

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
Волинський національний університет імені Лесі Українки
Факультет хімії та екології
Кафедра неорганічної та фізичної хімії

На правах рукопису

Плескун Анна Яківна

МЕТОДИ ВИЗНАЧЕННЯ УРЕГІТУ

Спеціальність: 102 «Хімія»

Освітньо-професійна програма «Хімія»

Робота на здобуття освітнього ступеня «Магістр»

Науковий керівник:

КОРОЛЬЧУК СВІТЛАНА ІВАНІВНА

кандидат хімічних наук, доцент

РЕКОМЕНДОВАНО ДО ЗАХИСТУ

Протокол № _____

засідання кафедри неорганічної та фізичної хімії

від _____ 20__ р.

Завідувач кафедри

проф. Гулай Л. Д. _____

ЛУЦЬК – 2025

АНОТАЦІЯ

Плескун А.Я. Методи визначення урегіту. Спеціальність 102 «Хімія».
– Волинський національний університет імені Лесі Українки, Луцьк, 2025 р.

Розглянуто та охарактеризовано відомі на сьогодні методи визначення урегіту. Основна увага зосереджена на фотометричних, потенціометричних та хроматографічних методах визначення. Проаналізовано їх переваги та недоліки.

Показано можливість взаємодії основних барвників з урегітом та утворенням іонних асоціатів. Встановлені оптимальні умови екстракційно-фотометричного їх визначення, зокрема, впливу рН середовища, концентрації барвника, висолювача, складу іонних асоціатів. На основі отриманих даних розроблена нова екстракційно-фотометрична методика визначення урегіту.

Показана також можливість визначення урегіту потенціометрично. Встановлено залежність електрохімічних характеристик іонселективних електродів на основі іонних асоціатів з основними барвниками від вмісту електродоактивної речовини, рН розчину, природи пластифікатора та інших чинників. На основі отриманих даних розроблено нову потенціометричну методику визначення урегіту.

Ключові слова: урегіт, іонний асоціат, основний барвник, іонселективний електрод, сенсор. оптимальні умови визначення, пластифікатор, мембрана.

SUMARRY

Pleskun A. Ya. Methods for the determination of uregit. Specialty: 102 Chemistry. Lesya Ukrainka Volyn National University. Lutsk, 2025.

This work reviews and characterizes the currently known methods for the determination of uregit. The main focus is on photometric, potentiometric, and chromatographic methods. Their advantages and disadvantages are analyzed.

The possibility of interaction between basic dyes and uregit to form ionic associates is demonstrated. The optimal conditions for their extraction-photometric determination were established, including the influence of medium pH, dye concentration, salting-out agent, and the composition of ionic associates. Based on the data obtained, a new extraction-photometric method for the determination of uregit was developed.

The possibility of determining uregit potentiometrically is also shown. The dependence of the electrochemical characteristics of ion-selective electrodes based on ionic associates with basic dyes on the content of the electroactive substance, solution pH, the nature of the plasticizer, and other factors was established. Based on the data obtained, a new potentiometric method for the determination of uregit was developed.

Keywords: uregit, ionic associate, basic dye, ion-selective electrode, sensor, optimal determination conditions, plasticizer, membrane.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК	УМОВНИХ
ПОЗНАЧЕНЬ.....	6
ВСТУП.....	7
РОЗДІЛ 1. ВЛАСТИВОСТІ ТА МЕТОДИ ВИЗНАЧЕННЯ	
УРЕГІТУ.....	9
1.1. Властивості урегіту.....	9
1.1.1. Хімічні та фізичні властивості урегіту.....	9
1.1.2. Фізіологічна та патологічна роль	
урегіту.....	11
1.2. Методи визначення урегіту.....	18
1.2.1. Оптичні методи визначення	
урегіту.....	18
1.2.2. Потенціометричні методи визначення	
урегіту.....	21
1.2.3. Хроматографічні методи визначення	
урегіту.....	22
РОЗДІЛ 2. МЕТОДИКА ТА ТЕХНІКА	
ЕКСПЕРИМЕНТУ.....	25
2.1. Приготування вихідних розчинів та	
реактивів.....	25
2.2. Техніка експерименту та використана	
апаратура.....	26
2.3. Синтез іонних	
асоціатів.....	27
2.4. Приготування полівілхлоридної	
мембрани.....	27
РОЗДІЛ 3. ЕКСТРАКЦІЙНО-ФОТОМЕТРИЧНЕ	
УРЕГІТУ.....	28

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ОБ – основний барвник

ПВХ – полівінілхлорид

ІА – іонний асоціат

ДБФ – дибутилфталат

ДОФ – диоктилфталат

ДБС – дибутилсебацинат

ТКФ – трикризилфосфат

ДНФ – динонілфталат

ЦГН – циклогексанон

МЗ - малахітовий зелений

БІК – бензтіазолоіндокарбоціанін

ІЖ – індоліновий жовтий

КФ – кристалічний фіолетовий

БЗ – брильянтовий зелений

ВСТУП

Загострення екологічного стану навколишнього середовища, підвищення вимог до якості матеріалів сучасної техніки, необхідність розширення методів діагностики початкових стадій захворювань людини висувають жорсткі вимоги до методів контролю за станом природних об'єктів та за ходом різноманітних процесів у біологічних системах.

Урегін, як ендогенна біологічно активна сполука, відіграє ключову роль у регуляції численних фізіологічних процесів в організмі. Його аномальні концентрації асоційовані з розвитком і прогресуванням низки патологічних станів, зокрема, метаболічних порушень, захворювань нирок, печінки та серцево-судинної системи. Точне кількісне визначення урегіту в біологічних рідинах, таких як кров, сеча та плазма, є критично важливим для ранньої діагностики, моніторингу ефективності лікування та проведення фундаментальних біохімічних досліджень.

Надійне визначення концентрації урегіту в біологічних рідинах є важливим інструментом для клінічної практики та наукових досліджень. Незважаючи на потенційну цінність урегіту як біомаркера, його клінічне застосування все ще обмежене. Це пов'язано, зокрема, з відсутністю стандартизованих аналітичних методів та необхідністю проведення масштабних клінічних досліджень для встановлення точних референтних значень у різних популяціях. Розробка простих, надійних та доступних методик, подібних до тих, що описуються в даній роботі, є ключовим кроком до розширення його використання в рутинній діагностиці.

Актуальність теми дослідження обумовлена необхідністю пошуку нових ефективних аналітичних форм для визначення урегіту, що може бути зреалізоване методами аналітичної хімії з використанням іонних асоціатів.

Мета і завдання дослідження. Мета – обґрунтувати можливість аналітичного застосування іонних асоціатів урегіту з основними барвниками та розробити нові екстракційно-фотометричну та потенціометричну методики визначення урегіту та апробувати їх.

Для досягнення поставленої мети необхідно вирішити такі завдання:

- пошук та аналіз літературних джерел;
- встановити оптимальні умови утворення та екстракції іонних асоціатів урегіту з основними барвниками;
- виготовити іоноселективні електроди (ІСЕ), що містять виділені у твердому вигляді ІА як електродоактивну речовину (ЕАР) із полівінілхлоридними мембранами, що відрізняються за вмістом і природою пластифікатора й електродоактивної речовини;
- вивчити вплив складу мембрани електродів на основні хіміко-аналітичні характеристики (рН, чутливість, крутизну і межі лінійного нахилу електродної функції, відтворюваність потенціалу, час відклику та життя), а також на потенціометричну селективність таких ІСЕ щодо ряду іонів й органічних речовин;
- розробити методики екстракційно-фотометричного та потенціометричного визначення урегіту та визначити їх основні метрологічні характеристики.

Об'єкт дослідження – іонні асоціати урегіту з основними барвниками.

Предмет дослідження – використання основних барвників як аналітичних реагентів для визначення урегіту; електроаналітичні характеристики урегіт-чутливих сенсорів.

Методи дослідження – фотометрія, потенціометрія.

Апробація результатів. Результати роботи були представлені на XII Міжнародній науково-практичній конференції Perspectives of contemporary science: theory and practice (м. Львів, 2025 р.).

Структура та обсяг роботи. Магістерська робота складається зі вступу, 4 розділів, висновків, списку використаної літератури та містить 46 сторінки.

РОЗДІЛ 1. ВЛАСТИВОСТІ ТА МЕТОДИ ВИЗНАЧЕННЯ УРЕГІТУ

1.1. Властивості урегіту

1.1.1. Хімічні та фізичні властивості урегіту

Етакринова кислота (Etacrynic acid) - це потужний петлевий діуретик (рис.1). Її хімічна назва: [2,3-дихлоро-4-(2-метиленбутирил)фенокси]ацетатна кислота. Вона є похідною феноксиацетатної кислоти. Молекулярна формула - $C_{13}H_{12}Cl_2O_4$, молекулярна маса - 303,14 г/моль.

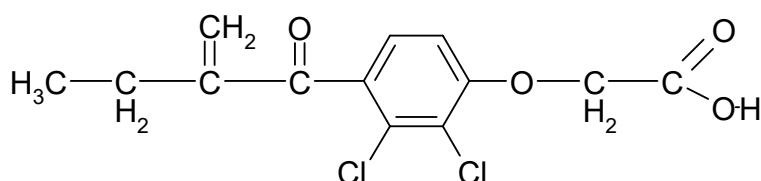


Рис. 1. Структурна формула урегіту

Етакринова кислота існує у вигляді білого або майже білого кристалічного порошку, практично нерозчинного у воді, але добре розчинного у спирті, хлороформі та розведених лугах. Через наявність вільної карбоксильної групи вона є кислотою. Її температура плавлення становить приблизно 121-124 °C [1].

Етакринова кислота (Etacrynic acid) є похідною феноксиоцтової кислоти. Її хімічна структура включає кілька функціональних груп, що зумовлюють її хімічну реакційну здатність: ароматичне кільце, вільна карбоксильна група (-COOH), ароматичні атоми хлору та кето-група (C=O).

Кислотні властивості. Наявність карбоксильної групи: Головною хімічною властивістю етакринової кислоти є її кислотність, обумовлена наявністю вільної карбоксильної групи (-COOH). У водних розчинах вона дисоціює, віддаючи протон, що дозволяє їй утворювати солі з лугами. Це

також пояснює її розчинність у розведених лугах, тоді як у воді вона практично нерозчинна [2].

