



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **89401**

(13) **U**

(51) МПК

**G01N 30/02** (2006.01)

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2013 09835**

(22) Дата подання заявки: **08.08.2013**

(24) Дата, з якої є чинними  
права на корисну  
модель: **25.04.2014**

(46) Публікація відомостей  
про видачу патенту: **25.04.2014, Бюл.№ 8**

(72) Винахідник(и):

**Лебедин Алла Миколаївна (UA),  
Маміна Олена Олександрівна (UA),  
Бондаренко Євген Леонідович (UA)**

(73) Власник(и):

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

## (54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ХЛОРОПІРАМІНУ ГІДРОХЛОРИДУ МЕТОДОМ ГАЗОРІДИННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ

### (57) Реферат:

Спосіб визначення хлоропіраміну гідрохлориду методом газорідинної хроматографії у відповідності з заданою температурною програмою. Як нерухому рідинну фазу використовують суміш 5 %-дифеніл-95 %-диметилполісилоксан, НР-5 0,25 мкм, а температуру колонки лінійно програмують наступним чином: 180 °С протягом 5 хв. з подальшим зростанням температури до 200 °С зі швидкістю 15 °С у хв.; зростання температури від до 200 до 255 °С зі швидкістю 6 °С у хв. і витримування 255 °С протягом 6 хв., причому температура випарника і детектора не перевищує 300 °С.

**UA 89401 U**



Корисна модель належить до аналітичної хімії, а саме до способів визначення хлоропіраміну гідрохлориду способом газорідинної хроматографії і може застосовуватися для визначення зазначеної речовини у фармацевтичному аналізі та при хіміко-токсикологічних дослідженнях.

У теперішній час частота виникнення алергічних захворювань прогресивно збільшується, що обумовлено малосприятливими екологічними умовами життя, нераціональним харчуванням, шкідливими звичками, безконтрольним застосуванням ліків. В результаті дії вищенаведених факторів різними формами алергії хворіють біля 60 % населення планети. Тільки за останні 30 років кожні 10 років захворюваність алергіями повсюдно подвоюється.

Хлоропіраміну гідрохлорид (супрастин) - N-(2-піридил)-N-(пара-хлорбензил)-N',N'-диметилетилендіаміну гідрохлорид - належить до групи антигістамінних препаратів, які застосовуються для полегшення симптомів алергії, мають седативний, снодійний та протисвербіжний ефекти. Механізм дії хлоропіраміну гідрохлориду базується на блокуванні гістамінових H<sub>1</sub>-рецепторів [1].

Передозування препаратом супроводжується психомоторним збудженням, галюцинаціями, судомою, депресією. Летальне враження відмічається при розвитку коматозного стану та паралічу дихального центра, тому розробка високочутливих та селективних методів його дослідження у біологічних об'єктах є актуальною проблемою [1-3].

Існують способи визначення азотовмісних лікарських речовин, до яких належить хлоропіраміну гідрохлорид, методом газорідинної хроматографії, але вони мають певні недоліки, обумовлені використанням різноманітних умов (колонок з сорбентом-носієм, температурних режимів колонки, детектора і випарника та швидкості надання газу-носія у колонку), які не враховують індивідуальні властивості досліджуваної речовини.

Відомий спосіб визначення азотовмісних лікарських речовин (атропіну, барбіталу, кофеїну, теоброміну, теофіліну, хлорпромазину) при проведенні скринінгових досліджень біологічного матеріалу (система GA) з використанням скляної колонки 2 м × 2 мм із сорбентом Chromosorb G HP та нерухомою рідинною фазою - 3 % SE-30. Температуру колонки лінійно програмували від 100 до 300 °C протягом 25 хв. Температура випарника та детектора складала 250 °C. Рухома фаза - нітроген надавалась у колонку зі швидкістю - 45,0 мл/хв [4].

До недоліків способу можна віднести відсутність симетричних піків хлоропіраміну гідрохлориду при застосуванні наведених умов хроматографування.

