

## ОСОБЕННОСТИ ИЗОЛИРОВАНИЯ КАПТОПРИЛА ИЗ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

В. К. Шорманов, М. И. Бесходарная, А. В. Кукурека, Л. Е. Сипливая, Г. В. Сипливый

ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России

Поступила в редакцию 26.02.2020 г.

**Аннотация.** Каптоприл ((2S)-1-[(2S)-3-Меркапто-2-метилпропаноил]-пирролидин-2-карбоновая кислота) широко применяется в медицине для лечения артериальной гипертензии. Он ингибирует АПФ, предотвращает переход ангиотензина I в ангиотензин II и препятствует инактивации эндогенных вазодилататоров – брадикинина и ПГЕ<sub>2</sub>. Каптоприл повышает активность калликреин-кининовой системы, увеличивает высвобождение биологически активных веществ (ПГЕ<sub>2</sub> и ПГІ<sub>2</sub>, эндотелиального релаксирующего и предсердно-натрийуретического фактора), оказывающих натрийуретическое и сосудорасширяющее действие.

Каптоприл токсичен для теплокровных. Описаны случаи летального отравления людей данным соединением. В химико-токсикологическом отношении соединение изучено недостаточно. Важной задачей является изучение особенностей определения каптоприла в биологическом материале.

Цель настоящего исследования – изучение особенностей изолирования каптоприла из биологического материала.

В качестве изолирующего агента для извлечения каптоприла из биологического материала предложена смесь ацетон-метанол (4:6). Установлено, что оптимальные условия извлечения каптоприла из биологического материала достигаются уже при двукратном настаивании биологического объекта с изолирующим агентом, если массовое соотношение изолирующей жидкости и биоматериала на каждом этапе настаивания составляет не менее 2:1, а продолжительность настаивания – как минимум 30 минут. Оптимальные условия очистки каптоприла достигались в полупрепаративной колонке (150×10 мм) сорбента «Силасорб С-8» 15 мкм при элюировании вещества полярным элюентом изопропанол-вода (9:1). Для идентификации и количественного определения исследуемого соединения использовали методы тонкослойной хроматографии (ТСХ), высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), УФ-спектрофотометрии. Количественное определение каптоприла проводили методом электронной спектрофотометрии, исходя из интенсивности поглощения этанольного элюата в области 218 нм, используя уравнение градуировочного графика. Рост содержания каптоприла в модельных смесях от 1.00 до 20.00 мг в 5 г биоматериала сопровождается изменением степени извлечения, не превышающим 2.0 %.

Использование в качестве изолирующего агента смеси ацетон метанол-ацетон (6:4), предложенные условия изолирования и очистки позволяют достичь достаточно высокой степени извлечения анализируемого вещества из ткани печени (80.92-82.85%)±(3.07-4.16).

**Ключевые слова:** каптоприл, изолирование, биологический материал, очистка, идентификация и количественное определение.

Каптоприл ((2S)-1-[(2S)-3-Меркапто-2-метилпропаноил]пирролидин-2-карбоновая кислота) (синонимы и торговые названия: 1-(D-3-меркапто-2-метил-1-оксопропил)-L-пролин (S,S), D-2-метил-3-меркаптопропаноил-L-пролин, капотен, лопирин, цесплон, ангиоприл) применяется в лечении артериальной гипертензии [1-4]. Он ингибирует АПФ, предотвращает переход ангиотензина I в ангиотензин

II (оказывает сосудосуживающее действие, способствует высвобождению альдостерона) и препятствует инактивации эндогенных вазодилататоров – брадикинина и ПГЕ<sub>2</sub>. Каптоприл повышает активность калликреин-кининовой системы, увеличивает высвобождение биологически активных веществ (ПГЕ<sub>2</sub> и ПГІ<sub>2</sub>, эндотелиального релаксирующего и предсердно-натрийуретического фактора), оказывающих натрийуретическое и сосудорасширяющее действие, улучшающих почечный кровоток [5-9].

