

УДК 340.67;616.633;547.94;582.635.38
© Петюнин Г.П., Каафарани Х., 2011

ОБНАРУЖЕНИЕ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ АПРОФЕНА В БИОЛОГИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ МЕТОДОМ ГАЗО-ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Петюнин Г.П., Каафарани Х.

Харьковская медицинская академия последипломного образования

Введение. В последние годы в странах СНГ и в Украине, в частности, широкое распространение получило немедицинское использование лекарственных средств с целью достижения состояния наркотического опьянения [3-5]. Одним из таких препаратов является апрофен (гидрохлорид 5-диэтиламиноэтилового эфира 1,1-дифенилпропионовой кислоты) [7], входящий в состав тарена, который используется в качестве антидота при отравлении фосфорорганическими веществами. Случаи, связанные с его немедицинским применением встречаются достаточно часто [1,2,7], однако, изучение химико-токсикологических свойств апрофена раньше не проводилось.

Целью настоящей работы явилась разработка подтверждающего способа аналитической диагностики употребления апрофена методом газо-жидкостной хроматографии, пригодного для наркологической экспертизы, клинической и судебно-медицинской токсикологии.

Материалы и методы исследования. Исследования проводились на газовом хроматографе Shimadzu 2014 с капиллярной колонкой HP-5 (15 м × 0,320 мм × 0,25 мкм). Скорость газа-носителя (гелий) – 1 мл/мин. Режим термостата колонок – программируемый от 150°C до 250°C (25°C/мин). Температура инжектора-240°C. Детектор – пламенно-ионизационный (температура-260°C). Пробы (1 мкл розчину) вводились автосамплером.

Для определения селективности метода в соответствии с рекомендациями GTFCh [8-10] были проанализированы по 10 экстрактов чистых образцов крови (от живых лиц и от трупов), а также экстракты тканей трупной печени и почек. Также были проанализированы по 2 образца чистой крови и экстрактов трупной печени и почек, содержащих апрофен и внутренний стандарт. В качестве последнего мы использовали спазмолитин – ближайший структурный аналог апрофена.

Количественное определение апрофена проводили после установления градуировочной зависимости откликов площадей пиков от концентрации.

Приготовление градуировочных растворов. 0,0050г апрофена помещали в мерную колбу вместимостью 50,00 мл, растворяли в трупной крови и доводили до метки той же кровью (исходный раствор). Разведением последнего готовили градуировочные растворы с концентрациями 50, 40, 30, 20, 10, 5, 1 и 0,5 мг/л. После стояния в течение суток в холодильнике, по 5 мл каждого раствора помещали в центри-

фужную пробирку и добавляли по 5 мл 96° этанола. Содержимое пробирок перемешивали и после 10 минутного стояния центрифугировали 5 минут при 5000 об/мин. Верхний слой переносили в мерную колбу вместимостью 10 мл и доводили этанолом до метки. Каждый градуировочный раствор, в соответствии с рекомендациями GTFCh [8-10], был исследован 6 раз. Результаты представлены на рисунке 1.

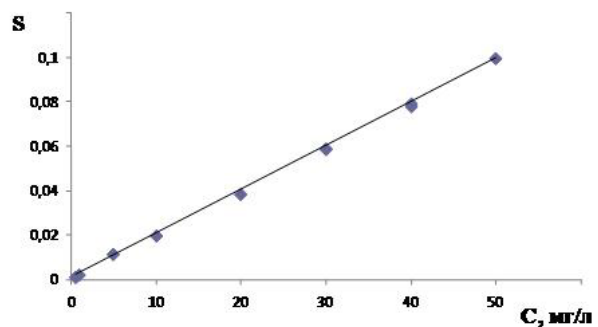


Рис.1. Градуировочная зависимость откликов площадей пиков от концентрации апрофена

Подготовка модельных растворов апрофена. Точные навески апрофена помещались в мерные колбы на 50,00 мл и доводились трупной кровью до меток. После перемешивания и стояния в холодильнике в течение суток с ними поступали также, как описано выше для калибровочных растворов. Измерения каждого раствора проводили трижды.

Результаты и их обсуждение. Путем оптимизации параметров хроматографирования удалось добиться полного разделения пиков апрофена и спазмолитина. Также было установлено, что компоненты биологических матриц не мешают обнаружению апрофена и спазмолитина, время удерживания которых составляет 9,9 и 11,0 мин, соответственно.

Исследования градуировочных растворов апрофена показали, что в указанных условиях определения линейная зависимость для апрофена наблюдается в пределах 0,5-50 мг/л (рис.1) и имеет вид $y = b \cdot x$: $S = 3476,14 \cdot C$, где C – концентрация раствора, мг/л; S – площадь пика.

Указанный диапазон перекрывает значения терапевтических, токсических и летальных концентраций.