Відомий спосіб визначення індивідуальних лікарських речовин (амітриптиліну, нортриптиліну) з використанням газового хроматографа HP-5890, мас-селективного детектора HP-5972 фірми "Hewlett Packard", кварцової капілярної колонки з нерухомою рідинною фазою - HP-5 0,25 мкм. Режим програмування температури колонки: початкова температура - 80 °C протягом 1 хв., зростання температури від 80 до 300 °C зі швидкістю 20 °C у хв., при 300 °C температурний режим зберігався протягом 5 хв. Температура випарника складала 250 °C, детектора - 285 °C [5].

До недоліків зазначеного способу можна віднести придатність використаних газохроматографічних умов лише для аналізу індивідуальних азотовмісних лікарських речовин та окремих груп речовин без урахування індивідуальних властивостей хлоропіраміну гідрохлориду.

Відомий спосіб визначення деяких антигістамінних препаратів (доксиламін, прометазин, дифенілпіралін) в умовах застосування капілярної колонки 30 м × 320 мкм з нерухомою рідинною фазою - 5 %-фенілметил-полісилоксан, DB-5 0,25 мкм. Рухома фаза - гелій надавалась у колонку зі швидкістю - 40,0 мл/хв. Детектування хлоропіраміну гідрохлориду проводили полум'яно-іонізаційним детектором, швидкість надання водню - 40,0 мл/хв.

Температуру колонки лінійно програмували: 1 хв. при 55 °C; зростання температури від 55 до 175 °C зі швидкістю 30 °C/хв. та від 175 до 320 °C зі швидкістю 10 °C/хв.; при 320 °C температурний режим зберігався протягом 1 хв. Температура випарника складала 250 °C, детектора - 300 °C [6].

До недоліків способу можна віднести наявність додаткових піків продуктів розкладу хлоропіраміну гідрохлориду при нагріванні колонки до максимальних температур.

В основу корисної моделі поставлена задача створення нового способу визначення хлоропіраміну гідрохлориду методом газорідинної хроматографії, який шляхом вибору оптимальної температурної програми та збалансованої нерухомої рідинної фази у сукупності з рештою параметрів процесу запобігає руйнуванню та забезпечує достовірне, точне визначення хлоропіраміну гідрохлориду у пробах водного розчину з концентрацією 0,25-2,0 мг/мл.

Поставлена задача вирішується таким чином, що спосіб визначення хлоропіраміну гідрохлориду методом газорідинної хроматографії у відповідності з заданою температурною

програмою на відміну від аналога передбачає застосування капілярної колонки 50 м × 250 мкм з нерухомою рідинною фазою - 5 %-дифеніл-95 %-диметилполісилоксан, HP-5 0,25 мкм, а температуру колонки лінійно програмують наступним чином: 180 °C протягом 5 хв. з подальшим зростанням температури від 180 °C зі швидкістю 15 °C у хв. до 200 °C, з подальшим зростанням температури від 200 °C зі швидкістю 6 °C у хв. до 255 °C і витримуванням 255 °C протягом 6 хв., причому температура випарника і детектора становить 300 °C.

Згідно з корисною моделлю, як рухомої фази використовують газ-носії - гелій зі швидкістю подання у колонку 60,0 мл/хв.

Згідно з корисною моделлю, аналізують проби водного розчину хлоропіраміну з концентрацією 0,25-2,0 мкг/мл.

Всі параметри заявленого способу визначені експериментальним шляхом, а їх сукупність є новою, невідомою з джерел інформації.

Дослідами доведено, що при застосуванні заявленого способу на хроматограмах спостерігаються симетричні піки хлоропіраміну гідрохлориду без додаткових піків домішок. Час утримування хлоропіраміну гідрохлориду складає 16,1±0,2 хв.; межа виявлення-0,1 мкг/мл; коефіцієнт симетрії - 1,0, число теоретичних тарілок - 1441,4 т.т. Отримані дані підтверджують придатність запропонованої хроматографічної системи для проведення аналізу хлоропіраміну гідрохлориду методом газорідинної хроматографії (ефективність хроматографічної колонки перевищує 1000 т.т.; коефіцієнт симетрії піків не перевищує 2,4).

