

Рекомендована д.х.н., професором І.В.Українцем

УДК 615.074:615.214.2:543.544.42:542.61

## ЗАСТОСУВАННЯ ХРОМАТОГРАФІЇ В ТОНКИХ ШАРАХ СОРБЕНТУ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ЛЕПОНЕКСУ

В.В.Болотов, І.І.Тернінко

Національна фармацевтична академія України

Розроблена методика ТШХ-скринінгу лепонексу у присутності ряду інших препаратів, які можуть бути використані разом з ним. Визначений ступінь екстракції лепонексу з водних розчинів в залежності від рН середовища.

Лепонекс (клозапін, азалептин, іпрокс) — 8-хлор-11-(4-метил-1-піперазиніл)-5Н-добензо(b,e) [1,4]діазепін є нейрорептичним засобом з заспокійливою дією, а також з сильним антипсихотичним ефектом [5, 1]. Оскільки препарат приймають протягом тривалого часу, а межа дозволених доз широка (від 25 мг до 600 мг), зафіксовані випадки передозувань та отруєнь [6, 8, 11]. Токсична концентрація препарату для людини складає від 0,8 до 1,3 мг/л [12].

Методи аналізу лепонексу, придатні для хіміко-токсикологічного аналізу, розроблені недовільно. Одним з методів ідентифікації, який знайшов широке використання у хіміко-токсикологічному аналізі, є метод хроматографії у тонких шарах сорбентів [3, 4, 7]. Зокрема, в судовій токсикології ТШХ використовують як скринінгову систему на невідомому отруту.

Метою нашої роботи було дослідження можливості застосування зазначеної системи щодо лепонексу, а також інших препаратів, які можуть бути присутні разом з ним.

У прийнятій на Україні скринінговій системі використовуються так звані загальні та часткові системи розчинників, окремо для речовин, які потрапляють в "кислий" або "лужний" хлороформний екстракт. В зв'язку з цим ми попередньо вивчили ступінь екстракції лепонексу з водних розчинів в залежності від рН середовища (див. рис.). При цьому було встановлено, що основна кількість лепонексу екстрагується органічними розчинниками при рН 4,0 і більш високому. Тому для досліджуваного препарату ми використовували загальні та часткові системи розчинників, рекомендовані для речовин, що екстрагуються з "лужного" середовища.

Тонким шаром сорбенту були пластинки для ТШХ фірми "Merck" (Silica gel 60F<sub>254</sub>, Німеччина), які широко використовуються в хіміко-токсикологічному аналізі [10]. Перед використанням

пластинки обробляли 0,1 М розчином калію гідрооксиду в метанолі, висушували та активували нагріванням при температурі 110°C протягом 30 хв.

Зразки лепонексу, які вміщували від 0,2 мкг до 5 мкг речовини та інших препаратів (0,05% розчини в метанолі), наносили на лінію старту на відстані 2 см від краю пластинки. Шлях перебігу розчинників — 8 см. Значення R<sub>f</sub> досліджуваних препаратів та склад використаних нами систем розчинників наведені в табл. 1. До загальних систем розчинників, які застосовуються у скринінгу на невідомому отруту, відносяться системи 1 та 2, а до часткових — 3 та 4 (табл. 1). Як речовини-стандарту використовували дипразин та п-нітроанілін.

Для проявлення плям досліджуваних препаратів використовували проявники, вказані в табл. 2. Слід відмітити, що забарвлення плям лепонексу проявниками 2-4 не зникає (навіть після обробки плям 0,1 М розчином натрію тіосульфату) на відміну від плям інших препаратів, забарвлення яких зникає протягом години. Дані табл.2 свідчать про те, що найбільш чутливими для проявлення плям лепонексу є реактиви 2-4. Вони дозволяють визначати його при вмісті 0,2 мкг у плямі. Найбільш вибірковими проявниками плям досліджуваних препаратів є реактиви Ердмана та Форреста, які дають з ними різні забарвлення. Слід також відмітити, що плями лепонексу на відміну від плям інших препаратів проявляються 3% розчином перекису водню після нагрівання при температурі 110°C протягом 10 хвилин. Проявники, рекомендовані в скринінговій системі (розчин нінгідрину та 50% розчин сірчаної кислоти в етанолі), плями лепонексу не проявляють.

Результати хроматографічних досліджень (табл. 1) свідчать про те, що в загальних системах розчинників 1 та 2 плями досліджуваних препаратів мають дуже близькі значення R<sub>f</sub>. Схоже ведуть себе досліджувані препарати і в часткових системах 3 та 4. В зв'язку з цим ми вивчили ряд інших систем, серед яких знайдені системи 5, 9, 12 та 14. Останні дозволяють задовільно розділяти досліджувані речовини.

