

## ОБНАРУЖЕНИЕ АПРОФЕНА В БИОЛОГИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ МЕТОДОМ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Петюнин Г.П., Каафарани Х.

*Харьковская медицинская академия последипломного образования*

**Введение.** Апрофен (гидрохлорид диэтиламиноэтилового эфира 1,1-дифенилпропионовой кислоты)-относится к группе антихолинэргических средств и в качестве антидота входит в состав комбинированного препарата “Тарен”[3], рекомендуемого при угрозе применения фосфорорганических боевых отравляющих веществ. Прием тарена сопровождается четким галлюциногенным эффектом, вызванным присутствием апрофена и выражающимся в спутанности сознания, провалах в памяти, наличии ярких зрительных галлюцинаций[1,2]. Несмотря на то, что тарен отнесен к наркотическим средствам[4], аналитические аспекты его токсикологии не изучены и он представляет интерес как объект для химико-токсикологического исследования.

Как известно, первым этапом токсикологического исследования является скрининг, реализуемый методом тонкослойной хроматографии. Международная организация судебных токсикологов (ТИАФТ) рекомендовала проводить его в 12 стандартных подвижных фазах на пластинках фирмы Merk[6]. В странах СНГ и на Украине традиционно используются пластинки Сорбфил и несколько иные подвижные фазы[5]. Однако, данные о возможности обнаружения апрофена как в международных, так и отечественных системах отсутствуют. Поэтому, в задачи данной работы входило определение возможности обнаружения апрофена в биологическом материале в указанных выше системах скрининга а, при необходимости, и в разработке более селективных подвижных фаз.

**Материалы и методы исследования.** Исследования проводились на пластинках Merk (силикагель 60 УФ<sub>254</sub>; алюминиевая фольга; 10см x 10см) и Сорбфил (силикагель ПТСХ-П-А; полиэтилен з тефлоном; 10см x 10см).

Параллельно с апрофеном были исследованы его ближайший структурный аналог - спазмолитин, а также морфин, кодеин, амфетамин, декстропропоксифен, трамадол, аминазин, клофелин и кокаин, которые также хорошо экстрагируются из водных растворов при pH 8-10 и могут создавать помехи при проведении скрининга методом тонкослойной хроматографии.

100 г измельченной ткани печени извлекались по методу Васильевой и к 10 мл «основного» хлороформного экстракта добавляли по 0,01 г апрофена (или спазмолитина, или морфина и кодеина, или амфетамина, или декстропропоксифена, или трамадола, или аминазина, или клофелина, или кокаина). По 10 мкл полученных растворов наносились на пластинки и после вы-

сушивания обрабатывались проявляющими реактивами. Результаты приведены в таблице 1.

С тем, чтобы исключить ложноположительные реакции, в качестве проявителей использовались все реактивы, которые обычно используются при проведении скрининга на вещества основного характера: реактивы Драгендорфа (по Мунье), Марки, ФПН, раствор нингидрина, раствор калия йодоплатината, а также реактивы Бушарда, Майера, пари йода и раствор роданида кобальта.

Далее была определена хроматографическая подвижность изучаемых веществ в подвижных фазах, рекомендованных для веществ основного характера Комитетом по систематическому токсикологическому анализу Международной ассоциации судебных токсикологов (ТИАФТ) (системы 1-4), используемых в Украине(системы 5-11), а также в предложенных нами подвижных фазах (системы 11,12).

Всего было использовано 12 систем: 1) хлороформ-ацетон (8:2); 2) хлороформ-метанол (9:1); 3) этилацетат-этанол-25% аммиак (85:10:5); 4) метанол-25% аммиак (100:1,5); 5) толуол-ацетон-этанол-25% аммиак (45:45:7,5:2,5); 6) этилацетат-ацетон-25% аммиак (50:45:4); 7) хлороформ-н-бутанол-25% аммиак (70:40:5); 8) бензол-диоксан-25% аммиак (60:35:5); 9) хлороформ-ацетон-25% аммиак (12:24:1); 10) толуол-ацетон-25% аммиак (7,0:2,9:0,1); 11) диэтиловый эфир-ацетон-25% аммиак (40:20:1); 12) гексан-этанол (3:1); 13) гексан –этанол (1:1) +2к. 10% раствора аммиака на 10 мл подвижной фазы.

Полученные значения  $R_{F}$  исследуемых веществ представлены в таблице 2.

**Результаты и их обсуждение.** Проведенные исследования показали, что, за исключением реактивов Драгендорфа и калия йодоплатината, ни с одним из стандартных реактивов, применяемых в скрининге веществ основной природы, апрофен не реагирует. Молекула апрофена содержит лишь две функциональные группы – третичный азот и сложноэфирную группу. Обнаружение последней представляет определенную сложность ввиду недостаточной чувствительности реакции образования гидроксамата железа. Поэтому, все реактивы, которые дали положительную реакцию на апрофен предназначены для обнаружения третичного азота(таблица 1). Таким образом, дифференцировать апрофен в присутствии спазмолитина, кокаина, декстропропоксифена, клофелина, которые дают аналогичные окрашивания продуктов визуализации, не представляется возможным.

