

ственной близости с сельскохозяйственными угодьями. Отсутствие системы взаимооповещения при использовании пестицидов на полях является основной причиной острых отравлений данными ксенобиотиками у полеводов и свидетельствует о необходимости усовершенствования организационных и гигиенических мер профилактики.

Анализ клинических проявлений у 348 пострадавших с острыми отравлениями гербицидами на основе 2,4-Д в процессе динамического наблюдения в течение 6-10 лет показал, что основными синдромами интоксикации в острый период были головная боль и головокружение (100 %), жжение открытых участков кожи и слизистых оболочек (100 %), резь в глазах и першение в горле (88,5 %), онемение кистей и стоп (72,1 %), тошнота и рвота (64,9 %), боли в области сердца (41,4 %), учащенное сердцебиение (21,8 %), одышка (19,5 %), боли в правом подреберье (18,9 %), боли в эпигастральной области (10,9 %). Сопоставление клинико-лабораторных показателей позволило выявить основные клинические синдромы острого отравления гербицидами на основе 2,4-Д: астено-вегетативный синдром (92,0 %), токсическая энцефалопатия (8 %), вегетативно-сенсорная полиневропатия верхних и нижних конечностей (82,8 %), токсическая кардиомиопатия (40,8 %), токсическая гепатопатия (12,1 %), умеренновыраженная гипохромная анемия (9,2 %) и острый эрозивный гастрит (2 %). Динамическое наблюдение показало, что астено-вегетативный синдром I степени регрессировал в течение первых 3-х лет в 60 % случаев, тогда как данный синдром II степени выраженности стойко держался и характеризовался довольно частыми симпато-адреналовыми кризами. Не отмечено регресса и в течении токсической энцефалопатии, а у половины больных с данным синдромом отмечалось прогрессивное течение с нарастанием когнитивных нарушений. Течение вегетативно-сенсорной полиневропатии характеризовалось медленным регрессом сенсорных нарушений. Проявления токсической кардиомиопатии и гепатопатии в 40-50 % случаев носили прогрессивный характер. Установлено, что прогрессивный характер клинических синдромов острого отравления гербицидами на основе 2,4-Д наблюдался у больных с наиболее высокими показателями оксидативного стресса на фоне угнетения антиоксидантной системы, с повышенными уровнями эндотоксикоза и с выраженными иммунологическими сдвигами (дисбалансом в системе Т- и В-лимфоцитов с нарушениями внутриклеточного метаболизма в иммуннокомпетентных клетках и с высоким уровнем мелких патогенных циркулирующих иммунных комплексов). Выявленные особенности клинико-лабораторных показателей

позволили дифференцировать комплексы лечебно-реабилитационных мероприятий.

### ИЗУЧЕНИЕ УСЛОВИЙ ПРОВЕДЕНИЯ ДЕРИВАТИЗАЦИИ ПЕРВИЧНЫХ И ВТОРИЧНЫХ АЛИФАТИЧЕСКИХ АМИНОВ ДАНСИЛХЛОРИДОМ НА ПЛАСТИНАХ ДЛЯ НОРМАЛЬНОФАЗНОЙ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Клименко Л. Ю., Болотов В. В., Костина Т. А.  
*Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина*

Дериватизация дансилхлоридом (ДНС-Cl) широко используется в анализе аминокислотной последовательности белков и полипептидов. Проведение анализа можно описать следующим образом: ДНС-Cl реагирует с непротонированной  $\alpha$ -аминогруппой пептида с образованием дансильного производного пептида (ДНС-пептида). Эта реакция проводится в щелочной среде в смешанном водно-органическом растворителе.

Что касается значения pH среды, оптимального для проведения анализа, то дансилхлорид взаимодействует с непротонированной аминогруппой в щелочной среде только при  $\text{pH} > 9$ . Однако с повышением pH среды растет вероятность протекания конкурирующей реакции — гидролиза органического реагента. При  $\text{pH} > 9,6$  константа скорости реакции гидролиза резко возрастает, и гидролиз протекает очень интенсивно, что приводит к полной деструкции реагентов реакционной смеси уже при  $\text{pH} = 10$ . Таким образом, оптимальное значение pH для реакции дериватизации составляет 9,5 — 9,6.

Для поддержания pH реакционной смеси авторы предлагают использовать 500 мМ боратный буферный раствор с pH 9,6, другие исследователи используют 40 мМ литий-карбонатный буферный раствор с pH 9,5 или 200 мМ натрий-гидрокарбонатный буферный раствор с pH 9,5.

Все вышеизложенное касается проведения дансильирования в растворе.

Нами исследована возможность и изучены условия проведения реакции дансильирования непосредственно на хроматографических пластинах для нормальнофазной ТСХ. Для экспериментальной работы были использованы пластины Sorbfil ПТСХП-В (силикагель СТХ-1ВЭ, тип подложки — ПЭТФ, связующее — силиказоль, фракция — 8/12 мкм, толщина слоя — 100 мкм). Предварительно проводили модификацию пластин следующими способами:

- однократное элюирование в метаноле;
- однократное элюирование в метаноле, обработка водой дистиллированной и высушивание при 100°C в течение 5 минут;
- однократное элюирование в метаноле, обработка 0,1 М метанольным раствором гидрок-

сида калія и высушивание при 100°C в течение 30 минут;

- однократное элюирование в метаноле, обработка 500 мМ боратным буферным раствором с рН 9,6 и высушивание при 100°C в течение 30 минут.