Експериментальна частина

Методика екстрагування лепонексу. У ділянку ліжку вносили 0,9 мл 0,01% розчину лепонексу в

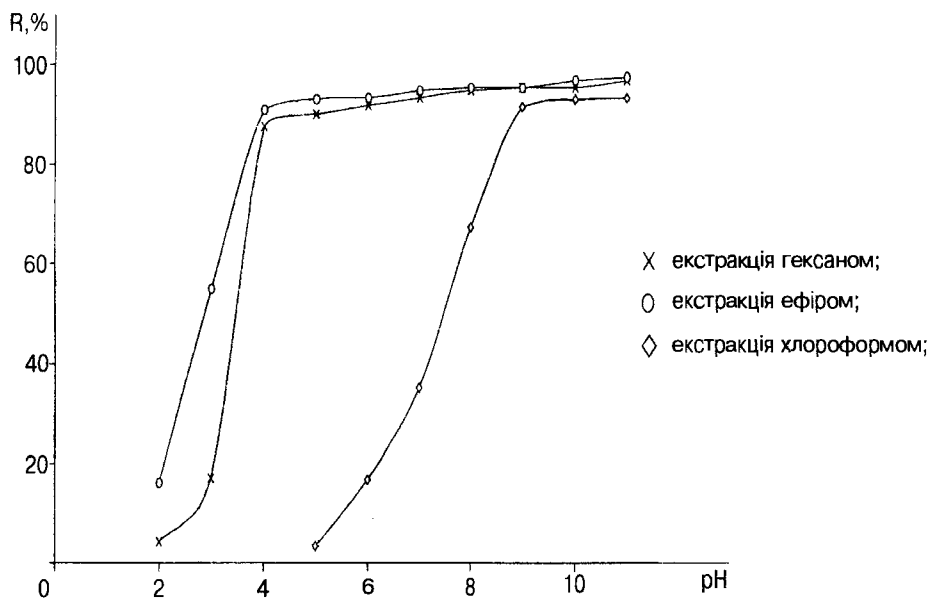


Рис. Залежність ступеня (R, %) екстракції лепонексу від рН середовища.

0,01 М розчині кислоти хлороводневої та 9,1 мл буферного розчину з рН від 2,0 до 10,0 (рН 2,0 підтримували за допомогою розчину НСІ, а в інших випадках використовували ацетатний буферний розчин). Додавали 10 мл органічного розчинника (хлороформу, ефіру чи гексану) та струшували на апараті для струшування (інтенсивність — 130 струшувань за хвилину) протягом 5 хвилин.

Залишали для розширювання на 5 хвилин. Шар хлороформу відокремлювали. Концентрацію лепонексу визначали в ньому розробленим нами раніше екстракційно-фотометричним методом [2].

У випадку використання в якості органічного розчинника ефіру чи гексану органічний шар після відокремлення випаровували на водяній бані при температурі 30-40°C, а потім до сухого залиш-

Таблиця 1

Значення Rf досліджуваних препаратів у різних системах розчинників

Система розчинників	Значення Rf					
	лепонексу	аміназину	трифтазину	амігтриптіліну	дипразину	п-нітроаніліну
1	0,50	0,57	0,49	0,61	0,59	0,66
2	0,55	0,66	0,56	0,66	0,61	0,68
3	0,45	0,46	0,50	0,49	0,28	-
4	0,66	0,56	0,61	0,57	0,58	-
5	0,44	0,21	0,25	0,21	-	-
6	0,38	0,34	0,45	0,43	-	-
7	0,60	0,55	0,50	0,59	-	-
8	0,50	0,40	0,30	0,40	-	-
9	0,44	0,56	0,36	0,59	-	-
10	0,31	0,52	0,31	0,56	-	-
11	0,37	0,56	0,35	0,55	-	-
12	0,06	0,65	0,49	0,72	-	-
13	0,00	0,030,00	0,05	-	-	-
14	0,05	0,49	0,38	0,54	-	-

Примітка. Системи розчинників: 1 — хлороформ — діоксан — ацетон — 25% розчин аміаку (47,5:45:5:2,5); 2 — толуол — ацетон — етанол — 25% розчин аміаку (45:45:7,5:2,5); 3 — хлороформ — метанол (90:10); 4 — метанол — 25% розчин аміаку (100:1,5); 5 — ацетон — вода (1:1); 6 — бутанол — льодяна оцтова кислота — вода (4:1:5); 7 — етанол — 25% розчин аміаку (100:1,5); 8 — бутанол — ацетон — вода (4:5:1); 9 — етилацетат — ксилол — метанол — 25% розчин аміаку (90:5:5:1,5); 10 — етилацетат — хлороформ — 25% розчин аміаку (85:10:5); 11 — толуол — ацетон — 25% розчин аміаку (50:50:1); 12 — гексан — толуол — діетиламін (75:15:10); 13 — гексан — діетиламін (100:1,5); 14 — циклогексан — толуол — діетиламін (75:15:10).