Метрологические характеристики полученной градуировочной зависимости ($n=48$; $P=0,95$):

r	b	S^2	Δb
0,998	3476,14	549318,51	28,41

Для определения метрологических параметров методики определения апрофена в крови были приготовлены модельные смеси апрофена, на основе трупной крови - с минимальным, средним и высоким содержанием

последнего. Исследования проводились в тех же условиях, что и при построении градуировочной зависимости. Полученные результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1. Метрологические характеристики методики

Содержание апрофена (мг/л)	Площадь пика (среднее из трех значений)	Найдено апрофена		Метрологические характеристики (n=3, P=0,95)
		мг/л	%	
0,53	1772,83	0,51	96,34	$\bar{O} = 99,15$ $S = 3,651$ $S_{\bar{O}} = 0,00368$ $\Delta \bar{O} = 9,07$ $\varepsilon = \pm 9,14\%$ $X \pm \Delta \bar{O} = 99,15 \pm 9,07$
28,80	97957,63	28,18	97,84	
48,52	174189,38	50,11	103,28	

Как видно из приведенных данных, относительная неопределенность среднего результата не превышает 15%, что отвечает требованиям к методам определения веществ в биологическом материале.

Разработанная методика была использована для определения выхода апрофена из биологических тканей при изолировании его методами Васильевой и Стаса–Отто. Степень изолирования из тканей печени и почек соста-

вила 38 и 35% (по Васильевой) и 27 и 32% (по Стасу–Отто), что вполне допустимо при условии использования в качестве конечной аналитической операции метода газо-жидкостной хроматографии.

Выводы: Разработана методика обнаружения и определения апрофена в биологическом материале методом газо-жидкостной хроматографии пригодная для целей судебной и клинической токсикологии.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Жуков С.В., Королюк Е.Г. Избранные лекции по медицине катастроф. –Тверь, 2007. – 120с.
2. Зозуля И.С., Иващенко О.В. Неотложные состояния при наиболее распространенных отравлениях// Український медичний часопис. —2007. — №6. — с.62.
3. Лінський І. В., Мінко О. І., Первомайський Е. Б. та інші. Епідемія залежності від психоактивних речовин в Україні. Нові результати популяційно-екологічного аналізу даних диспансерного обліку // Вісник психіатрії та психофармакотерапії. — 2007. — № 2. — С. 44–58.
4. Линский И. В., Минко А. И., Первомайский Э. Б. Актуальные тенденции распространения зависимости от психоактивных веществ в Украине // Наркология. — 2005. — № 4. — С. 12–17.
5. Лінський І. В., Голубчиков М. В., Мінко О. І. та інші. Актуальні тенденції поширення залежності від психоактивних речовин в Україні: Щорічний аналітичний огляд. - Харків, 2007. - Вип. 4. - 52 с.
6. Лужников Е.А., Суходолова Г.Н. Клиническая токсикология. - М.,Libra, 2008. - 576 с.
7. Постанова Кабінету Міністрів України від 05.01.2011 №4 «Про внесення змін до постанов Кабінету Міністрів України від 6 травня 2000 р. № 770 і від 10 жовтня 2007 р. № 1203.
8. F.T. Peters, J. Hallbach, H.H. Maurer. Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie Arbeitskreis Qualitätssicherung des Arbeitskreises Klinische Toxikologie der GTFCh zur Validierung von Methoden für die toxikologische Analytik im Rahmen der Hirntod-Feststellung. Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie
9. Peters F.T., Maurer H.H. (2002) Bioanalytical method validation and its implications for forensic and clinical toxicology - A review.// Accred.Qual.Assur.-2002.- № 7.- P.441-449.
10. Peters F.T., Drummer O.H. Validation of new methods// For.Sci.Int.-2007.- Vol.165.- P.216-224.

Петюнін Г.П., Хусейн Каафарани. Обнаружение и определение апрофена в биологическом материале методом газо-жидкостной хроматографии // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, № 3. – С. 128-129.

Разработана методика обнаружения и определения апрофена в биологическом материале методом газо-жидкостной хроматографии.

Ключевые слова: апрофен, биологический материал, газо-жидкостная хроматография.

Петюнін Г.П., Хусейн Каафарани. Виявлення та визначення апрофену у біологічному матеріалі методом газо-рідинної хроматографії // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, № 3. – С. 128-129.

Розроблено методику виявлення та визначення апрофену у біологічному матеріалі методом газо-рідинної хроматографії.

Ключові слова: апрофен, біологічний матеріал, газо-рідинна хроматографія.

Petyunin G.P., Husseyn Kaafarani. Identification and determination of aprophene in biological materials by the method of gas chromatography // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, № 3. – С. 128-129.

The technique of identification and determination of aprophene in a biological material by a method gas chromatography is developed.

Key words: aprophene, biological materials, gas chromatography

Надійшла 17.01.2011 р.
Рецензент: проф. Л.В.Савченкова