Для пластин, модифицированных по первому и второму типу, дериватизацию проводили двумя способами: 1) в точку на линии старта вводили пробу амина (от 1 до 10 мкг) и высушивали, затем вводили 2 мкл 500 мМ боратного буферного раствора с рН 9,6 и 5 мкл раствор дансилхлорида с концентрацией 0,75 мг/мл в ацетоне; 2) в точку на линии старта вводили пробу амина (от 1 до 10 мкг) и высушивали, затем вводили 5 мкл раствор дансилхлорида с концентрацией 0,75 мг/мл в ацетоне и 2 мкл 500 мМ боратного буферного раствора с рН 9,6.

Для пластин, модифицированных по третьему и четвертому типу, дериватизацию проводили следующим способом: в точку на линии старта вводили пробу амина (от 1 до 10 мкг) и высушивали, затем вводили 5 мкл раствор дансилхлорида с концентрацией 0,75 мг/мл в ацетоне.

После проведения дериватизации пластины элюировали в системе растворителей хлороформ — метанол (9:1) в присутствии свидетелей — дансилкислоты (получали путем обработки дансилхлорида раствором калия гидроксида) и дансиламида (получали путем обработки дансилхлорида концентрированным раствором аммиака), высушивали и просматривали в УФ-свете ( $\lambda = 366$  нм) — пятна дансилпроизводных изучаемых аминов светятся ярким желтым светом, дансиламида — бирюзовым, дансилкислоты — голубым, избыток дансилхлорида в УФ-свете не имеет окрасивания.

Необходимо отметить, что для пластин первого и второго типа использование второй методики не имело положительного результата, так же как и использование пластин четвертого типа. Во всех остальных случаях дериватизация прошла успешно, при этом наблюдалась значительное уменьшение времени протекания реакции — с 30-60 до 1-2 минут.

### **ФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ КЕТОТИФЕНУ**

Болотов В.В., Мирошниченко Ю.О.,  
Клименко Л.Ю., Ахмедов Е.Ю.

*Національний фармацевтичний університет, м.  
Харків, Україна*

*Донецький національний медичний університет ім.  
М. Горького, м. Донецьк, Україна*

Для кількісного визначення кетотифену в біологічних рідинах та витягах з біологічного матеріалу здебільшого застосовуються методи газорідинної та високоефективної рідинної хрома-

тографії. Проте, в хіміко-токсикологічному аналізі дуже добре себе зарекомендували прості та експресні методики кількісного визначення з використанням оптичних методів аналізу, таких як спектрофотометрія та екстракційна фотометрія.

Для кількісного визначення кетотифену фумарату описано різноманітні спектрофотометричні та екстракційно-фотометричні методики, проте їх застосування обмежується лише аналізом лікарських форм. Мінімальна концентрація препарату, що може бути визначена за зазначеними методиками, не перевищує 20 мкг/мл.

У зв'язку з цим нами розроблено методики УФ-спектрофотометричного та екстракційно-фотометричного визначення кетотифену фумарату (з використанням кислотно-основного індикатора метилового оранжевого), що можуть бути застосовані для цілей хіміко-токсикологічного аналізу.

Для розробки методики спектрофотометричного визначення кетотифену фумарату нами було знято УФ-спектр абсорбції кетотифену фумарату та кетотифену у 0,1 М розчині кислоти хлористоводневої. Паралельно було отримано УФ-спектр фумарової кислоти у 0,1 М розчині кислоти хлористоводневої, молярна концентрація якої дорівнювала молярній концентрації досліджуваного розчину кетотифену фумарату.

Визначення проводили на спектрофотометрі СФ-46 у діапазоні довжин хвиль 220 — 350 нм в кюветі з товщиною шару 10 мм; як розчин порівняння використовували 0,1 М розчин кислоти хлористоводневої.

Максимум абсорбції для кетотифену та кетотифену фумарату спостерігали за однакової довжини хвилі 301 нм; для розчину фумарової кислоти поглинання за цієї довжини хвилі практично відсутнє (не перевищує фонових показників), тому зазначену довжину хвилі використовували для спектрофотометричного визначення кетотифену.

Світлопоглинання розчинів підлягає закону Бугера-Ламберта-Бера в межах концентрацій від 2 мкг до 28 мкг в 1 мл розчину. Результати кількісного визначення кетотифену в розчинах за допомогою розробленої методики свідчать, що відносна невизначеність середнього результату становить  $\pm 1,71\%$ .

Для розробки методики екстракційно-фотометричного визначення кетотифену використовували водні розчини кетотифену фумарату. Визначення проводили на фотоелектроколориметрі КФК-2 (світлофільтр з  $\lambda_{\text{еф}} = 540 \pm 10$  нм). Як розчин порівняння використовували хлороформ.

Нами встановлено, що 0,02% розчин метилового оранжевого утворює з кетотифеном у кислому середовищі ацетатного буферного розчину іонні асоціати, що екстрагуються хлороформом.