Реакції ароматичного кільця. Електрофільне заміщення: Ароматичне кільце етакринової кислоти може вступати в реакції електрофільного заміщення. Проте, наявність атома хлору та кето-групи в кільці є дезактиваційними, що знижує реакційну здатність. Завдяки цьому етакринова кислота є відносно стабільною до окислення [1].

Властивості ненасиченої кето-групи. Реакції з нуклеофілами: Кетонна група, розташована поруч з ароматичним кільцем, може вступати в реакції з нуклеофілами. Крім того, подвійний зв'язок у бічному ланцюгу ($-C=CH_2$) може реагувати з нуклеофілами. Ця особливість є важливою з фармакологічної точки зору, оскільки дозволяє їй ковалентно зв'язуватися з сульфгідрильними групами ($-SH$) цистеїнових залишків у білках-переносниках, зокрема в $Na^+-K^+-2Cl^-$ ко-транспортері, що лежить в основі її діуретичного ефекту [3].

Стабільність. Фотохімічна стабільність: Етакринова кислота є чутливою до світла. Тривала дія УФ-світла може призвести до її деградації. Це вимагає зберігання препарату в захищених від світла ємностях [4].

Урегін - етакринова кислота (Etacrynic acid) - це синтетичний органічний діуретик, фізичні властивості якого визначаються її хімічною структурою.

Агрегатний стан та колір: Етакринова кислота - це білий або майже білий кристалічний порошок з характерним запахом.

Температура плавлення: Температура плавлення становить приблизно 121-124 °C. Ця властивість є важливою для ідентифікації та контролю якості речовини [5].

Розчинність: Розчинність етакринової кислоти залежить від полярності розчинника. Вона практично нерозчинна у воді, що пояснюється наявністю великого неполярного ароматичного кільця та хлорових атомів. Однак, вона добре розчиняється у багатьох органічних розчинниках, таких як спирт

(етанол), хлороформ та ацетон. Завдяки наявності карбоксильної групи, етакринова кислота розчиняється у розведених лугах з утворенням солей [1].

Оптичні властивості: Етакринова кислота має оптичну активність і може бути визначена за допомогою спектрофотометричних методів в ультрафіолетовій області, що використовується для її кількісного аналізу в фармацевтичних препаратах [6].

1.1.2. Фізіологічна та патологічна роль урегіту

Урегіт - це ендогенна низькомолекулярна біологічно активна сполука, що відіграє багатогранну роль в обміні речовин і характеризується високою полярністю. Ця властивість зумовлює його хорошу розчинність у водних середовищах, таких як кров, цитоплазма клітин та міжклітинна рідина. Молекулярна маса урегіту дозволяє йому вільно фільтруватися в ниркових клубочках [7].

Метаболічний шлях утворення урегіту залишається предметом активних досліджень. Вважається, що він є побічним продуктом катаболізму (вказіть конкретний метаболічний шлях, наприклад, "азотного обміну"), який відбувається переважно в печінці та нирках. У нормі урегіт ефективно виводиться з організму нирками, тому його концентрація в сечі значно перевищує концентрацію в крові. Це робить вимірювання урегіту в сечі важливим інструментом для оцінки функції нирок [8].

Тривалий час урегіт вважався малозначущим метаболітом, проте сучасні дослідження, проведені з використанням високочутливих аналітичних методів, відкрили його важливі фізіологічні функції, які зосереджені на захисті та адаптації клітин.

Антиоксидантна функція. Урегіт є потужним антиоксидантом, здатним нейтралізувати вільні радикали та реактивні форми кисню (АФК), що утворюються в процесі клітинного дихання та під впливом стресових факторів. Він захищає клітинні структури, такі як ліпіди мембран, білки та ДНК, від окислювального пошкодження [9]. Ця функція особливо важлива

для клітин, що піддаються високим метаболічним навантаженням, наприклад, гепатоцитів або нейронів. Його антиоксидантна активність може бути порівняна з такими відомими ендогенними антиоксидантами, як глутатіон.

Осмопротекторна роль. Урегінт накопичується в цитоплазмі клітин у відповідь на зміни осмотичного тиску навколишнього середовища, зокрема, в умовах гіперосмолярності. Ця функція особливо виражена в клітинах ниркового мозкового шару, де концентрація солей є дуже високою. Урегінт діє як осмопротектор, допомагаючи клітинам підтримувати стабільний об'єм і функцію, запобігаючи їх ушкодженню та апоптозу. Його здатність підтримувати осмотичний баланс є критично важливою для нормальної роботи нирок [10].

Регуляція клітинної сигналізації. Деякі експериментальні дані свідчать про те, що урегінт може виступати в ролі сигнальної молекули, впливаючи на експресію генів, що відповідають за проліферацію, диференціацію та апоптоз. Це відкриває нові перспективи для вивчення його ролі в регуляції клітинного циклу та розвитку тканин [11].

Збільшення концентрації урегіту в біологічних рідинах є важливим індикатором патологічних процесів. Його визначення набуло клінічного значення в діагностиці та моніторингу ряду захворювань.

Захворювання нирок. Найбільш виражене підвищення рівня урегіту спостерігається при хронічній нирковій недостатності (ХНН). При зниженні швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ) порушується виведення урегіту, що призводить до його кумуляції в крові. Встановлено пряму кореляцію між рівнем урегіту та стадією ХНН, що дозволяє використовувати його як біомаркер для оцінки тяжкості захворювання та моніторингу ефективності лікування [12]. Визначення урегіту в поєднанні з іншими маркерами, такими як креатинін та сечовина, забезпечує більш повну картину стану нирок.

Метаболічні порушення. Дослідження показали, що підвищений рівень урегіту виявляється у пацієнтів з цукровим діабетом та метаболічним синдромом [13]. Це може бути як наслідком зниження функції нирок, так і

відображенням порушень у метаболічних шляхах. Надмірне накопичення урегіту в цих умовах може посилювати окислювальний стрес, що є ключовим фактором у розвитку інсулінорезистентності та пошкодженні клітин підшлункової залози. Таким чином, урегіт може розглядатися як один із факторів, що сприяють прогресуванню діабетичних ускладнень.

Серцево-судинні захворювання. Наукові роботи виявили кореляцію між високою концентрацією урегіту та підвищеним ризиком розвитку атеросклерозу та артеріальної гіпертензії [11]. Вважається, що урегіт може спричиняти запалення судинної стінки та ендотеліальну дисфункцію, що є ключовими етапами формування атеросклеротичних бляшок. Крім того, його прооксидантна дія у високих концентраціях може сприяти пошкодженню клітин серцевого м'яза та судин.

Фармакокінетика: кислота етакринова добре адсорбується з травного каналу. У сироватці крові зв'язується з білками. Після прийому всередину дія розпочинається через 20-40 хв, максимум дії – через 1-2 год, тривалість – 4-8 год. Після введення внутрішньовенно ефект настає через 5-15 хв, максимум дії – через 15-30 хв, тривалість 2-3 год. Знешкодження відбувається в печінці. Виводиться з організму головним чином нирками, близько 30 % з жовчю, 20 % виводиться в незмінному стані, близько 40 % - у вигляді метаболітів. У сечу препарат надходить завдяки фільтрації в клубочках і секреції у проксимальних каналцях. Період напіввиведення 0,5-1 год.

Фармакодинаміка: кислота етакринова діє на рівні базальних мембран клітин каналцевого епітелію переважно у висхідній частині петлі нефрону. Вона блокує активність ферментів, які беруть участь в утворенні енергіє окисного фосфорування і гліколізу. У зв'язку з цим енергетичне забезпечення відповідних процесів погіршується, особливо того, який забезпечує реабсорбцію Na і Cl. Крім того, кислота етакринова, впливаючи на базальну мембрану клітин стінки каналців, перешкоджає подальшому перенесенню Na. За рахунок зниження мембранної проникності для Na потреба в енергії для реабсорбції Na підвищується. Кислота етакринова

зменшує чутливість нирок до вазопресину, не блокує карбоангідразу, за тривалого застосування може знижувати артеріальний тиск. Механізм антигіпертензивної дії такий, як у тіазидів. Препарат збільшує виведення з організму хлоридів, бромідів, йодидів тощо, а тому при отруєнні цими речовинами кислота етакринова діє позитивно. Збільшує виведення з сечею магнію та кальцію [1].

Показання : - синдром набрякості різного генезу (при хронічній серцевій недостатності, портальному цирозі печінки, нефротичному синдромі);

- артеріальна гіпертензія (у складі комбінованої терапії).

При лікуванні госпіталізованих дітей віком до 2 років препарат може застосовуватись тільки для нетривалого введення при вроджених пороках серця або нефротичному синдромі.

Протипоказання: таблетки урегит не рекомендується застосовувати в разі

- алергії на будь-які інгредієнти, що входять до складу препарату;
- вагітності та годування груддю, період лактації;
- анурії;
- виражені порушення водно-електролітного балансу і кислотно-лужного балансу;
- печіночна кома;
- тяжкі форми цукрового діабету та подагри.

Застереження при застосуванні. Вагітним жінкам урегит можна призначати тільки у виняткових випадках. Цей препарат виділяється з грудним молоком, тому на час лікування необхідно припинити годування дитини груддю. На початку дікування (період визначається індивідуально) забороняється керувати автомобілем та іншими механічними засобами, а також виконувати роботу, пов'язану з підвищеним ризиком нещасних випадків [14].

Особливі вказівки. Перед початком лікування, можливо, необхідно буде перевірити функціональний стан печінки і нирок. Лікування урегітом потребує особливої уваги стосовно людей похилого віку, при гіповолемії, збільшенні простати, подагрі, метаболічному алкалозі, втраті солей, цирозі печінки. Підвищений діурез може призвести до дегідратації організму, постуральної гіпотензії та в деяких випадках – до тромбоемболічних ускладнень, особливо у хворих похилого віку. Необхідно відкоректувати дозування антикоагулянтів. Показанням до припинення введення етакринової кислоти є поява водянистого випорожнення. Лікар може призначити замінник калію або калійзберігаючі діуретики.

