

**ФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АМИДОПИРИНА  
И 4-АМИНОАНТИПИРИНА ПРИ СОВМЕСТНОМ ПРИСУТСТВИИ**

Существует большое количество методик спектрофотометрического определения амидопирина и 4-аминоантипирина [1–5]. Это обусловлено широким применением амидопирина не только как жаропонижающего средства, но и как тест-препарата для оценки активности оксидаз смешанной функции у людей и животных [6]. Недостатком упомянутых методик является их низкая избирательность, требующая предварительного разделения амидопирина и 4-аминоантипирина, например тонкослойной хроматографией [7].

Цель данной работы — определение амидопирина и 4-аминоантипирина при их совместном присутствии в пробе с помощью пероксидазной реакции [8].

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ**

**Реагенты и приборы.** Использовали реагенты ч. и ч. д. а.: хлороформ (Киевский химфармзавод), цистеин «Реанал»,  $H_2O_2$  (Винницкая фармацевтическая фабрика), пероксидаза из хрена марки А с исходной активностью 650 ЕД/мг (НПО «Биохим-реактив», Олайне). Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре СФ-26 в кювете толщиной 1 см и рабочим объемом 3 мл. Буферные растворы готовили из фиксаналов производства Киевского завода «РИАП».

**Методика определения.** Амидопирин и 4-аминоантипирин экстрагировали из 1–2 мл мочи человека 5–7 мл хлороформа. После центрифугирования, разделения и упаривания хлороформного экстракта на водяной бане (40–60° С) добавляли раствор пероксидазы хрена в фосфатном буферном растворе с рН 7,4 до конечной кон-

Таблица 1

Результаты определения амидопирина (I) и 4-аминоантипирина (II)  
( $n = 3$ ;  $P = 0,95$ )

Введено, мкг		Обнаружено, мкг		$s_r$
I	II	I	II	
10,0	20,0	9,88		0,019
10,0	20,0		20,1	0,065
40,0	40,0	40,7		0,055
40,0	40,0		39,0	0,051
100,0	100,0	101,7		0,043
100,0	100,0		98,3	0,033

центрации 1–2 ЕД/мл и раствор  $H_2O_2$  до конечной концентрации 7–21 мкг/мл. Через 2 мин измеряли оптическую плотность при 580 нм. Количество амидопирина определяли по градуировочному графику, построенному по растворам известной концентрации. Определению амидопирина не мешает 10-кратный избыток 4-аминоантипирина.

**Построение градуировочного графика для определения амидопирина.** В мерной колбе емк. 100 мл готовят на фосфатном буферном растворе с pH 7,4 раствор амидопирина (100 мкг/мл), туда же добавляют 4-аминоантипирин до концентрации 100 мкг/мл, после чего в пробирки вносят 0,1; 0,2; 0,4; 0,8; 1,0 мл полученного раствора известной концентрации и разбавляют до объема 1 мл фосфатным буферным раствором, получая содержание амидопирина в пробе 10, 20, 40, 80, 100 мкг соответственно. Далее к пробе добавляют 1 мл раствора пероксидазы хрена в фосфатном буферном растворе с активностью 6 ЕД/мл и прибавляют 1 мл раствора  $H_2O_2$  (50 мкг/мл). Через 2 мин измеряют оптическую плотность относительно пробы, содержащей 1 мл фосфатного буферного раствора.

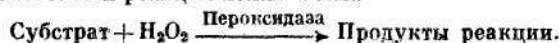
Для определения 4-аминоантипирина к сухому экстракту добавляют раствор пероксидазы хрена в ацетатном буферном растворе с pH 4,7 до конечной концентрации 1–2 ЕД/мл и раствор  $H_2O_2$  до конечной концентрации 7–21 мкг/мл. Через 30 с добавляют раствор цистеина до концентрации 40–50 мкг/мл для устранения мешающего влияния амидопирина и через 90 с измеряют оптическую плотность при 530 нм. Количество 4-аминоантипирина определяют по градуировочному графику, построенному по растворам известной концентрации.

