піпеткою 10,00 мл 0,1 моль/л розчину кислоти хлористоводневої і струшували протягом 5 хв., після чого фільтрували до мірної колби місткістю 10,0 мл і доводили об'єм розчину через фільтр ("червона стрічка") елюентом до позначки (елюат).

Хроматографування проводили в камері об'ємом 500 мл, в яку вносили 10 мл рухомої фази. Камеру насичували впродовж 30 хв. Довжина шляху пробігу рухомої фази становила 8 см.

Середнє значення ступеня елюювання доксиламіну з хроматографічної пластини становить 98 ± 2 %.

Фонове поглинання blank-зразка крові та сечі становить 0,003.

Таким чином, заявлений спосіб деривативної ТШХ-очистки витягів із крові та сечі, що містять доксиламін є ефективним та специфічним по відношенню до компонентів blank-проби та

може знайти застосування у хіміко-токсикологічному аналізі для виявлення та кількісного визначення зазначеної лікарської речовини.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 5 Спосіб деривативної ТШХ-очистки витягів із крові та сечі, що містять доксиламін, що включає їх нанесення на лінію старту хроматографічної пластини (паралельно на пластину наносять "свідок"), елюювання хроматографічної пластини послідовно з використанням двох рухомих фаз та елюювання доксиламіну 0,1 моль/л розчином кислоти хлористоводневої з зони
- 10 хроматографічної пластини, що відповідає плямі "свідка", який **відрізняється** тим, що отримують четвертинну N-хлорамонієву основу доксиламіну шляхом обробки досліджуваної проби та проби "свідка" на лінії старту хроматографічної пластини надлишком розчину натрію гіпохлориту в розчині натрію гідрокарбонату після елюювання пластини в хлороформі, використовують суміш гексан-діетиловий етер (2:1) як другу рухому фазу та проявляють пляму
- 15 "свідка" 1 % розчином n-амінодіетиланілінсульфату.

Комп'ютерна верстка Л. Бурлак

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

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