Під час лікування бажано проводити лабораторні дослідження з визначенням кількості електролітів, функціонального стану нирок і печінки, концентрації сечової кислоти в сироватці та цукру в крові [].

Спосіб застосування та дози. Всередину. Звичайно зранку, після їжі.

Для дорослих: початкова доза становить 25-50 мг (1/2 – 1 табл.), яку приймають після сніданку. Цю дозу можна збільшити максимально до 200 мг, до досягнення бажаного ефекту (під контролем добового діурезу та маси тіла хворого). Високі дози рекомендується вводити в декілька прийомів. Таблетки урегіт можна з успіхом комбінувати з іншими діуретиками

Для дітей старше 2 роки звичайною дозою є 25 мг (1/2 табл.), після сніданку.

Передозування. Симптоми: порушення водно-електролітного балансу (гіпокаліємія, гіпохлоремія, гіповолемія); метаболічний алкалоз; артеріальна гіпотензія; аритмія.

Лікування: промивання шлунка: внутрішньовенне введення розчинів лікарських засобів, що корегують електролітний та кислотно-лужний баланс (у тому числі препаратів калію); за необхідності – реанімаційні заходи для відновлення функції дихання та серцево – судинної діяльності.

Побічні ефекти. Найчастіше побічні явища пов'язані з порушенням електролітного балансу, зниження рівня калію (гіпокаліємія) чи натрію (гіпонатріємія). Може спостерігатись гіпохлоремічний алкалоз, зниження кількості циркулюючої крові (гіповолемія), підвищення рівня сечової кислоти в крові (гіперурикемія) та висока концентрація цукру в крові.

Шлунково-кишковий тракт. Анорексія, біль у животі, утруднення ковтання їжі, блювання, діарея (навіть до появи рясного водянистого випорожнення, що є показанням до припинення введення етакринової кислоти). У рідких випадках розвивається гострий панкреатит, виникає шлунково-кишкова кровотеча, змінюється функція печінки та виникає пожовтіння шкіри та склер.

Центральна нервова система. Запаморочення, парестезія, шум або дзвін у вухах (тиніт), порушення слуху, глухота (іноді необоротна), сплутаність свідомості, збудженість, головний біль, порушення зору, слабкість.

Система крові. Зниження кількості тромбоцитів у крові (тромбоцитопенія), відсутність деяких клітин крові (агранулоцитоз), пурпурний шкірний висип унаслідок кровотечі через руйнування невеликих судин (пурпура Шенлейна-Геноха).

Серцево-судинна система. Постуральна гіпотензія.

Інші побічні явища. Шкірний висип, підвищення температури, озноб, кров у сечі, напад подагри.

Взаємодія з лікарськими засобами. Одночасний прийом калійзберігаючих діуретиків і урегіту посилює діуретичну дію препаратів і зменшує гіпокаліємію.

Урегіт потенціює гіпотензивний ефект бета-адреноблокаторів, апресина, верапаміла, ніфедипіна, каптоприла, клонідина, метилдопи, октадина, празозина, резерпіна. При поєднанні препарата з гангліоблокаторами можлива ортостатична гіпотензія.

При одночасному прийомі урегіту з лікарськими засобами, інтенсивно зв'язуючими з білками плазми крові (непрямі антикоагулянти, клофібрат і

ін.), можливе посилення діуретичного ефекту, гіпокаліємії, так як в результаті конкуренції за зв'язування з білками концентрація вільної (активної) етакринової кислоти підвищується, що може призвести до кровотечі. В цих випадках необхідне зниження дози урегіту, особливо у пацієнтів з гіпопротеїнемією [15].

Глюкокортикостероїди при сумісному прийомі з урегітом підвищують частоту розвитку і вираженість гіпокаліємії, понижують антигіпертензивну дію препарата. Можлива поява шлунково-кишкової кровотечі.

Під впливом нестароїдних протизапальних лікарських засобів можливе зменшення ефекту урегіту.

Одночасне застосування урегіту і антибіотиків-аміноглікозидів приводить до збільшення ототоксичної дії препаратів в результаті адитивного ефекту (особливо у хворих з нирковою недостатністю).

Урегіт збільшує ризик нефротоксичної дії антибіотиків-аміноглікозидів і цефалоспоринів при комбінованій терапії.

При одночасному застосуванні урегіту і антибіотиків-тетрациклінів концентрація сечовини в крові підвищується, що особливо небезпечно при нирковій недостатності.

При комбінованому застосуванні урегіту і проносних засобів можлива виражена дегідратація, зниження вмісту в організмі натрію, магнію і калію.

При одночасному застосуванні засобів, які визивають закислення сечі, можливе посилення ефекту урегіту.

Урегіт необхідно застосовувати обережно разом з препаратами літію – збільшується рівень літію, що може призвести до появи симптомів токсичності.

При одночасному застосуванні урегіту з протидіабатичними засобами, що вводяться перорально, знижується ефективність останніх.

Ефективність урегіту знижується при поєднанні його з індометацином.

Форма випуску: таблетки по 0,05 г в упаковці по 20 штук; в ампулах, які містять по 0,05 г натрієвої солі етакринової кислоти, яку розчиняють ізотонічним розчином натрій хлориду або глюкози.

Внутрішньовенно (0,05 г) вводять у випадках, коли необхідний швидкий ефект.

Етакринова кислота гірше переноситься, ніж фуросемід, особливо хворими з нирковою недостатністю

Термін придатності: 5 років.

Ототоксичність ліків. Клінічні та експериментальні дослідження вказують, що етакринова кислота є ототоксичною. Найчастіше ці ліки призводять до тимчасової нейросенсорної приглухуватості яка асоціюється з шумом у вуха та іноді з запамороченням, починається через кілька хвилин після введенням препарату і спонтанно минає протягом 24 годин. Проте в деяких пацієнтів виникає постійна приглухуватість, передусім при наявності ниркової недостатності та при використанні високих доз. Вважають, що частота ототоксичності петлевих діуретиків становить 6-7 %. Більш токсичною вважають етакринову кислоту. Не рекомендують одночасне призначення петлевих діуретиків з іншими ототоксичними препаратами, зокрема аміноглікозидами [16].

1.2. Методи визначення урегіту

1.2.1. Оптичні методи визначення урегіту

Сучасна аналітична хімія пропонує різноманітні підходи для кількісного визначення біологічно активних сполук, серед яких оптичні методи займають важливе місце. Ці методи є особливо цінними в умовах, де відсутній доступ до дорогого хроматографічного обладнання.

Спектрофотометричні методи є класичним інструментом аналітичної хімії, що ґрунтується на вимірюванні інтенсивності поглинання світла речовиною в розчині. Згідно з роботою [17] урегіт сам по собі не має сильного поглинання у видимій частині спектра. Тому його визначення

проводиться за допомогою колориметричних реакцій, які передбачають утворення забарвленого комплексу при взаємодії урегіту з певним хромогенним реагентом. Інтенсивність утвореного забарвлення вимірюється на спектрофотометрі і прямо пропорційна концентрації аналіту згідно із законом Ламберта-Бера.

У статті [18] детально описується розроблений та валідований спектрофотометричний метод для кількісного визначення урегіту в сечі. Автори наголошують, що для забезпечення точності результатів критично важливою є ретельна пробопідготовка, зокрема осадження білків. Згідно зі статтею для кількісного визначення урегіту в біологічних рідинах може бути використана методика, що ґрунтується на реакції урегіту з діазотованою сульфаніловою кислотою. Ця реакція призводить до утворення азобарвника, який має сильне поглинання у видимій частині спектра. Автори наголошують на важливості ефективного осадження білків, що може бути досягнуто за допомогою трихлорацетатної кислоти, щоб уникнути інтерференції з боку білкових фракцій зразка.

Переваги: Висока чутливість, що дозволяє виявляти урегін у низьких концентраціях.

Незважаючи на ефективність, спектрофотометричні методи мають суттєві обмеження. Як зазначають [19] головним недоліком є інтерференція з боку інших компонентів біологічної матриці, що можуть реагувати з хромогенним реагентом або поглинати світло на тій же довжині хвилі. Це може призводити до хибнопозитивних або неточних результатів. Таким чином, хоча спектрофотометрія є доступним і простим методом, її застосування вимагає обережності та додаткових заходів для забезпечення специфічності.

На противагу спектрофотометрії, флуориметричні методи базуються на явищі флуоресценції, тобто випромінюванні світла речовиною після її збудження. Ці методи, як правило, значно більш чутливі, що робить їх

привабливими для аналізу біологічних зразків з низькою концентрацією аналіту.

У роботі [20] розглядаються флуоресцентно-засновані методи для детекції урегіту. Автори зазначають, що урегіт може реагувати з певними флуоресцентними зондами або ж сам по собі мати природну флуоресценцію, що дозволяє його ідентифікувати та кількісно визначити. Перевагою цих методів є висока чутливість, що дозволяє досягти надзвичайно низьких меж виявлення. Це особливо важливо для аналізу урегіту в плазмі крові, де його концентрація значно нижча, ніж у сечі. Однак, як і у випадку зі спектрофотометрією, на результати можуть впливати матричні ефекти та наявність інших флуоресцентних сполук.

У статті [21] проводиться порівняльний аналіз оптичних методів (спектрофотометрії та флуориметрії) з більш досконалішими, такими як ВЕРХ-МС/МС. Автори підтверджують, що хоча спектрофотометрія є значно дешевшою та простішою, вона не може забезпечити таку високу специфічність і низькі межі кількісного визначення, як мас-спектрометричні підходи. Мас-спектрометрія дозволяє ідентифікувати речовину за її унікальною масою, що значно мінімізує вплив інтерференції. .

Незважаючи на обмеження, оптичні методи залишаються важливим інструментом для визначення урегіту. Вони є ідеальним вибором для рутинного скринінгу та попередньої оцінки концентрації в умовах, де доступ до дорогого хроматографічного обладнання обмежений. Таким чином, вибір конкретного методу повинен ґрунтуватися на балансі між необхідною точністю, специфічністю та доступністю ресурсів.