**Построение градуировочного графика для определения 4-аминоантипирина.** В мерной колбе емк. 100 мл готовят на ацетатном буферном растворе с pH 4,7 раствор 4-аминоантипирина (100 мкг/мл). Туда же добавляют амидопирин до концентрации 100 мкг/мл, затем в пробирки вносят 0,1; 0,2; 0,4; 0,8; 1,0 мл полученного раствора известной концентрации и разбавляют до 1 мл ацетатным буферным раствором, получая содержание 4-аминоантипирина в пробе 10, 20, 40, 80 и 100 мкг соответственно. Далее к пробе добавляют 1 мл раствора пероксидазы хрена в ацетатном буферном растворе с активностью 6 ЕД/мл и 0,5 мл раствора  $H_2O_2$  (100 мкг/мл). Через 30 с добавляют 0,5 мл раствора цистеина (300 мкг/мл) и измеряют оптическую плотность через 90 с относительно пробы, содержащей 1 мл ацетатного буферного раствора.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В табл. 1 приведены результаты определения амидопирина и 4-аминоантипирина в моче. Для этого применен общеизвестный метод извлечения производных пиразолона из биологических жидкостей экстракцией хлороформом с последующим упариванием хлороформного экстракта. При этом полнота выделения составила для амидопирина  $93,9 \pm 2,0$  и для 4-аминоантипирина  $93,0 \pm 1,7$  %.

В основе аналитической реакции лежит схема



Оптимальные условия выполнения анализа приведены в табл. 2. Следует заметить, что 4-аминоантипирин при pH 7,4 вообще не окисляется, поэтому определяются только амидопирин. Определение 4-аминоантипирина проводят при pH 4,7,

Таблица 2

## Условия определения 10–100 мкг амидопирина и 4-аминоантипирина

Субстрат	$c_1$	$c_2$	$c_3$	pH	$\lambda_{\text{макс. нм}}$	$\varepsilon \cdot 10^{-4}$
Амидопирин	7–21	1–2	–	7,4	580	8,8
4-Аминоантипирин	7–21	1–2	40–50	4,7	530	5,6

Примечание.  $c_1$  — концентрация  $\text{H}_2\text{O}_2$  (мкг/мл);  $c_2$  — концентрация пероксидазы хрена (ЕД/мл);  $c_3$  — концентрация цистеина (мкг/мл).

когда разница между молярными коэффициентами поглощения амидопирина и 4-аминоантипирина максимальна, а остаточную окраску продуктов окисления амидопирина устраняют добавлением раствора цистеина.

## ВЫВОДЫ

Исследована возможность применения пероксидазной реакции для спектрофотометрического определения амидопирина и 4-аминоантипирина при их совместном присутствии в моче. Методика не требует предварительного разделения амидопирина и 4-аминоантипирина.

## Список литературы

1. Коваленко П. Н., Дубинина А. Е., Шемелева Г. Г. // Фармация. 1973. Т. 22. № 6. С. 57.
2. Старостенко В. Е., Бубон Н. Т. // Фармация. 1971. Т. 20. № 1. С. 41.
3. Коренман И. М. Фотометрический анализ. Методы определения органических соединений. М.: Химия, 1975. С. 80.
4. Чекрышкина Л. А., Парфенова Л. И. // Фармация. 1984. Т. 33. № 6. С. 77.
5. Krause E. // Pharmazie. 1979. V. 34. № 3. S. 200.
6. Леоненко О. Б., Каскевич Л. М. // Врачебное дело. 1983. № 2. С. 103.
7. Klug E. // Anzneymittel-Forsch. 1970. V. 20. № 2. S. 201.
8. Renneberg R. // Anal. chim. acta. 1982. V. 134. P. 359.

Институт химии поверхности  
АН УССР, Киев

Поступила в редакцию  
2.07.90

Медицинский институт  
им. Н. И. Пирогова. Винница

PHOTOMETRIC DETERMINATION OF AMIDOPYRINE  
AND 4-AMINOANTIPYRINE IN PRESENCE OF EACH OTHER

R. A. MUSIN, A. I. DATSYUK, A. A. PENTYUK, V. M. ISTOSMIN

Institute of Surface Chemistry, Ukrainian SSR Academy  
of Sciences, Kiev, and N. I. Pirogov Medical Institute,  
Vinnitsa

The possibility was studied of using a peroxidase reaction for spectrophotometric determination of amidopyrine and 4-aminoantipyrine in the presence of each other in urine. The method does not require their preseparation.