По физическим свойствам это белый или почти белый кристаллический порошок. Молекулярная масса 217.29; брутто формула  $C_9H_{15}NO_3S$ . Легко растворим в метилхлориде и метаноле, растворим в воде (160 мг/мл) и этаноле. Плохо растворим в хлороформе и этилацетате, нерастворим в эфире [10, 11]. Исследуемое вещество обладает токсичностью для теплокровных организмов.  $LD_{50}$  составляет у крыс 4245 мг/кг при пероральном введении, 554 мг/кг – при внутривенном [11-14]. В литературе описаны случаи отравления людей, в том числе с летальным исходом [15-18]. Широкое применение каптоприла в медицинской практике, наличие случаев отравлений обуславливает необходимость изучения данного вещества в судебно-химическом отношении.

Целью настоящего исследования явилось изучение особенностей изолирования каптоприла из биологического материала.

### МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Объектом исследования являлся каптоприл ((2S)-1-[(2S)-3-Меркапто-2-метилпропаноил]пирролидин-2-карбоновая кислота) с содержанием основного вещества не менее 99.5%.

Для обнаружения и предварительной идентификации анализируемого соединения изучена возможность применения ТСХ (пластины «Сорбфил» ПТСХ-АФ-В-УФ).

Для подтверждающей идентификации и количественного определения каптоприла применён метод обращённофазовой ВЭЖХ. Хроматографировали на приборе Agilent 1100 с УФ-детектором в колонке Luna® 5 мкм С-18 (2) 100А 250.0×4.0 мм.

Были изучены особенности изолирования каптоприла из биологического материала одно- и двухкомпонентными растворителями: хлороформ, метанол, этанол, ацетон, ацетонитрил, пропанол-2, ледяная уксусная кислота, этанол-1 н. раствор хлороводородной кислоты (8:2), ацетон-вода (5:5), метанол-вода (5:5), метанол-ацетон (6:4). Для этого готовили модельные смеси каптоприла и мелкоизмельченной (дисперсность 0.2-0.5 см) трупной печени с содержанием 5 мг действующего вещества в 5 г биологического материала, которые выдерживали при 18-20°C в течение 1.5 часа после их приготовления. Осуществляли двукратное изолирование. Продолжительность каждого настаивания составляла 45 минут [19-21].

Оба извлечения объединяли, 0.1-0.3 см<sup>3</sup> наносили на пластины типа «Сорбфил» ПТСХ-АФ-В-УФ 7.5×10 см с люминесцентным индикатором и

хроматографировали с использованием этанола в качестве подвижной фазы. На хроматограммах каптоприл обнаруживали 2 методами – в УФ-свете ( $\lambda=254$  нм) в виде темного пятна на более светлом фоне пластины, а также по образованию окрашенного пятна при обработке пластины пентацианоаминоферратом натрия ( $R_f = 0.70$ ). Вещество идентифицировали по особенностям поглощения элюата в УФ-свете. По величине оптической плотности элюата, измеренной в области 218 нм (спектрофотометр СФ-2000, длина оптического пути 10 мм), определяли количество каптоприла методом градуировочного графика. Уравнение градуировочного графика имело вид:  $D = 0.016229 \cdot C + 0.239203$  ( $D$  – оптическая плотность фотометрируемого раствора,  $C$  – концентрация в нём аналита в мкг/мл).

После выявления оптимального изолирующего агента изучали зависимость изолирования им анализируемого вещества из биоматериала от продолжительности и кратности настаивания, а также от массового соотношения изолирующего агента и биологического объекта.