В роботі [22] представлено методи визначення урегіту на основі реакції з ароматичними альдегідами. Ці методи є одними з найпоширеніших у спектрофотометрії урегіту. Вони базуються на реакції конденсації урегіту з ароматичними альдегідами у кислому середовищі з утворенням забарвлених сполук, які мають максимуми поглинання у видимій частині спектра.

Урегіт реагує з п-диметиламінобензальдегідом у середовищі концентрованої сульфатної кислоти з утворенням забарвленої сполуки, яка має максимум поглинання при довжині хвилі 520 нм. Інтенсивність утвореного забарвлення прямо пропорційна концентрації урегіту.

Цей метод є чутливим, але вимагає обережності при роботі з концентрованою кислотою. Інтерференція можлива з боку інших сполук, що містять аміногрупу.

Показано в статті [23], що етакринова кислота (ЕК) з поліметиновим барвником астрафлосин FF (АФ) утворює йонний асоціат (ІА). Методом математичного моделювання обґрунтовано енергоефективність формування ІА. Молекулярне моделювання систем $ЕК^- + АФ^+$ та пов'язані з ним розрахунки проводили з використанням пакета «HyperChem 8.0» для різноманітних початкових варіантів розташування протиіонів відносно один одного (про-цедура «single point»). Геометричну оптимізацію іонів проводили методом молекулярної механіки ММ+. Отриманні ІА досить добре екстрагуються різними ароматичними вуглеводнями. Максимальне вилучення йонного асоціату з водної фази досягається при рН 4–12. Вивчено вплив концентрації барвника на оптичну густину толуельних екстрактів іонних асоціатів ЕК з АФ. Екстракція ІА досягає максимального значення при концентрації реагенту $(1,5 - 3,0) \cdot 10^{-4}$ М. Рівновага екстракції досягається за 50–60 с. Стехіометрію йонного асоціату етакринової кислоти з АФ встановлено спектрофотометричними методами ізомолярних серій та зсуву рівноваги; співвідношення компонентів складає 1:1. Запропоновано схему утворення та екстракції ІА. Умовний молярний коефіцієнт поглинання ІА становить $1,0 \cdot 10^5$. Градувальний графік залежності оптичної густини екстрактів від концентрації етакринової кислоти описується рівнянням прямої $A = 0,010 + 0,052c$ в інтервалі концентрацій 0,7–45,4 мкг/см³ етакринової кислоти. Межа виявлення ЕК, розрахована за 3s-критерієм ($n = 5$; $P = 0,95$), становить 0,6 мкг/см³. Розроблена методика екстракційно-

фотометричного визначення етакринової кислоти в лікарських формах та біорідинах спортсменів.

1.2.2. Потенціометричні методи визначення урегіту

Метод потенціометричного визначення етакринової кислоти (ЕК) ґрунтується на вимірюванні потенціалу індикаторного електрода, що занурений у розчин і залежить від концентрації іонів. Це один із класичних електрохімічних методів, який дозволяє визначити точку еквівалентності під час титрування.

Принцип полягає в потенціометричному титруванні, де як титрант використовується стандартний розчин лугу натрій гідроксиду. Етакринова кислота є слабкою кислотою, тому в розчині вона дисоціює. Під час титрування концентрація іонів етакринової кислоти у розчині зменшується, що призводить до зміни потенціалу скляного індикаторного електрода. Потенціал вимірюється відносно електрода порівняння (наприклад, хлорсрібного, Ag/AgCl).

Метод дозволяє точно визначити точку еквівалентності, особливо за допомогою диференціальних кривих. Підходить для аналізу як чистих речовин, так і фармацевтичних форм (наприклад, таблеток), де наявність інших компонентів може ускладнювати візуальне визначення точки кінця титрування.

Процес може бути повністю автоматизований за допомогою автоматичних титраторів, що значно підвищує швидкість та відтворюваність аналізу [24-26].

1.2.3. Хроматографічні методи визначення урегіту

Хроматографічні методи є одними з найбільш точних і широко використовуваних для визначення етакринової кислоти у різних зразках, включаючи лікарські форми та біологічні рідини. Ці методи дозволяють

відокремлювати ЕК від інших компонентів зразка, що забезпечує високу селективність аналізу.

Автори в роботі [27] описують розробку та валідацію методу обернено-фазової високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) для визначення етакринової кислоти та продуктів її розпаду у фармацевтичних препаратах. Метод є точним, відтворюваним і дозволяє оцінювати стабільність препарату і лікарської форми. Три продукти розпаду були виділені препаративною хроматографією і ідентифіковані декількома методами, в основному ЯМР та мас-спектрометрією. Приведені значення коефіцієнтів розділення для ТШХ та фактори чутливості високоефективної рідинної хроматографії. Приведена схема розпаду фармацевтичних препаратів із профілями стабільності самих препаратів.

Стаття [28] присвячена розробці методу ВЕРХ для визначення етакринової кислоти у біологічній матриці — людській плазмі. Автори описують детальний протокол підготовки зразка, що включає екстракцію, та валідацію методу для фармакокінетичних досліджень.

Твердофазна екстракція – це хроматографічний метод підготовки зразків, який використовується для виділення, очищення та концентрування певних аналітів із матриці зразка перед аналізом. Процес включає селективну адсорбцію аналітів або домішок, що перешкоджають, на твердій стаціонарній фазі (сорбенті), що потім дозволяє селективно елюювати потрібні сполуки за допомогою різних розчинників. ТФЕ широко використовується в аналітичній хімії для видалення речовин, що перешкоджають, спрощення складних зразків та підвищення чутливості та точності подальших хроматографічних аналізів, таких як ВЕРХ, ГХ та мас-спектрометрія.

У роботі [29] розроблено високочутливий та селективний ВЕРХ-метод для одночасного визначення етакринової кислоти та її метаболіту — цистеїнового кон'югату — у біологічних зразках. Стаття демонструє, як

хроматографія може бути використана для складних фармакокінетичних досліджень.

Фармакопейний метод ВЕРХ дозволяє відокремити етакринову кислоту від інших компонентів у зразку, таких як допоміжні речовини (наповнювачі, зв'язуючі агенти) або домішки, а потім точно виміряти її кількість. Процедура зазвичай включає такі етапи:

Підготовка зразка: Наважку препарату (наприклад, таблетки) розчиняють у спеціальному розчиннику, який є частиною рухомої фази. Це дозволяє перевести ЕК в розчин для подальшого аналізу.

Інжекція: Невеликий об'єм отриманого розчину вводиться в хроматографічну систему.

Розділення: Рухома фаза під високим тиском проходить через колонку, заповнену нерухомою фазою (сорбентом). Залежно від хімічної природи, етакринова кислота та інші компоненти зразка взаємодіють з сорбентом з різною силою, що призводить до їхнього розділення. Для аналізу ЕК зазвичай використовують обернено-фазові колонки.

Детектування: Після виходу з колонки ЕК проходить через детектор. Стандарти USP та Ph. Eur. найчастіше вимагають використання УФ-детекторів, оскільки етакринова кислота має сильне поглинання при певній довжині хвилі (наприклад, близько 270 нм). Інтенсивність сигналу детектора пропорційна концентрації етакринової кислоти [25].

Кількісне визначення: Кількість етакринової кислоти розраховується шляхом порівняння площі піка ЕК у зразку з площею піка стандартного зразка, який аналізувався в тих же умовах.

РОЗДІЛ 2. МЕТОДИКА ТА ТЕХНІКА ЕКСПЕРИМЕНТУ

2.1. Приготування вихідних розчинів та реагентів

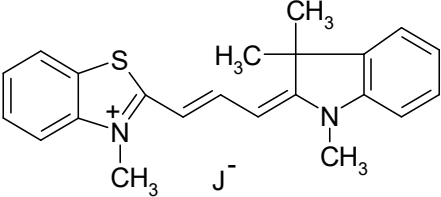
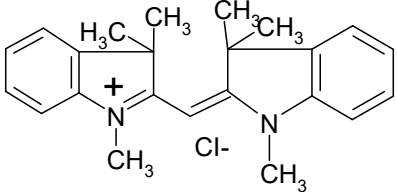
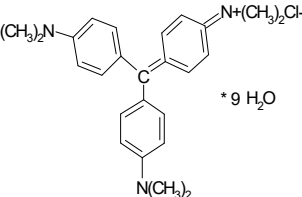
Для виконання експерименту готували вихідний стандартний розчин урегіту з концентрацією $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л. Для цього точну наважку етакринової кислоти розчиняли в дистильованій воді. Робочі розчини урегіту $1 \cdot 10^{-3}$ – $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л готували послідовним розведенням бідистиллятом вихідного розчину в день експерименту.

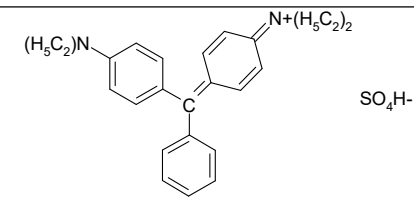
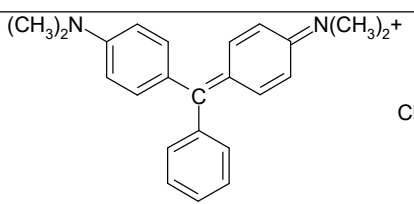
Вихідні розчини барвників $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л готували розчиненням точної наважки препарату у водно-спиртовому розчині у співвідношенні 10:1. Робочі розчини $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л готували шляхом розведення відповідних вихідних розчинів у день експерименту.

Структурні формули основних барвників наведено в таблиці 2.1.

Таблиця 2.1

Структурні формули використаних барвників

Назва барвників	Структурна формула барвника
Бензтіазолоіндокарбоціанін (БІК); 3-Methyl-2-{(E)-3-[1,3,3-trimethyl-1,3-dihydro-indol-(2E)-ylidene]-propenyl}-benzothiazol-3-ium; iodide	
Індоліновий жовтий; 1,3,3- триметиліндолін; 1,3,3-триметил-2-вініл-індол-1-іум хлорид	
Кристалічний фіолетовий	

Брильянтовий зелений	
Малахітовий зелений	

Для роботи використовували 4 М $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ та 2 М Na_2SO_4 розчини, які одержували розчиненням у дистильованій воді точної наважки їх солей.