Заявлений спосіб здійснюють наступним чином.

Визначення хлоропіраміну гідрохлориду виконують при застосуванні газового хроматографа "Agilent 19091 J-413", капілярної колонки 50м x 250 мкм з нерухомою рідинною фазою - 5 %-дифеніл-95 %-диметилполісилоксан, HP-5 0,25 мкм; рухомої фази - газа-носія - гелію, який надається у колонку зі швидкістю - 60,0 мл/хв.

Детектування речовини проводять полум'яно-іонізаційним детектором зі швидкістю надання водню - 40,0 мл/хв. Температуру колонки лінійно програмують: 5 хв. при 180 °C; зростання температури від 180 до 200 °C зі швидкістю 15 °C у хв.; зростання температури від 200 до 255 °C зі швидкістю 6 °C у хв.; при 255 °C температурний режим зберігається протягом 6 хв. Температура випарника складає 300 °C, детектора - 300 °C. Введення досліджуваної проби водного розчину хлоропіраміну гідрохлориду об'ємом 1-2 мкл дозування виконують за допомогою мікрошприца "Hamilton" місткістю 10 мкл (концентрація водних розчинів речовини складала 0,25-2,0 мкг/мл).

Кількісне визначення хлоропіраміну гідрохлориду проводять методом абсолютної калібровки за площею піків. Розрахунки вмісту хлоропіраміну гідрохлориду виконують за градувальним графіком, побудованим у залежності площі піків ( $S$ , мм<sup>2</sup>) від концентрації речовини ( $C$ , мкг/мл) з використанням стандартних розчинів із різним вмістом досліджуваної речовини. За одержаними середніми значеннями розраховують концентрацію хлоропіраміну гідрохлориду у випробуваному розчині.

Корисна модель ілюструється прикладом.

Приклад 1. 20,0 мг хлоропіраміну гідрохлориду вносили в мірну колбу місткістю 10,0 мл, розчиняли у воді та доводили об'єм розчину водою до позначки (розчин 1, концентрація 2,0 мг/мл). В мірні колби місткістю 10,0 мл вносили із бюретки по 1,25; 2,5; 3,75; 5,0; 6,25; 7,5; 8,75 мл стандартного розчину 1 та доводили об'єми розчинів водою до позначки, перемішували та хроматографували в умовах: газовий хроматограф "Agilent 19091 J-413", капілярна колонка 50 м × 250 мкм з нерухомою рідинною фазою - 5 %-дифеніл-95 %-диметилполісилоксан, HP-5 0,25 мкм; рухома фаза - газ-носії - гелій, який надавався у колонку зі швидкістю - 60,0 мл/хв. Детектування речовини проводили полум'яно-іонізаційним детектором, швидкість надання водню - 40,0 мл/хв.

Температуру колонки лінійно програмували: 5 хв. при 180 °C; зростання температури від 180 до 200 °C зі швидкістю 15 °C у хв.; зростання температури від 200 до 255 °C зі швидкістю 6 °C у хв.; при 255 °C температурний режим зберігався протягом 6 хв. Температура випарника складала 300 °C, детектора - 300 °C. Об'єм проби для введення в колонку - 1 мкл при застосуванні мікрошприца "Hamilton" місткістю 10 мкл.

На хроматограмі спостерігався симетричний пік хлоропіраміну гідрохлориду, час утримування складав 16,1±0,2 хв.; коефіцієнт симетрії -1,0; число теоретичних тарілок - 1441,4 т.т.