Изучены особенности очистки рассматриваемого вещества, выделенного из биоматериала, методом обращённофазовой колоночной хроматографии (полупрепаративная колонка сорбента «Силасорб С-8» 15 мкм размерами 150×10 мм; элюент – изопропанол-вода (9:1)). Фракции элюата (2 см<sup>3</sup> каждая), собирали в градуированные пробирки. Каптоприл обнаруживали во фракциях методом спектрофотометрии (0.2 см<sup>3</sup> каждой фракции доводили до 4 см<sup>3</sup> этанолом; измерения проводили на фоне этанола;  $\lambda=218$  нм). Фракции элюата, содержащие каптоприл, объединяли, растворитель испаряли. Остаток растворяли в 5-7 см<sup>3</sup> этанола. Затем количественно переносили в мерную колбу вместимостью 10.00 см<sup>3</sup>, доводили этанолом до метки и измеряли оптическую плотность раствора при 218 нм.

В этих же условиях проводили контрольное хроматографирование на колонке извлечения из 25 г ткани печени, заведомо не содержащей каптоприл. Фракции элюата, в которых теоретически возможно присутствие анализируемого вещества, объединяли, испаряли до сухого остатка и растворяли остаток в 5-7 см<sup>3</sup> этанола, количественно переносили в мерную колбу вместимостью 10 см<sup>3</sup>, доводили этанолом до метки и измеряли оптическую плотность раствора при 218 нм (условия количественного определения каптоприла методом спектрофотометрии).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты сравнительного изолирования каптоприла рядом жидких изолирующих агентов представлены на рис. 1.

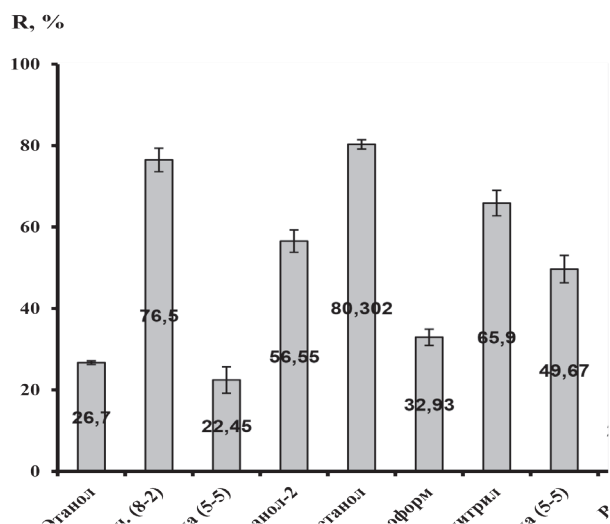


Рис. 1. Результаты сравнительного изолирования каптоприла из биологического материала жидкими изолирующими агентами

Сравнение результатов изолирования показало, что наибольшая степень извлечения достигается при использовании в качестве изолирующего агента смеси метанол-ацетон (6:4). Установлено, что максимальная степень извлечения достигается при настаивании 30 минут (рис. 2).

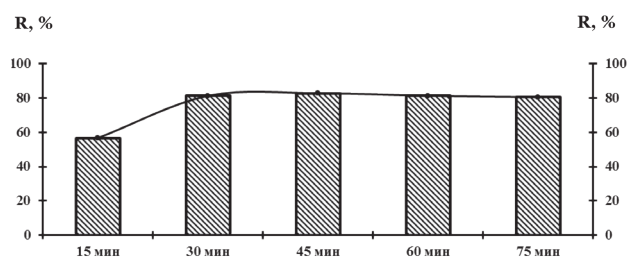


Рис. 2. Результаты изучения степени извлечения (R, %) каптоприла из биологического материала смесью метанол-ацетон (6:4) от продолжительности настаивания

Исследование зависимости извлечения от кратности настаивания показало, что для более полного извлечения исследуемого вещества из трупной печени необходимо двукратное настаивание биологического материала с изолирующим агентом, при условии, что количество смеси ацетон-метанол в каждом случае должно превышать количество биологического материала минимум в 2 раза.