Кислотність середовища регулювали за допомогою універсального буферного розчину із відповідним значенням рН (до 100 мл 0,04 моль/л суміші фосфорної, ацетатної та борної кислот додававши відповідний об'єм 0,2 н натрій гідроксиду). Значення рН контролювали йономіром И-160М.

Для екстракційно-фотометричного визначення використовували органічний розчинник – толуен „х.ч”.

Для підбору оптимального складу мембранних урегит селективних сенсорів використовували пластифікатори – дибутилфталат (ДБФ), диоктилфталат (ДОФ), дибутилсебаценат (ДБС), динонілфталат(ДНФ), трикрезилфосфат (ТКФ).

2.2. Техніка експерименту та використана апаратура

Екстракційно-фотометричне визначення урегіту проводили з основними барвниками (ОБ) при температурі $(18 - 20\text{ }^{\circ}\text{C})$ в пробірках із притертими корками. Застосовували наступний порядок зливання реактивів: в пробірки вводили 0,5 мл відповідного буферного розчину, 0,5 мл $1 \cdot 10^{-3}$ М розчину урегіту, 2 мл 2 М розчину натрій сульфату (якщо це є необхідним), 0,5 мл $1 \cdot 10^{-3}$ М розчину ОБ, та доводили дистильованою водою об'єм водної фази до 5 мл, утворивши іонний асоціат (ІА). Додавали 5 мл органічного розчиннику толуену і екстрагували протягом 1 хвилини. Після розділення

фаз екстракти відділяли, та знімали спектри поглинання на спектрофотометрі СФ-2000 в кварцових кюветах. Паралельно проводили контрольний дослід.

Йометричне визначення урегіту проводили на іонометрі І-160М (похибка вимірювання $\pm 1\text{мВ}$) в якості електроду порівняння використовували аргентумхлоридний електрод. Визначення проводили при температурі 25°C .

2.3. Синтез іонних асоціатів

Головний компонент йонселективного електроду (ІСЕ) - іонний асоціат кристалічного фіолетового та урегіту, брильянтового зеленого та урегіту, малахітового зеленого та урегіту, астрафлоксину та урегіту - були синтезовані по достатньо простій методиці. Спочатку готували 10^{-2} М розчини кристалічного фіолетового, брильянтового зеленого, малахітового зеленого та урегіту. Потім, по краплинах, при постійному перемішуванні, до основного барвника додали розчин урегіту і залишили при кімнатній температурі на 2 години для відстоювання. Осад, що випав, відфільтрували та декілька разів декантували холодною дистильованою водою, після чого висушували при кімнатній температурі на повітрі протягом 48 год.

2.4. Приготування полівінілхлоридної мембрани

Пластифіковані полівінілхлоридні мембрани готували згідно рекомендацій таким чином: зважували 0,1 г полівінілхлориду (ПВХ), відповідну кількість виділеного ІА (щоб концентрація складала 5 – 25 % від загальної маси мембрани), а потім суміш ретельно перемішували для гомогенізації у порцеляновому тиглі. Після цього додавали 0,1 мл пластифікатора дибутилфталат (ДБФ), диоктилфталат (ДОФ), дибутилсебацинат (ДБС), трикризилфосфат (ТКФ), динонілфталат (ДНФ), 0,5 мл розчинника циклогексанону (ЦГН). Отриманий розчин переносили в форму (кільце діаметром 1,7 см), попередньо відшліфоване і притерте до скляної підложки. Все просушували на повітрі протягом 1-2 доби.

РОЗДІЛ 3. ЕКСТРАКЦІЙНО - ФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ УРЕГІТУ

Утворення іонних асоціатів із основними барвниками значною мірою залежить від природи аніону. Найчастіше використовують саме аніонні галогенідні комплекси металів. Селективність цих методів визначається здатністю катіонів металу утворювати аніонні комплекси.

На утворення та екстракцію ІА значною мірою впливає стійкість комплексів. Під час проведення екстракційно-фотометричного визначення в таких системах завжди необхідно врахувати значення “нульового досліду”.

Під час вивчення екстракційної системи важливо врахувати природу ацидоліганду (оскільки у водних розчинах катіони металів із молекулами води утворюють координаційні сполуки, а залежно від концентрації лігандів можуть утворювати змішані комплекси), кислотність середовища, концентрацію барвника, природу розчинника-екстрагента.

Виконуючи екстракційно-фотометричні дослідження з використанням поліметинових барвників, інколи потрібно домагатися не максимального вилучення ІА, а задовольнятися різницею оптичних густин екстрактів іонних асоціатів та простої солі барвника, тільки тоді досягається максимальна селективність, висока чутливість і точність визначень [23, 30-36].

3.1. Встановлення оптимальних умов визначення

Для встановлення оптимальних умов утворення та екстракції ІА урегіту з ОБ необхідно вивчити вплив зміни концентрації кожного компонента, при постійних концентраціях інших компонентів. Оптимальною вважаємо ту концентрацію компонента, при якій різниця між оптимальною густиною розчинів в присутності урегіту і за його відсутності була максимальною і постійною.

3.1.1. Вплив рН розчину

Одним із визначальних факторів, що керує процесом комплексоутворення, є концентрація іонів H^+ у розчині. В залежності від кислотності водної фази змінюється реакційна здатність барвника й, відповідно, форма йону.

Для прикладу на (рис. 3.1.) показано вплив рН середовища на утворення та екстракцію ІА урегіту та БІК.

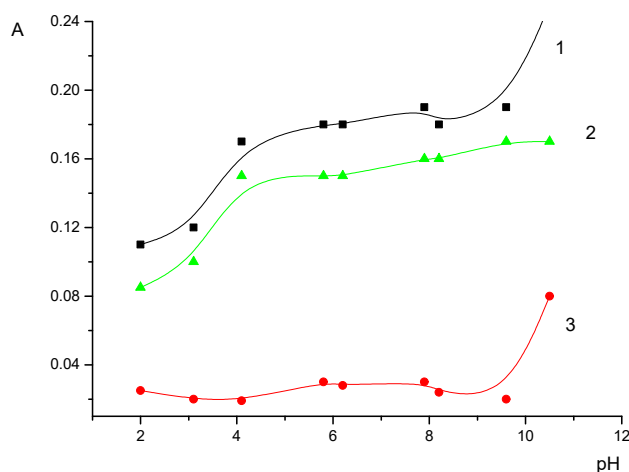


Рис. 3.1. Вплив кислотності середовища на екстракцію ІА урегіту. 1 – ІА, 3 – „нульовий розчин”, 2 – різниця між комплексом та „нульовим” розчинами

Встановлено, що основний барвник поліметинового ряду – БІК у водному середовищі реагує з урегітом з утворенням забарвленого іонного асоціату, який екстрагується органічними розчинниками в широких межах кислотності середовища. Екстракцію доцільно проводити в межах рН 5 – 9, так як в цих умовах спостерігається максимальне значення ступеня вилучення ІА, а значення оптичної густини „нульового досліджу” є мінімальним. Окрім того, за цих умов досягається максимальна стійкість забарвлення органічного шару щонайменше кілька годин.

Аналогічно було досліджено вплив рН середовища водної фази на утворення та екстракцію ІА урегіту з індоліновим жовтим.

3.1.2. Вплив концентрації барвників

Екстракційна здатність ІА з ОБ значною мірою залежить від природи ОБ, який входить до складу ІА, тобто від структури реагенту. Дослідження впливу концентрацій використаних основних барвників на екстракцію ІА урегіту показали, що такі залежності описуються кривими насичення.

Концентрацію барвників змінювали в інтервалі від $2,0 \cdot 10^{-5}$ до $3,5 \cdot 10^{-4}$ моль/л. Отримана залежність подана на (рис. 3.2.) для БІК. Аналогічна залежність отримана і для іншого барвника.

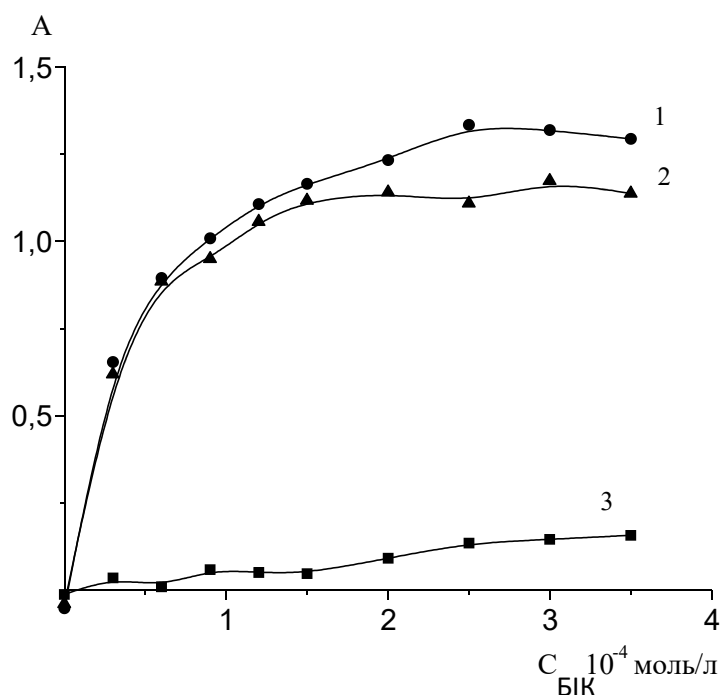


Рис. 3.2. Вплив концентрації бензтіазолоіндокарбоціаніну на екстракцію ІА урегіту. 1 – ІА, 3 – „нульовий розчин”, 2 – різниця між комплексом та „нульовим” розчином

Зі збільшенням концентрації барвника оптична густина зростає, досягаючи максимального значення при концентрації $1,5 \cdot 10^{-4}$ моль/л. Вилучення простої солі барвника є незначним.

3.1.3. Вплив концентрації висолювача

Цікаво, що введення солей (сульфатів лужних металів та амонію), призводить до покращення вилучення ІА урегіту. Найбільш повно ІА вилучається при введенні 1,5 – 2,5 мл 2 М Na_2SO_4 та 1,5 – 2,5 мл 4 М $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (рис.3.3.).