Таблиця 2

Забарвлення плям досліджуваних препаратів на пластинках для ТШХ після проявлення

Проявники	Забарвлення плям (мінімум, що відкривається, мкг)			
	лепонексу	аміназину	трифтазину	амітриптиліну
1	фіолетове (0,5)	голубе	жовте	-
2	червоно-коричневе (0,2)	червоно-коричневе	червоно-коричневе	червоно-коричневе
3	коричневе (0,2)	коричневе	коричневе	коричневе
4	коричневе (0,2)	коричневе	коричневе	коричневе
5	брудно-зелене (1)	малинове	рожеве	-
6	буре, швидко зникає (1)	рожеве	буре	буре
7	оранжеве, з'являється поступово (1)	малинове	рожеве	біле
8	-	рожеве	-	-
9	-	малинове	рожеве	-
10	блідорозове, після нагрівання (0,5)	-	-	-

Примітка. Проявники: 1 — УФ-світло; 2 — реактив Драгендорфа за Мунье; 3 — пари йоду; 4 — 0,3 М розчин міді сульфату та 0,3 М розчин калію йодиду (поєднане обприскування); 5 — реактив Ердмана; 6 — реактив Лібермана; 7 — реактив Форреста; 8 — розчин нінгідрину при нагріванні; 9 — 50% розчин кислоти сірчаної в етанолі; 10 — 3% розчин перекису водню при нагріванні (при температурі 110°C, протягом 10 хвилин); знак (-) — немає забарвлення.

ку додавали 10 мл хлороформу. Визначення концентрації лепонексу в розчині виконували вищезазначеним методом.

#### ВИСНОВКИ

1. Розроблена методика ТШХ-скринінгу лепонексу та ряду інших препаратів, які можуть бути присутні разом з ним, з використанням пластинок

для ТШХ фірми "Merck". Підібрані чутливі проявники.

2. Вивчений ступінь екстракції лепонексу з водних розчинів у залежності від рН середовища. Встановлено, що лепонекс екстрагується органічними розчинниками при рН 4,0 та більш високому, тобто він потрапляє в лужний екстракт.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Барштейн Е. И., Гальперина Н. Н. Особенности терапевтического действия лепонекса при периодической шизофрении. — Тр. Ленинградского научно-исследовательского психоневрологического ин-та. — 1974. — Т. 70. — С. 33-36.
2. Болотов В. В., Тернінко І. І. // Вісник фармації. — 2000. — №4. — С. 11-13.
3. Карташов В. А., Овсянникова В. М., Кудрикова Д. Е. // Судеб.-мед. экспертиза. — 1982. — №3. — С. 39-4.
4. Крамаренко В. Ф. Токсикологическая химия. — К.: Вища школа, 1989. — С. 425-432.
5. Машковский М. Д. Лекарственные средства. В двух томах. Т. 1. — Изд. 13-е; новое. — Х.: Торсинг, 1997. — 560 с.
6. Невинчаний В. И., Вольграм Е. Н. // Судеб.-мед. экспертиза. — 1987. — Т. 30, №2. — С. 59-61.
7. Шталь Э. Хроматография в тонких слоях. — М.: Мир, 1965. — С. 476-492.
8. Bedry R., Deschamps L., Moore N. // Vet. Hum. Toxicol. — Feb. 41(1). — P. 20-22.
9. Clarke's isolation and identification of drugs in pharmaceutical body fluids and post-mortem material. — London: The Pharm. Press, 1986. — 1223 p.
10. Meeker J. E., Hermann P. W. // J. Anal. Toxicol. — 1992. — Vol. 16. — P. 54-56.
11. Proceedings of the 30-th International Meeting. — October 19-23, 1992. — Fukuoka, Japan / Ed. by Takeaki Nagata; The International Association of Forensic Toxicologists. — 1992. — 1560 p.
12. The Bulletin of The International Association of Forensic Toxicologists. — 1996. — Vol. 26. — №1. — 56 p.

УДК 615.074:615.214.2:543.544.42:542.61

#### ПРИМЕНЕНИЕ ХРОМАТОГРАФИИ В ТОНКИХ СЛОЯХ СОРБЕНТА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЛЕПОНЕКСА

В. В. Болотов, И. И. Тернінко

Разработана методика ТСХ-скрининга лепонекса в присутствии ряда других препаратов, которые могут использоваться совместно с ним. Определена степень экстракции лепонекса из водных растворов в зависимости от рН среды. Установлено, что лепонекс экстрагируется органическими растворителями при рН 4,0 и более высоком, т. е. попадает в щелочное извлечение.

UDC 615.074:615.214.2:543.544.42:542.61

#### APPLICATION OF THE CHROMATOGRAPHY IN THE THIN LAYER SORBENT FOR DETERMINATION OF LEPONEX

V. V. Bolotov, I. I. Terninko

The technique of TLC-screening of leponex has been worked out at the presence of a number of other preparations, which can be used together with him. The degree of extraction of leponex from the water solutions in dependence on pH of environment has been calculated. It has been established, that leponex may be extracted by organic solvents with pH 4,0 and higher, i. e. it falls in alkaline extract.