Результаты хроматографирования каптоприла в полупрепаративной колонке (150×10 мм) сорбента «Силасорб С-8» 15 мкм показали, что аналит в стандартных условиях проведения процесса содержится в 4 фракции (7-8 см<sup>3</sup>) элюата.

На хроматограмме извлечённого из биоматериала вещества по сравнению с хроматограммой стандарта не наблюдаются дополнительные пики и заметное увеличение фонового поглощения. Параметры хроматографирования анализируемого вещества и стандарта совпадают.

В контрольных опытах с тканью печени, не содержащей каптоприл, установлено, что фоновое поглощение части элюата, соответствующего фракциям, в которых возможно присутствие рассматриваемого вещества, составляет 0.32 (измерение в области аналитической длины волны для определения аналита методами спектрофотометрии и ВЭЖХ). Данная оптическая плотность обусловлена содержанием в 1 см<sup>3</sup> фотометрируемого раствора остатков соэкстрактивных веществ из 1 г печени.

Результаты изучения особенностей хроматографической подвижности каптоприла методом ТСХ на пластинах «Сорбфил» ПТСХ-АФ-В-УФ в присутствии фозиноприла (внутренний стандарт) представлены в табл. 1. Полученные данные показывают, что оптимальной подвижной фазой для идентификации каптоприла методом ТСХ можно считать этанол. Значение  $R_f$  аналита при этом составляет 0.70, значение  $R_s$  (относительно  $R_f$  фозиноприла) составляет 0.87.

Оптимальным для определения каптоприла методом ВЭЖХ являлось использование колонки

Таблица 1

Результаты хроматографирования каптоприла методом ТСХ на пластинах «Сорбфил» ПТСХ-АФ-В-УФ в присутствии фозиноприла (внутренний стандарт)

Подвижные фазы	каптоприл		фозиноприл	
	$R_f$	$R_s$	$R_f$	$R_s$
Этанол	0.70	0.87	0.80	1.0
Бутанол-хлороформ (5:5)	0.90	1.05	0.85	1.0
Этиленгликоль-хлороформ (3:7)	0.92	1.09	0.84	1.0
Этиленгликоль	0.75	1.0	0.75	1.0
Бензол-муравьиная кислота (1:1)	0.19	0.86	0.22	1.0

Luna® 5 мкм С-18 (2) 100А 250.0×4.0 мм, элюента метанол-ацетонитрил-фосфатный буфер с рН=3 (40:5:55 по объему), термостатирования колонки при 20°С и скорости элюирования 1 см<sup>3</sup>/мин. Оптическую плотность измеряли при 218 нм. Время удерживания составило 5.979 мин, коэффициент ёмкости – 1.693, число теоретических тарелок – 716, фактор асимметрии пика – 0.92%, число, эквивалентное одной теоретической тарелке – 0.35. Открываемый минимум каптоприла методом ВЭЖХ – 5.0·10<sup>-10</sup> г в хроматографируемой пробе.

### МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ КАПТОПРИЛА В БИОЛОГИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ

**Изолирование.** В каждом случае 5.00 г мелкоизмельченной (размеры частиц 0.2-0.4 см) трупной печени человека, содержащей определенное количество каптоприла (от 1.00 до 20.00 мг), заливали 10 см<sup>3</sup> смеси метанол-ацетон (6:4) и выдерживали в течение 30 минут при периодическом перемешивании. Извлечение сливали, а процесс настаивания повторяли по описанной выше схеме. Отдельные извлечения объединяли в фарфоровой чашке и упаривали в токе воздуха при 18-20°С до сухого остатка.

**Очистка методом полупрепаративной колоночной хроматографии.** Сухой остаток обрабатывали 1 см<sup>3</sup> этанола, к раствору прибавляли 1 см<sup>3</sup> изопропанола и вносили образующийся раствор в полупрепаративную хроматографическую колонку (150×10 мм) сорбента «Силасорб С-8» 15 мкм, предварительно промытую смесью изопропанол-вода (9:1), и хроматографировали, используя подвижную фазу изопропанол-вода (9:1). Элюат собирали фракциями по 2 см<sup>3</sup> каждая. Фракцию № 4 помещали в выпарительную чашку вместимостью 50 см<sup>3</sup> и испаряли элюент в токе воздуха при температуре 18-22°С.