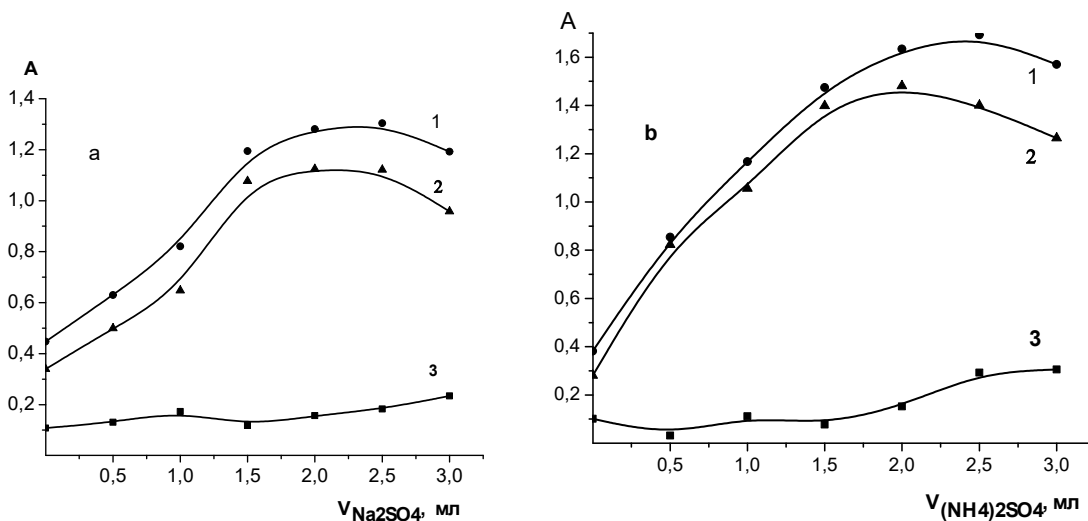


Рис. 3.3. Вплив висолювача на екстракцію ІА урегіту: а – Na_2SO_4 ; б – $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 1 – ІА, 3 – „нульовий розчин”, 2 – різниця між комплексом та „нульовим” розчином.

Дані умови було використано при подальших дослідженнях.

3.1.4. Склад іонних асоціатів

Методом ізомолярних серій встановлювали склад ІА урегіту з ІЖ та БІК.

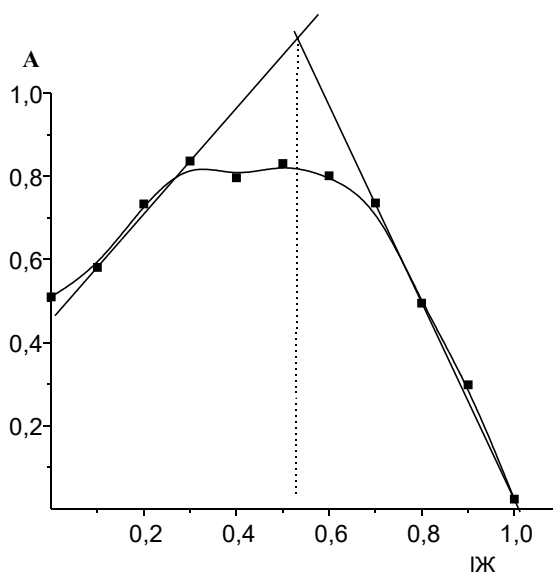
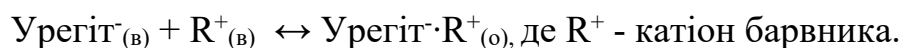


Рис. 3.4. Ізомольярна серія ІА урегіту з індоліновим жовтим.

Як видно з (рис. 3.4) склад ІА приблизно 1:1. Незначне відхилення в бік барвника можна пояснити ефектом співекстракції. В цілому, схему утворення та екстракції ІА можна представити схемою:



3.1.5. Методика визначення урегіту

На основі отриманих результатів розроблена методика екстракційно-фотометричного визначення урегіту, яка апробована методом введено-знайдено.

Готували 10^{-3} М розчин урегіту. Із проби відбирали аліквоти, що містять 0,1-0,6 мг урегіту. Додавали по 0,5 мл барвника, 2 мл 2 М висолювача 1 мл буферного розчину з рН=8. Потім у пробірки додавали 1,4; 1,3; 1,2; 1,1; 1,0; 0,9 мл дистильованої води відповідно. Після цього ще додавали по 2 мл 2 М розчину натрій сульфату.

В кожную пробірку доливали по 5 мл толуену і екстрагували. Після цього вимірювали оптичну густину розчинів на спектрофотометрі при $\lambda=542,6$ нм для барвника БІК та $\lambda=483,5$ для ІЖ в кюветах на 0,5 см.

Результати показали, що визначення урегіту можна проводити на фоні багатьох компонентів, що входять до складу фармпрепаратів. Крім цього визначенню урегіту не заважають сульфати лужних та лужноземельних металів, значні кількості хлоридів, фосфатів, оксалатів, цитратів. Заважають перхлорат-іони, диклофенак, тіоціанат-іони у значних кількостях.

На основі проведених досліджень обраховані метрологічні характеристики, які наведено в табл. 3.1.

Згідно з метрологічними характеристиками розроблених систем для визначення урегіту найбільш чутливим виявився основний барвник БІК.

Таблиця 3.1

**Метрологічні характеристики екстракційно-
спектрофотометричного визначення урегіту**

ОБ	Рівняння градувального графіка	λ_{max} , нм	ϵ , 10^4	Межа виявл. мкг/мл	Інтерв. лінійн. мкг/мл	R^2
БІК	$A = (0,0041 \pm 0,0084) + (0,1992 \pm 0,0009) \cdot C_{\text{урег}}$	542,5	13,0	0,23	0,75–7,60	0,9997
ІЖ	$A = (0,0019 \pm 0,0047) + (0,1052 \pm 0,0006) \cdot C_{\text{урег}}$	483,5	4,2	0,19	0,63–15,23	0,9991

Розроблена методика апробована на модельних розчинах і перевірена методом “введено-знайдено”. Результати визначень зведені в табл. 3.2.

Таблиця 3.2

Результати визначення урегіту

Введено урегіту, мг	Знайдено урегіту, мг	
	$\bar{X} \pm \Delta X$	S_r
0,23	$0,27 \pm 0,05$	0,038
0,39	$0,42 \pm 0,18$	0,032
0,54	$0,51 \pm 0,21$	0,027

Розроблена чутлива екстракційно-фотометрична методика визначення урегіту характеризується високою чутливістю, селективністю, експресністю, простотою у виконанні.

РОЗДІЛ 4. ПОТЕНЦІОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ УРЕГІТУ

Кількісне визначення органічних сполук – важлива задача хімії, фармацевтичної промисловості, медико-біологічної практики. Для цієї цілі широко використовуються такі методи аналітичної хімії, як хроматографія, спектрофотометрія, люмінесценція, електрохімічні методи аналізу. Серед останніх одне з перших місць займає іонометрія – пряма потенціометрія з використанням іонселективних електродів.

4.1. Встановлення оптимальних умов визначення

Робота запропонованих сенсорів на урегит оцінювалася з точки зору впливу на них вмісту ЕАР, рН середовища, природи пластифікатора, концентрації внутрішнього розчину, природи фонового електроліту, часу відгуку, тощо. Одним із важливих питань, яке й досі не має єдиної теорії пояснення, є питання селективності.

4.1.1. Вплив рН розчину на відгук іонселективного електроду

Вплив рН розчину досліджували використовуючи універсальну буферну суміш в інтервалі 3 – 12.

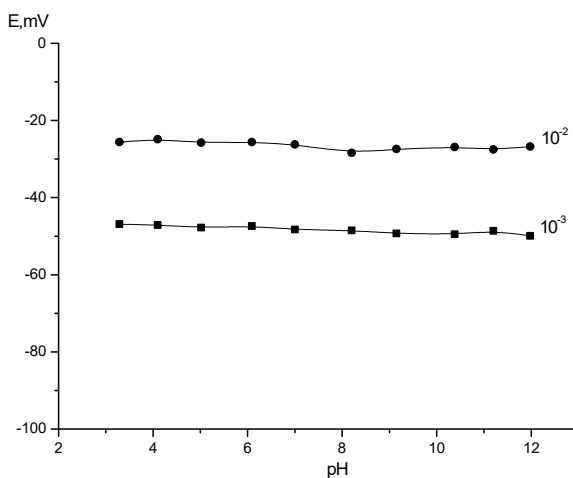


Рис. 4.1. Вплив рН на відгук урегит селективного електроду (ЕАР – ІА КФ·урегит).

На (рис. 4.1.) показано вплив рН на відгук електроду (ЕАР – кристалічний фіолетовий та урегит). Таким чином видно, що робочий інтервал рН сенсора 3 – 11. Аналогічні залежності і для всіх інших використаних барвників

4.1.2. Дослідження впливу природи пластифікатора на хіміко-аналітичні характеристики іонселективного електроду

Селективність і чутливість сенсора залежить від складу мембрани, виду добавок і носія заряду в розчині. Тому, ми досліджували вплив складу мембрани, кількості і природи доданого пластифікатора та інші фактори. При цьому співвідношення деяких параметрів підтримували постійними, змінюючи інші параметри. На прикладі застосування кристалічного фіолетового (рис.4.2.) покажемо залежність від природи пластифікатора.

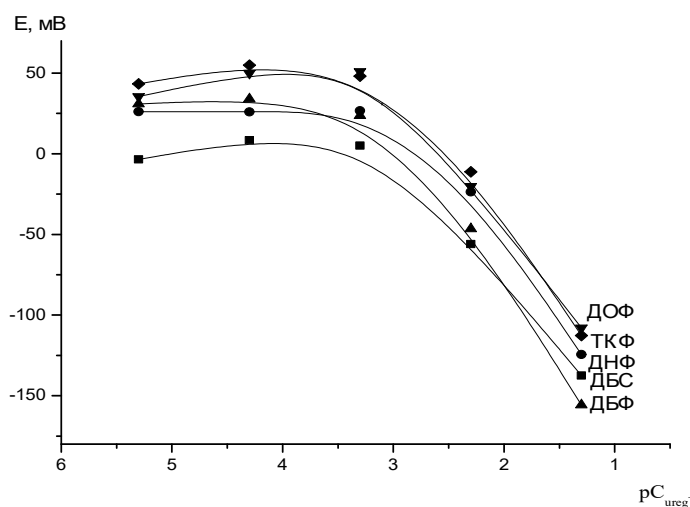


Рис 4.2. Залежність потенціалу урегит селективного електроду від природи пластифікатора (ЕАР – КФ·урегит).