Кількісне визначення хлоропіраміну гідрохлориду проводили при застосуванні рівняння градувального графіку  $S = a + bC$ , коефіцієнти регресії ( $a$ ,  $b$ ) якого були розраховані методом найменших квадратів, при цьому  $S_{\text{хлоропіраміну гідрохлориду}} = -0,125 \cdot 10^3 + 4,016 \cdot 10^3 C$ , довірчі інтервали коефіцієнтів регресії -  $\Delta a = 0,019 \cdot 10^3$ ;  $\Delta b = 0,015 \cdot 10^3$ ; коефіцієнт кореляції - 0,999; нижня межа

5 визначення хлоропіраміну гідрохлориду ГРХ-методом 0,25 мкг/мл. Встановлено, що при проведенні аналізу хлоропіраміну гідрохлориду методом газорідинної хроматографії у модельних розчинах з концентрацією 0,25-2,0 мкг/мл за розробленою методикою відносна невизначеність середнього результату не перевищує  $\pm 2,11\%$ . Враховуючи, що для кожної концентрації необхідно виконувати не менше 5 визначень, результати досліджень наведені у таблиці.

Таблиця

Результати кількісного визначення хлоропіраміну гідрохлориду у модельних розчинах методом газорідинної хроматографії (n = 5, P = 95 %)

Вміст речовини у модельних розчинах, %	Метрологічні характеристики					
	$\bar{X}$	$S^2$	S	$S\bar{x}$	$\Delta\bar{x}$	$\bar{\varepsilon}$
97,7-101,9	99,8	2,89	1,70	0,76	2,10	2,11

10 Наведені в таблиці дані свідчать про відтворюваність результатів визначення хлоропіраміну гідрохлориду за заявленим способом, що підтверджується метрологічними характеристиками.

Спосіб може бути запропонованим для впровадження в практику роботи бюро судово-медичної експертизи, токсикологічних та наркологічних центрів, клінічних лабораторій по вивченню лікарських речовин у біологічних об'єктах.

Джерела інформації:

- 15 1. Машковский М.Д. Лекарственные средства - М.: ООО "Изд-во "Новая волна", 2010. - С. 293-294.
2. Мурзина Э.А. Современные антигистаминные препараты в лечении заболеваний аллергической природы / Э.А. Мурзина // Внутрішня медицина. - 2008. - № 3. - С. 55-59.
3. Лукьянчук В.Д. Сравнительная оценка эффективности и безопасности антигистаминных препаратов первого поколения/ В. Д. Лукьянчук, О.А.Шпулина.// Ринология. - 2007. - № 3. - С. 63-66.
- 20 4. Clarke E.J.C. Isolation and Identification of Drugs in Pharmaceuticals, Body Fluids and Postmortem Material. - London: The Pharm.Press, electronic version, 2005.
5. Мелентьев А.Б. Определение амитриптилина и нортриптилина в крови методом газовой хроматографии с масс-селективным детектором / А.Б. Мелентьев, С.С. Катаев, Е.П. Иванова // Судебно-мед. экспертиза. - 2007. - № 1. - С. 31-34.
- 25 6. Agilent Technologies в Украине. The Essential Chromatography and Spectroscopy Catalog - 2006-2007. - Киев: Изд-во НПВФ "АЛСИ". - 2008. - С. 1250.

### 30 ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

1. Спосіб визначення хлоропіраміну гідрохлориду методом газорідинної хроматографії у відповідності з заданою температурною програмою, який **відрізняється** тим, що як нерухому рідинну фазу використовують суміш 5 %-дифеніл-95 %-диметилполісілоксан, НР-5 0,25 мкм, а температуру колонки лінійно програмують наступним чином: 180 °С протягом 5 хв. з подальшим зростанням температури до 200 °С зі швидкістю 15 °С у хв.; зростання температури від до 200 до 255 °С зі швидкістю 6 °С у хв. і витримування 255 °С протягом 6 хв., причому температура випарника і детектора не перевищує 300 °С.
- 35 2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що як рухому фазу використовують газ-носії гелій зі швидкістю подання у колонку 60,0 мл/хв.
- 40 3. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що аналізують водний розчин хлоропіраміну гідрохлориду з концентрацією 0,25-2,0 мкг/мл.

Комп'ютерна верстка В. Мацело

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