Остаток растворяли в изопропанол, раствор количественно переносили в мерную колбу вместимостью 10 см<sup>3</sup> и доводили изопропанолом до метки («исходный раствор»).

Две выпарительные чашки (№1 и №2) вносили по 0.1-4.0 см<sup>3</sup> исходного раствора и испаряли растворитель в токе воздуха при температуре 18-22°С.

**Идентификация методом ТСХ.** Остаток в чашке № 1 растворяли в незначительном объеме этанола и количественно переносили на линию старта хроматографической пластины «Сорбфил» ПТСХ-АФ-В-УФ. Хроматографировали в присутствии вещества-свидетеля, применяя как подвижную фазу этанол. Анализируемое соединение идентифицировали по величине  $R_f$ , совпадающей с таковой вещества-свидетеля (0.70±0.03). Количественное содержание рассматриваемого вещества рассчитывали с помощью градуировочного графика.

Как свидетельствуют данные эксперимента, представленные в табл. 2, увеличение содержания каптоприла в модельных смесях в достаточно широком интервале концентраций (1.00-20.00 мг) при постоянной массе навески ткани печени (5.00 г) сопровождается лишь незначительным изменением значений степени извлечения, не превышающим 2%.

Использование в качестве изолирующего агента смеси ацетон метанол-ацетон (6:4), предложенные условия изолирования и очистки позволяют достичь достаточно высокой степени извлечения анализируемого вещества из ткани печени (81-83%)±(3.1-4.2). Открываемый минимум составляет 1.0·10<sup>-2</sup> г каптоприла в 100 г биологического материала. Предложенная методика достаточно хорошо воспроизводима, отличается простотой выполнения, не требует значительных затрат времени на воспроизведение. Она может быть использована в практике при проведении экспертизы в случае отравления каптоприлом.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучена возможность использования смеси метанол-ацетон (6:4) в качестве изолирующего агента при химико-токсикологическом исследовании каптоприла.

Таблица 2

Результаты количественного определения каптоприла в ткани печени на основе изолирования смесью метанол-ацетон (6:4) и очистки в колонке сорбента «Силасорб С-8» (n=5, P=0.95)

Внесено каптоприла, мг в 5 г ткани печени	Найдено, %					
	$\bar{x}$	S	S <sub>t</sub>	S <sub>x</sub>	$\Delta\bar{x}$	$\bar{\epsilon}$
20,0	82.85	2.47	2.98	1.11	3.07	3.71
10,0	82.51	2.64	3.20	1.18	3.28	3.98
5,0	82.02	2.81	3.43	1.26	3.49	4.26
2,0	81.29	3.11	3.82	1.39	3.86	4.75
1,0	80.92	3.35	4.13	1.50	4.16	5.14



Определены оптимальные условия изолирования каптоприла смесью метанол-ацетон (6:4) из биологического материала и очистки извлечений в колонке (150×10 мм) сорбента «Силасорб С-8» 15 мкм при использовании элюента изопропанол-вода (9:1).

Дана количественная оценка изолирования смесью метанол-ацетон (6:4) рассматриваемого вещества из модельных смесей с тканью печени. В извлечениях удаётся определить 81-83% каптоприла с полушириной доверительного интервала 3.1-4.2 (n=5; P=0.95).