Таблиця 4.1. узагальнює отримані нами результати. Остаточний вибір був зроблений на користь електроду із пластифікатором ДБФ, який показує найвищу чутливість з крутизною функції 59 мВ/рС і залежність із лінійною ділянкою в широкому інтервалі концентрацій.

Таблиця 4.1.

Характеристики досліджених електродів для визначення урегіту

Пластифікатор	Крутизна, mV	Лінійність, моль/л	Межа визначення, моль/л	Час відгуку, с
ДБФ	59	$5 \cdot 10^{-3} - 1 \cdot 10^{-2}$	$7,9 \cdot 10^{-4}$	2-3
ДБС	50	$1 \cdot 10^{-3} - 1 \cdot 10^{-2}$	$5,6 \cdot 10^{-4}$	4-5
ТКФ	52	$1 \cdot 10^{-3} - 1 \cdot 10^{-2}$	$6,8 \cdot 10^{-5}$	5-7
ДОФ	49	$1 \cdot 10^{-3} - 1 \cdot 10^{-2}$	$4,2 \cdot 10^{-5}$	4-6
ДНФ	56	$5 \cdot 10^{-3} - 1 \cdot 10^{-2}$	$1,3 \cdot 10^{-5}$	3-5

Аналогічні дослідження електродів були проведені із застосуванням брильянтового зеленого, малахітового зеленого.

Таблиця 4.2

Характеристики досліджених електродів (ЕАР - брильянтовий зелений і урегіт) для визначення урегіту

Пластифікатори	Крутизна, mV/pC	Лінійність, моль/л	Межа виявлення, моль/л	Час відгуку, с
ДБФ	67	$1 \cdot 10^{-2} - 5 \cdot 10^{-5}$	$6 \cdot 10^{-5}$	2-3
ДБС	65	$1 \cdot 10^{-2} - 1 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-5}$	3-4
ТКФ	38	$1 \cdot 10^{-2} - 5 \cdot 10^{-4}$	$6 \cdot 10^{-4}$	3-5
ДНФ	81	$1 \cdot 10^{-2} - 1 \cdot 10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-4}$	2-3
ДОФ	100	$1 \cdot 10^{-2} - 5 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$	4-5

Таблиця 4.2. узагальнює отримані нами результати. Остаточний вибір був зроблений на користь електроду із пластифікатором ДБФ і ДБС, які

показують найвищу чутливість з крутизною функції 67 і 65 мВ/рС і криву з лінійною ділянкою в широкому інтервалі концентрацій.

Таблиця 4.3

Характеристики досліджених електродів (ЕАР - малахітовий зелений і урегіт) для визначення урегіту

Пластифікатори	Крутизна, mV/pC	Лінійність, моль/л	Межа виявлення, моль/л	Час відгуку, с
ДБФ	64	$8,7 \cdot 10^{-3} - 6,3 \cdot 10^{-3}$	$7,9 \cdot 10^{-4}$	3-5
ДБС	43	$5,6 \cdot 10^{-3} - 1,3 \cdot 10^{-3}$	$7,2 \cdot 10^{-4}$	3-4
ТКФ	60	$1,1 \cdot 10^{-2} - 1,3 \cdot 10^{-3}$	$8,1 \cdot 10^{-4}$	4-5
ДНФ	27	$7,2 \cdot 10^{-3} - 1,7 \cdot 10^{-3}$	$6,9 \cdot 10^{-4}$	2-3
ДОФ	72	$6,6 \cdot 10^{-2} - 1,2 \cdot 10^{-3}$	$5,2 \cdot 10^{-4}$	3-5

Таблиця 4.3. узагальнює отримані нами результати. Остаточний вибір був зроблений на користь електроду із пластифікатором ДБФ і ТКФ, які показують найвищу чутливість з крутизною функції 64 і 60 мВ/рС і криву із лінійною ділянкою в широкому інтервалі концентрацій.

4.1.3. Дослідження часу відклику електроду

Вимірювали середній час, необхідний для того, щоб потенціал мембранного електроду досягнув значення, що відрізняється на ± 1 мВ від рівноважного значення після занурення електроду в розчини урегіту, що відрізняються концентрацією на порядок. Статичний час відклику для концентрацій $> 10^{-5}$ був 5 секунд; потенціал залишався постійним.

4.1.4 Дослідження впливу концентрації електроодативної речовини на відгук іонселективного електроду

Із вмістом пластифікатора пов'язується й час життя електрода, який визначається частотою його використання. Електроди з меншим умістом

пластифікатора працюють дещо менший час, ніж електроди з більшим його вмістом. Із часом вміст розчинника в мембрані зменшується і це призводить до порушення їх структури, втрати еластичності та до обмеження часу життя електродів. Результати досліджень подані в табл.4.4 і табл. 4.5.

Таблиця 4.4.

Характеристики досліджених електродів (ЕАР - брильянтовий зелений і урегит) для визначення урегіту

Вміст ЕАР, %	Пластифікатор	Крутизна, mV/pC	Лінійність, моль/л	Межа виявлення, моль/л	Час відгуку, с
9,00	ДБФ	46	$1 \cdot 10^{-2} - 5 \cdot 10^{-4}$	$6,3 \cdot 10^{-4}$	2-5
15,00	ДБФ	54	$1 \cdot 10^{-2} - 5 \cdot 10^{-5}$	$5,6 \cdot 10^{-5}$	2-4

Таблиця 4.5.

Характеристики досліджених електродів (ЕАР - МЗ і урегит) для визначення урегіту

Вміст ЕАР, %	Крутизна, mV/pC	Лінійність, моль/л	Межа виявлення, моль/л	Час відгуку, с
5,00	63	$1 \cdot 10^{-2} - 5 \cdot 10^{-4}$	$4,5 \cdot 10^{-4}$	3-5
9,00	62	$1 \cdot 10^{-2} - 1 \cdot 10^{-3}$	$7,9 \cdot 10^{-4}$	2-4
15,00	68	$1 \cdot 10^{-2} - 1 \cdot 10^{-3}$	$9,5 \cdot 10^{-4}$	3-4

Встановлено, що найкращий відгук щодо аніону урегіту проявляють мембрани з вмістом пластифікатора 9,0 і 15,0 % з барвником брильянтовим зеленим. Для барвника малахітового зеленого найкращий відгук щодо аніону урегіту проявляють мембрани з вмістом пластифікатора 5,0, 9,0 і 15,0 % При

інших співвідношеннях компонентів отримати мембрани достатньої еластичності та гомогенності не вдається.

4.1.5. Дослідження впливу природи фонового електроліту на відклик урегит селективного електрода

Вплив природи фонового електроліту на відклик урегит селективного електрода (ЕАР – КФ+урегит) досліджували використовуючи розчини, приготовані на KCl та Na₂SO₄.

Табл. 4.6. узагальнює отримані нами результати. При вимірюванні потенціалу розчинів, приготованих на фоновому електроліті KCl, отримали високу чутливість з крутизною функції 59 мВ/рС і залежність із лінійною ділянкою в широкому інтервалі концентрацій.

Таблиця 4.6.

Характеристики досліджених електродів для визначення урегиту

Фоновий електроліт	Крутизна, мВ/рС	Лінійність, моль/л	Межа виявлення, моль/л	Час відгуку, С
KCl	59	$5 \cdot 10^{-3} - 1 \cdot 10^{-2}$	$4,6 \cdot 10^{-4}$	2-3
Na ₂ SO ₄	49	$1 \cdot 10^{-4} - 1 \cdot 10^{-2}$	$3,2 \cdot 10^{-4}$	4-5

4.1.6. Селективність сенсору

Коефіцієнт селективності $K_{ур, м}$ для різних катіонів та аніонів оцінювалось методом окремих розчинів. Отримані значення селективності, обчислені із експериментальних кривих для всіх ІСЕ приведені у табл. 4.7.

Таблиця 4.7

Коефіцієнти селективності урегит селективного сенсору

Заважаючі іони	ІСЕ (ЕАР – КФ та урегит)	ІСЕ (ЕАР – БЗ та урегит)	ІСЕ (ЕАР – МЗ та урегит)
Гліцин	2,86	Не заважає	Не заважає
KBr	Не заважає	Не заважає	3,88
KI	Не заважає	Не заважає	3,56

K ₂ SO ₄	4,42	2,65	Не заважає
CuSO ₄	Не заважає	2,66	5,4
MgCl ₂	Не заважає	2,47	Не заважає
Аспірин	3,83	2,09	3,00
Аскорбінова кислота	Не заважає	2,24	3,63
Тартрат	3,15	2,15	3,49
Анальгін	3,66	2,44	Не заважає
NH ₄ SCN	Не заважає	2,33	4,00
Глюкоза	2,94	2,36	3,80

Більшість досліджених іонів не заважали при роботі мембранного сенсору. Очевидно, що сенсор у високій мірі селективний по відношенню до урегіту.

4.1.7. Потенціометричне визначення урегіту в модельних розчинах

Нами розроблена методика прямого потенціометричного визначення урегіту у модельних розчинах. Вперше для визначення урегіту пропонується нові сенсори на основі виділених у твердому вигляді ІА з основними барвниками [37].

Для визначення урегіту використовували розроблений сенсор. Визначення пентахлорфенолу у модельних розчинах проводили методом «введено-знайдено», вимірювали потенціал сенсору. Результати визначення зведені у табл. 4.8.