Таблиця 1. Окраски продуктов визуализации апрофена

Реактив	Окраска
Драгендорфа по Мунье	оранжевое
Майера	светло-желтое
Бушарда	коричневое
Роданид кобальта	ярко-голубое
Иодплатинат калия	фиолетовое

Изучение хроматографической подвижности апрофена в системах, рекомендованных для скрининга TIAFT и применяемых на Ук-

раине, показало их недостаточную селективность для отделения апрофена от спазмолитина, трамадола та клофелина (таблица 2).

Таблиця 2. Параметры хроматографической подвижности исследуемых веществ

Вещество	Величины hRf в системах												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Апрофен	5	80	92	86	91	90	90	82	97	71	95	54	45
Спазмолитин	6	78	92	85	90	90	90	77	91	67	96	45	34
Декстропропосифен	9	78	94	87	91	90	90	78	97	78	94	-	-
Кокаин	9	57	91	84	89	90	90	77	77	67	95	-	-
Трамадол	5	43	90	80	82	89	85	77	77	48	96	29	16
Аминазин	8	54	91	66	81	90	82	73	73	42	95	-	-
Кодеин	6	76	73	63	35	90	60	32	32	10	56	-	-
Клофелин	1	54	91	86	71	89	85	74	74	47	95	19	13
Морфин	9	43	90	77	85	89	89	82	82	44	93	-	-

Решить проблему можно было использованием более селективных фаз. После серии экспериментов по оптимизации состава подвижных фаз методом призмы были предложены две системы (11 и 12), позволяющие удовлетворительно отделять апрофен от указанных выше веществ (таблица 2). Использование этих систем и предложенных реактивов для визуализации позволяет надежно обнаруживать апрофен в биологическом материале в присутствии других веществ основной природы.

**Выводы.** 1. Изучена подвижность и уста-

новлены хроматографические параметры апрофена в международной и отечественной системах скрининга.

2. Показана невозможность обнаружения апрофена при токсикологическом скрининге в условиях, рекомендуемых Международной ассоциацией судебных токсикологов и применяемых на Украине.

3. Предложены селективные подвижные фазы для обнаружения апрофена в биологическом материале в при судебно- и клиническо-токсикологических исследованиях.

#### ЛИТЕРАТУРА:

1. Жуков С.В. Избранные лекции по медицине катастроф/ С.В.Жуков, Е.Г.Королюк. –Тверь.: Лига, 2007. – 120 с.
2. Зозуля И.С., Иващенко О.В. Неотложные состояния при наиболее распространенных отравлениях// Український медичний часопис. —2007. — №6. — С.62-64.
3. Кулакова В.И. Лекарственные средства, применяемые в акушерстве и гинекологии/ В.И. Кулакова, В.Н. Серова.-М.:ГОЭТАР Медиа, 2008.- 185 с.
4. Лужников Е.А. Клиническая токсикология/

Е.А.Лужников, Г.Н.Суходолова.- М.: Libra, 2008.- 576 с.

5. Петюнин Г.П. Скрининг токсических веществ органической природы в биологическом материале /Г.П.Петюнин, А.В.Чубенко, Ж.В.Дмитриевская // Всеукраїнська науково-практична конференція: Тези доповідей, Чернівці, 2004.- С.64-65.

6. A.C. Moffat., J-P.Franke, A.H.Stead at all. //Thin-layer chromatographic Rf values of toxicologically relevant substances on standardized systems. New York:VCH.-1987.-223 p.

**Петюнин Г.П., Каафарани Х.** Обнаружение апрофена в биологическом материале методом тонкослойной хроматографии // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, № 2. – С. 149-150.

Разработано обнаружение апрофена в биологическом материале методом тонкослойной хроматографии.

**Ключевые слова:** апрофен, тонкослойная хроматография, скрининг.

**Петюнін Г.П., Каафарані Х.** Виявлення апрофену у біологічному матеріалі методом тонкошарової хроматографії // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, № 2. – С. 149-150.

Розроблено виявлення апрофену у біологічному матеріалі методом тонкошарової хроматографії.

**Ключові слова:** апрофен, тонкошарова хроматографія, скрининг.

**Petyunin G.P., Kaafarani H.** Determination of aprofene by think-layer chromatography in biological material // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, № 2. – С. 149-150.

Determination of aprofene in a biological material is developed by a thin-layer chromatography method.

**Key words:** aprofene, think-laer chromatography, scrining.

Надійшла 21.01.2011 р.  
Рецензент: проф. І.О.Комаревцева