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Captopril. Vidal. Available at: <https://www.vidal.ru/drugs/molecule-in/167>. Accessed February 13, 2020.
2. Евдокимова А.Г., Коваленко Е.В., Маркова Л.И. // Регулярные выпуски «РМЖ». 2018. Т. I. № 11. С. 65-70.
3. Hein A.M., Scialla J.J., Edmonston D., Cooper L.B., DeVore A.D., Mentz R. J. // JACC: Heart Failure. 2019. Vol. 5. pp. 371-382.
4. Gan Z., Huang D., Jiang J., Huang D., Li Y., Li H., Ke Y. // Brazilian Journal of Medical and Biological Research. 2018. Vol. 51. № 11. Available at: <https://www.bjournal.org/article/captopril-alleviates-hypertension-induced-renal-damage-inflammation-and-nf-%CE%BAb-activation/>. Accessed February 13, 2020.
5. Heran B.S., Wong M.M.Y., Heran I.K., Wright J.M. // Cochrane Database of Systematic Reviews. 2008. N 4. Available at: <https://www.cochranelibrary.com/cdsr/doi/10.1002/14651858.CD003822.pub2/full>. Accessed February 13, 2020.
6. Fouad A.A., Al-Mulhim A.S., Jresat I., Morsy M.A. // J Pharm Pharmacol. 2013. Vol. 65. pp. 243-252.
7. Abdel-Wahab B.A., Metwally M.E., El-khawanki M.M., Hashim A.M. // Chem Biol Interact. 2014. Vol. 216. pp. 43-52.
8. Huot S.J., Hansson J.H., Dey H. // Arch Intern Med. 2002. Vol. 162. № 17. P. 1981-1984.
9. Al-Shaikh T.M., Mudawi M.M.E., Yassin A.Y.A., Habeballa R.S, Chidrawar V.R. // Asian Journal of Pharmaceutical Research and Health Care. 2016. Vol. 8. № 3. pp. 92-99.
10. Captopril. Pubchem. Available at: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Captopril>. Accessed February 13, 2020.
11. Captopril. DrugBank. Available at: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB01197>. Accessed February 13, 2020.
12. Candan F., Alagözlü H. // Hum Exp Toxicol. 2001. Vol. 20. № 12. pp. 637-641.
13. Hamid O.I.A., Ahmed M.G., Hassaneine H.M.A., Rashed H.E. // Toxicology Research and Application. 2017. Vol. 1. Available at: <https://journals.sagepub.com/doi/epub/10.1177/2397847317696539>. Accessed February 13, 2020.
14. Augenstein W.L., Kulig K.W., Rumack B.H. // JAMA. 1988. Vol. 259. № 22. pp. 3302-3305.
15. Varon J., Duncan S.R. // Annals of Emergency Medicine. 1991. Vol. 20. № 10. pp. 1125-1127.
16. Яцинюк Б.Б., Сенцов В.Г., Брусин К.М. // Казанский медицинский журнал. 2011. Т. 92. № 3. С. 453-455.
17. Lechleitner P., Dzien A., Haring C. // Toxicology. 1990. Vol. 64. № 3. pp. 325-329.
18. Park H., Purnell G.V., Mirchandani H.G. // J Toxicol Clin Toxicol. 1990. Vol. 28. № 3. pp. 379-82.
19. Шорманов В.К., Коваленко Е.А., Дурицын Е.П. // Судебно-медицинская экспертиза, 2005, Т. 48, № 5. С. 36-38.
20. Шорманов В.К., Иванов В.П., Королев В.А., Маслов С.В., Жуков Д.А., Олимпиев И.Б., Олейник С.М. // Судебно-медицинская экспертиза, 2005, Т. 48, № 3. С. 27-31.
21. Шорманов В.К., Асташкина А.П., Останин М.А., Гришечко О.И., Цацуа Е.П. // Судебно-медицинская экспертиза, 2016, Т. 59, № 4. С. 48-53.

*ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет»*

*Шорманов В. К., доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармацевтической, токсикологической и аналитической химии*

*E-mail: r-wladimir@yandex.ru*

FSBEI of HE “Kursk State Medical University”  
Shormanov V. K., PhD., DSci., Full Professor,  
department of pharmaceutical, toxicological and  
analytical chemistry

E-mail: r-wladimir@yandex.ru

Шорманов В. К., Бесходарная М. И., Кукурека А. В., Сипливая Л. Е., Сипливый Г. В.