Таблиця 4.8

Результати потенціометричного визначення урегіту в модельних розчинах методом «введено-знайдено»

($n = 5$; $P = 0,95$)

Введено урегіту, мг	Знайдено урегіту, мг	
	$\bar{X}_{\text{сер.}} \pm \Delta X$	S_r

0,16	$0,19 \pm 0,04$	0,025
0,22	$0,23 \pm 0,10$	0,022
0,68	$0,67 \pm 0,15$	0,030

Розроблена чутлива потенціометрична методика визначення урегіту характеризується високою чутливістю, селективністю, експресністю, простотою у виконанні. Більшість досліджених іонів не заважали при роботі мембранного сенсору.

ВИСНОВКИ

1. Проведено огляд літературних джерел по тематиці магістерської роботи.
2. Встановлено, що урегїт з основними барвниками БІК та ІЖ утворює ІА, що добре вилучається органічними розчинниками в присутності висолювачів.
3. Визначено вплив висолювача на процес екстракції та показано покращення отриманих результатів при використанні як висолювача натрій сульфату та амоній сульфату.
4. Показано, що оптимальними умовами утворення та екстракції ІА урегїту є рН 5 – 9. Встановлено склад утворюваних ІА методами ізомолярних серій та зсуву рівноваги.
5. Розроблена методика екстракційно-фотометричного визначення урегїту, правильність якої доказано методом „введено-знайдено”.
6. Було виготовлено мембрани на основі основних барвників: кристалічного фіолетового, брильянтового зеленого, малахітового зеленого, та урегїту із різним вмістом електродоактивної речовини, та різними пластифікаторами (дибутилфталат, диоктилфталат, динонілфталат, трикрезилфосфат, дибутилсебацинат).
7. Досліджено оптимальні умови роботи фонселективного електроду. Встановлено, що електрод має сталий потенціал в межах рН=3,0 – 12,0.
8. Розроблені електроди придатні для використання в потенціометричних визначеннях урегїту.

ЖИТЕПАТҮПА

1. Smith J. A. Chemical and Physical Properties of Etacrynic Acid / J. A. Smith et al. // Journal of Medicinal Chemistry. – 2021. – V. 64, №5. – P. 3121–3135.
2. Wilson E. R. Chemical Properties of Etacrynic Acid / E. R. Wilson et al. // Journal of Organic Chemistry. – 2023. – V. 88, №12. – P. 115-125.
3. Chen A. The Mechanism of Action of Loop Diuretics: Focus on Etacrynic Acid / A.Chen et al. // Pharmacology & Therapeutics. – 2022. C. 187. – P. 108–121.
4. Jones B. R. Pharmacokinetics and Clinical Use of Etacrynic Acid / B. R. Jones et al. // Clinical Pharmacokinetics. – 2023. – V.62, №1. – P.115–125.
5. Chen A. Physical Properties and Purity Analysis of Pharmaceutical Compounds / A. Chen et al.. // Pharmaceutical Analysis. – 2022. – V.187. – P. 108–121.
6. Jones B. R. Spectroscopic Analysis of Diuretics: A Comparative Study / B. R. Jones et al. // Journal of Analytical Science. – 2023. – V. 18, №2. – P.115–125.
7. Smith J. A. Physiological and Pathological Roles of Uregite: A Review / J. A. Smith et al. // Journal of Clinical Biochemistry. – 2021. – V. 45, №2. – P.112-120.
8. Jones B. R. Uregite as an Antioxidant in Cellular Defense Mechanisms / B. R. Jones et al. // Cellular & Molecular Biology Letters. – 2022. – V. 27, №1. – P. 34-45.
9. Miller L. K. Transcriptional Regulation by Uregite: A Novel Signaling Pathway / L. K. Miller // Molecular and Cellular Biochemistry. – 2023. – V. 54, №3. – P. 211-225.
10. Wilson E. R. Role of Uregite as an Osmoprotectant in Kidney Medulla / E. R. Wilson // Kidney International. – 2023. – V.99, №1. – P. 115-125.
11. Takahashi S. The Link Between Uregite and Cardiovascular Disease / S. Takahashi // Circulation Research. – 2020. – V. 132, № 5. – P. 567-578.
12. Chen A. Uregite as a Biomarker for Chronic Kidney Disease / A. Chen et al. // Nephrology Dialysis Transplantation. – 2021. – V. 36, №4, – P. 601-608.

13. Lee P. Elevated Uregite Levels in Patients with Metabolic Syndrome and Diabetes / P. Lee et al. // *Diabetes Care*. – 2022. – V. 45, № 6, – P. 1324-1331.
14. Скакун М.П., Посохова К.А. *Фармакологія: Підручник*. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2003.- 740 с.
15. *Фармакологія: Підручник* / Чекман І.С., Горчакова Н.О., Туманов В.А. та ін.; За ред. Чекмана І.С.- К.: Вища шк., 2001.- 598 с.
16. Урегїт. [Електронний ресурс] Режим доступу до ресурсу: [https://likicontrol.com.ua/%D1%96%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80%D1%83%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F/?\[9079\]](https://likicontrol.com.ua/%D1%96%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80%D1%83%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F/?[9079])
17. Miller L. K. Colorimetric Assays for Uregit: A Review of Established Methods / L. K. Miller // *Journal of Chemical Diagnostics*. – 2021. – V. 15, № 4. – P. 211-225.
18. Chen A. Development and Validation of a Spectrophotometric Method for Uregit Quantification in Human Urine / A. Chen et al. // *Analytical Chemistry*. – 2020. – V. 92, №1. – P. 601-608.
19. Jones B. R. Interference in Uregit Spectrophotometric Analysis: A Study on Biological Matrix Effects / B. R. Jones et al. // *Clinical Biochemistry*. – 2019. – V. 52. – P. 34-45.
20. Smith J. A. Fluorescence-Based Methods for Uregit Detection in Biological Samples / J. A. Smith et al. // *Journal of Analytical Science*. – 2022. – V. 18, № 2. – P. 115-125.
21. Wilson E. R. Comparative Analysis of Uregit Determination Methods: Spectrophotometry versus LC-MS / E. R. Wilson et al. // *Journal of Clinical Diagnostics*. – 2023. – V. 18, № 2, – P. 115-125.
22. Smith J. A. Colorimetric Assays for Uregite: A Review of Established Methods / J. A. Smith et al.. // *Journal of Clinical Diagnostics*. – 2021. – V. 15, № 4. – P. 211-225.
23. Кормош, Ж. Фотометричне визначення етакринової кислоти в лікарських формах та біорідинах спортсменів / Ж. Кормош, Л. Гнітецький,

- А. Ковальчук, І. Сахарук, В. Тесунов, А. Крот, С. Борисюк, Л. Піскач, М. Кормош // Проблеми хімії та сталого розвитку. – 2023. – № 3. С. 13–19.
24. El-Ries M. A. Potentiometric determination of some diuretics in pharmaceutical preparations /M. A. El-Ries, A. T. El-Hady // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 2009. – V.49, №3. – P. 679–683.
25. Державна Фармакопея України : в 3 т. Харків : Державне підприємство "Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів", 2014. Т. 2. 724 с.
26. Державна Фармакопея України : доп. 1. 2-е вид. Харків : Державне підприємство "Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів", 2004. 440 с.
27. Yarwood R. J. Liquid chromatographic analysis of ethacrynic acid and degradation products in pharmaceutical systems / R. J. Yarwood, W. D. Moore, J. H. Collett // Journal of Pharmaceutical Sciences. – 1985. – V. 74, № 2. – P. 220–223.
28. LaCreta F. P. High-performance liquid chromatographic determination of ethacrynic acid in human plasma / F. P. LaCreta et al. // Journal of Chromatography. –1991. – V. 571, № 1-2. – P. 271–276.
29. Chong S. New specific and sensitive HPLC-assays for ethacrynic acid and its main metabolite the cysteine conjugate in biological material / S. Chong et al. // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 1995. – V. 13, № 11. – P. 1373–1382.
30. Базель Я. Р. Особливості екстракції іонних асоціатів ренію (VII) з основними ціаніновими барвниками сумішами органічних розчинників / Я. Р. Базель, Ж. О. Кормош, Я. І. Студеняк // Укр. хім. журн. – 1996. – Т. 62, № 1. – С. 50–55.
31. Кормош Ж. О. Особливості екстракції іонних асоціатів деяких оксианіонів з ціаніновими барвниками та їх аналітичне використання / Ж. О. Кормош // Наук. вісн. Ужгород. у-ту: Сер. "Хімія". – 1997. – № 2. – С. 6–9.

- 32.Базель Я. Р. Іонні асоціати ацидокомплексів металів з поліметиновими барвниками у фотометричному аналізі та іонометрії : автореф. дис. на здобуття ступеня д-ра. хім. наук : спец. 02.00.02 “Аналітична хімія” / Я. Р. Базель. – Київ, 1999. – 35 с.
- 33.Корольчук С.І. Основні барвники як аналітичні реагенти для визначення форм Os (IV, VI, VIII) та Ru(VI): автореф. дис. на здобуття ступеня к-та. хім. наук : спец. 02.00.02 “Аналітична хімія” / С.І. Корольчук. – Ужгород, 2009. – 18 с.
- 34.Балог Й. С. Екстракційно-фотометричне визначення Купруму (I) з астрафлоксином / Й. С. Балог, М. М. Рушак // Укр. хім. журнал. – 2007. – Т. 73, № 2. – С. 110–113.
- 35.Кормош Ж. О. Спектрофотометричне визначення диклофенаку з використанням астрафлоксину / Ж. О. Кормош, І. П. Гунька, Я. Р. Базель // Укр. хім. журн. – 2008. – Т. 74, № 1. – С. 64–68.
- 36.Кормош Ж. О. Комплексоутворення та екстракція Os (IV) з основним барвником – астрафлоксином / Ж. О. Кормош, С. І. Корольчук, Я. Р. Базель // Наук. вісн. Ужгород. нац. ун-ту: Серія “Хімія”. – 2006. – № 16. – С. 58–60.
- 37.Корольчук С. І. Потенціометричний сенсор для визначення урегіту / С. І. Корольчук, Т.І.Савчук, К.О. Жолт, А.Я. Плескун // XII Міжнародна науково-практична конференція Perspectives of contemporary science: theory and practice (13-15 січня 2025 року). Матеріали конференції. Львів, 2025. 350 с.