Бесходарная М. И., аспирант 3 года обучения кафедры фармацевтической, токсикологической и аналитической химии,

E-mail: maruna\_kursk\_med@mail.ru

Кукурека А. В., кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической, токсикологической и аналитической химии,

E-mail: kukurekaav@kursksmu.net

Сипливая Л. Е., доктор биологических наук, заведующая кафедрой фармацевтической, токсикологической и аналитической химии.

E-mail: farmchim@rambler.ru

Сипливый Г. В., доктор медицинских наук, профессор кафедры урологии.

E-mail: SipliviyGV@kursksmu.net

Beskhodarnaja M. I., post-graduate student of the department of pharmaceutical, toxicological and analytical chemistry

E-mail: maruna\_kursk\_med@mail.ru

Kukureka A. V., PhD., Associate Professor, department of pharmaceutical, toxicological and analytical chemistry

E-mail: kukurekaav@kursksmu.net

Siplivaya L. E., PhD., DSci., Full Professor, Head of the department of pharmaceutical, toxicological and analytical chemistry.

E-mail: farmchim@rambler.ru

Sipliviy G. V., M.D., DSci, Full Professor, department of urology

E-mail: sipliviygv@kursksmu.net

## FEATURES OF ISOLATION OF CAPTOPRIL FROM BIOLOGICAL MATERIAL

V. K. Shormanov, M. I. Beskhodarnaja, A. V. Kukureka, L. E. Siplivaya, G. V. Sipliviy

FSBEI of HE "Kursk State Medical University"

**Abstract.** Captopril ((2S)-1-[(2S)-3-Mercapto-2-methylpropanoyl]-pyrrolidine-2-carboxylic acid) is widely used in medicine for the treatment of arterial hypertension. It inhibits ACE, prevents the transition of angiotensin I to angiotensin II and prevents inactivation of endogenous vasodilators - bradykinin and PGE<sub>2</sub>. Captopril increases activity of a kallikrein-kininovy system, increases release of biologically active agents (PGE<sub>2</sub> and PGI<sub>2</sub>, the endothelialny relaxing and predserdno-natriyuretichesky factor) having natriyuretichesky and vasodilating effect.

The aim of this study is to investigation the features of isolation of captopril from biological material.

Captopril is toxic to warm-blooded. Cases of lethal poisoning of people with this compound are described. In chemical-toxicological terms, the compound has not been sufficiently studied. An important task is to study the features of the definition of captopril in biological material. As an insulating agent for extracting captopril from biological material, an acetone-methanol mixture (4:6) is proposed.

It has been found that optimal conditions for extraction of captopril from biological material are achieved already at double infusion of biological object with insulating agent, if mass ratio of insulating liquid and biomaterial at each stage of infusion is not less than 2:1, and duration of infusion - at least 30 minutes. Optimum conditions for purification of captopril were achieved in a semi-reparative column (150 x 10 mm) of the sorbent Silasorb C-8 15 µm by eluting the substance with the polar eluent isopropanol-water (9:1). The methods of thin layer chromatography (TLC), high performance liquid chromatography (HPLC), and UV spectrophotometry were used to identify and quantify the test compound. The quantitative content of captopril was carried out by electronic spectrophotometry based on the absorption intensity of the ethanol eluate at 218 nm using the calibration graph equation. Growth of captopril content in model mixtures from 1.00 to 20.00 mg in 5 g of biomaterial is accompanied by change of extraction degree not exceeding 2.0%.

**Keywords:** captopril, isolation, biological material, purification, identification and quantification.

## REFERENCES

1. Captopril. Vidal. Available at: <https://www.vidal.ru/drugs/molecule-in/167>. Accessed February 13, 2020.
2. Evdokimova A.G., Kovalenko E.V., Markova L.I., Reguljarnye vypuski «RMZh», 2018, Vol. 1, No 11. pp. 65-70.

3. Hein A.M., Scialla J.J., Edmonston D., Cooper L.B., DeVore A.D., Mentz R. J., JACC: Heart Failure, 2019, Vol. 5, pp. 371-382. DOI: 10.1016/j.jchf.2019.02.009
4. Gan Z., Huang D., Jiang J., Huang D., Li Y., Li H., Ke Y., Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 2018, Vol. 51, No 11. Available at: <https://www.bjournal.org/article/captopril-alleviates-hypertension-induced-renal-damage-inflammation-and-nf-%CE%BAb-activation/>. Accessed February 13, 2020.
5. Heran B.S., Wong M.M.Y., Heran I.K., Wright J.M., Cochrane Database of Systematic Reviews, 2008, N 4. Available at: <https://www.cochranelibrary.com/cdsr/doi/10.1002/14651858.CD003822.pub2/full>. Accessed February 13, 2020.
6. Fouad A.A, Al-Mulhim A.S., Jresat I., Morsy M.A., J Pharm Pharmacol, 2013, Vol. 65. pp. 243-252.
7. Abdel-Wahab B.A., Metwally M.E., El-khawanki M.M., Hashim A.M., Chem Biol Interact, 2014, Vol. 216. pp. 43-52. DOI: 10.1016 / j.cbi.2014.03.012.
8. Huot S.J., Hansson J.H., Dey H., Arch Intern Med, 2002, Vol. 162, No 17, pp. 1981-1984.
9. Al-Shaikh T.M., Mudawi M.M.E., Yassin A.Y.A., Habeballa R.S, Chidrawar V.R., Asian Journal of Pharmaceutical Research and Health Care, 2016, Vol. 8, No 3. pp. 92-99.
10. Captopril. Pubchem. Available at: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Captopril>. Accessed February 13, 2020.
11. Captopril. DrugBank. Available at: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB01197>. Accessed February 13, 2020.
12. Candan F., Alagözlü H., Hum Exp Toxicol., 2001, Vol. 20, No 12, pp. 637-641.
13. Hamid O.I.A., Ahmed M.G., Hassaneine H.M.A., Rashed H.E., Toxicology Research and Application, 2017, Vol. 1. Available at: <https://journals.sagepub.com/doi/epub/10.1177/2397847317696539>. Accessed February 13, 2020.
14. Augenstein W.L., Kulig K.W., Rumack B.H. ,JAMA, 1988, Vol. 259, No 22, pp. 3302-3305.
15. Varon J., Duncan S.R., Annals of Emergency Medicine, 1991, Vol. 20, No 10, pp. 1125-1127.
16. Jacinjuk B.B., Sencov V.G., Brusin K.M. Kazanskij medicinskij zhurnal, 2011, Vol. 92, No 3, pp. 453-455.
17. Lechleitner P., Dzien A., Haring C., Toxicology, 1990, Vol. 64, No 3, pp. 325-329.
18. Park H., Purnell G.V., Mirchandani H.G. J Toxicol Clin Toxicol, 1990, Vol. 28, No 3, pp. 379-382.
19. Shormanov V.K., Kovalenko E.A., Duritsyn E.P., Sudebno-medicinskaja jekspertiza, 2005, Vol. 48, No 5, pp. 36-38.
20. Shormanov V.K., Ivanov V.P., Koroljov V.A., Maslov S.V., Zhukov D.A., Olimpiev I.B., Olejnik S.M., Sudebno-medicinskaja jekspertiza, 2005, Vol. 48, No 3, pp. 27-31.
21. Shormanov V.K., Astashkina A.P. Ostanin M.A., Grishechko O.I., Cacua E.P., Sudebno-medicinskaja jekspertiza, 2016, Vol. 59, No 4, pp. 48-53.