

**ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДІВ ІЗОЛЮВАННЯ ТРЕНТАЛУ****Полуян С.М., Бондар В.С.***Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна**Кафедра лікарської та аналітичної токсикології*

toxchem@nuph.edu.ua

У сучасній медицині широко використовуються препарати, похідні групи пурину (теофілін, теобромін, трентал та ін.), які стимулюють центральну нервову систему та серце, розширюють судини, є діуретиками. Основні препарати групи пурину відомі давно, але з кожним роком кількість нових препаратів збільшується. Препарати групи пурину володіють цінними фармакологічними властивостями, але в певних умовах можуть бути токсичними, так як теобромін, теофілін, трентал – це сильнодіючі лікарські засоби. Відомі випадки отруєння цими препаратами, внаслідок чого вони представляють інтерес у хіміко-токсикологічному відношенні. Об'єктом нашого дослідження є трентал, який застосовують при порушенні периферичного кровообігу (ендотерміті, хворобі Рейно) та цереброваскулярної патології (атеросклеротичних та ішемічних станах), при судинній патології очного дна, при діабетичній нефроангіопатії та ін. Дані у літературі про хіміко-токсикологічний аналіз тренталу, а також методах його виділення з об'єктів біологічного походження практично відсутні, що свідчить про необхідність вивчення методів ізолювання тренталу з біологічного матеріалу та вибору найбільш оптимального методу виділення.

Одним з найбільш важливих етапів проведення хіміко-токсикологічного аналізу є виділення досліджуваних речовин з об'єктів біологічного походження. Суто класичний підхід до виділення речовин з біологічного матеріалу проводиться в два етапи: спочатку речовини ізолюють з відповідних об'єктів, а потім піддають очистці різними методами. У хіміко-токсикологічному аналізі ізолюванням називають процес, при якому речовини, важливі в токсикологічному відношенні, переводять із відповідних об'єктів у рідку фазу (витяжку). Для ізолювання токсичних та сильнодіючих речовин із об'єктів біологічного походження у більшості випадків застосовують методи екстракції полярними розчинниками. Очистка витяжок виконується різними методами, потім проводять ідентифікацію та кількісне визначення виділених речовин.

Спочатку ми дослідили ефективність загальноприйнятих методів ізолювання лікарських речовин стосовно тренталу: методу А.О. Васильєвої (ізолювання водою, підкисленою кислотою оксалатною) та методу Стаса-Отто (ізолювання спиртом, підкисленим кислотою оксалатною) та спеціальних методів ізолювання, які запропонували В.П. Крамаренко (ізолювання водою, підкисленою кислотою сульфатною) та В.А. Карташов (ацетоном, модифікована методика А та Б). При дослідженні методів ізолювання тренталу як секційний матеріал використовували свіжу печінку тварин. Вибір даного модельного матеріалу пояснюється тим, що печінка – один із найбільш складних в аналітичному плані об'єктів, крім того даний орган приймає активну участь у метаболізмі ксенобіотиків.

Для проведення ізолювання за методом А.О. Васильєвої, В.П. Крамаренка, Стаса-Отто секційний матеріал готували так: брали 100 г подрібненої свіжої печінки тварини (по 50 г на основний та на контрольний дослід), переносили до скляних стаканів та вносили в один з них 1 мл розчину тренталу в 0,1 М розчині кислоти хлоридної, який містив 1000 мкг препарату. Для ізолювання тренталу за методом В.А. Карташова (метод А та Б) на дослідження брали 50 г подрібненої печінки тварини (по 25 г на основний та на контрольний дослід). В скляні стакани переносили печінку та додавали по 0,5 мл розчину тренталу в 0,1 М розчині кислоти хлоридної, який містив 500 мкг препарату. Залишали на добу при кімнатній температурі.

Для контролю брали печінку тварини без додавання тренталу. Після цього проводили ізолювання за загальноприйнятими методиками.

За методом В.А. Карташова підготовлений об'єкт заливали 20 мл ацетону (метод А) або сумішшю 10 мл ацетону та 10 мл 0,1 М розчину кислоти хлоридної (метод Б) та струшували 10 хв. Ацетонову витяжку зливали через ватний тампон. Процедуру настоювання повторювали два рази. Ватні тампони збирали, заливали їх 10 мл ацетону, струшували 10 хв та просушували. Ацетонові витяжки об'єднували та центрифугували протягом 5 хв. Надосадову рідину зливали в випарювальні чашки, додавали 2-3 краплі 10 % розчину кислоти хлоридної та випаровували на водяній бані до відсутності запаху ацетону. Водний залишок доводили водою до об'єму 10 мл, перевіряли рН середовища (рН повинна бути 1,0-2,0) та проводили очистку гексаном (1:1). Гексановий шар відкидали. Далі екстрагували трентал тричі хлороформом, хлороформні витяжки випаровували на водяній бані ( $t^{\circ}\text{C}$  40-50), сухий залишок розчиняли в 10 мл 0,1 М розчину кислоти хлоридної. Проводили ідентифікацію та кількісне визначення тренталу.

Після проведення ізолювання проводили ідентифікацію тренталу у «кислій» та «лужній» хлороформних витяжках за допомогою УФ-спектрофотометрії на фоні витяжок з біологічного матеріалу на вміст досліджуваних речовин. Встановлено, що без додаткової очистки ідентифікувати трентал важко. Введення до кожного методу ізолювання додаткової очистки за допомогою гексану (1:1) не повністю усувало забруднюючі речовини, хоча знижувало їх кількість в значній мірі. Для очистки використовували хроматографію у тонких шарах сорбенту. Хроматографування проводили у системі хлороформ-ацетон-ізопропанол-25% розчин амоніаку (7:7:7:2), після чого елюювали із шару носія ( $R_f=0,80\pm 0,02$ ) 10 мл етанолу. Елюати відокремлювали від сорбенту на скляному фільтрі, доводили до об'єму 10 мл етанолом та знімали спектр в області довжини хвилі 200-300 нм, а також проводили кількісне визначення при  $\lambda=272\pm 2$  нм за попередньо побудованому градувальному графіку. Виняток складає тільки метод ізолювання за В.П. Крамаренком (вода, підкислена кислотою сульфатною), при використанні якого хлороформні витяжки були придатні для проведення кількісного визначення без попередньої очистки методом тонкошарової хроматографії.

В результаті проведених досліджень встановлено, що кількість тренталу, виділеного із об'єктів біологічного дослідження різне та залежить від методу ізолювання. При ізолюванні за методом А.О. Васильєвої виділяється 18-26% тренталу, за методом Стаса-Отто ізолюється 26-27% тренталу. При ізолюванні за методом В.П. Крамаренко (водою, підкисленою кислотою сульфатною) тренталу виділяється 30-35%, за методом В.А. Карташова (модифікована методика, ізолювання ацетоном) виділяється 10-14% за методом А та 27-29% за методом Б. За результатами проведених досліджень можна зробити висновки, що найбільша кількість тренталу ізолюється за методом В.П. Крамаренка та ацетоном – модифікований метод В.А. Карташова (метод Б), а найменша кількість – ацетоном за методом А та за методом Стаса-Отто. Данні методи доцільно використовувати при хіміко-токсикологічному аналізі біологічного матеріалу тренталу.

### **Література**

1. Крамаренко, В. П. Токсикологічна хімія / В. П. Крамаренко. – Київ : Вища шк., 1995. – 423 с.
2. Лекарственная токсикология / под ред. С. М. Дрогвоз, В. Д. Лукьянчука, Б. С. Шеймана. – Харьков : Титул, 2015. – 592 с.
3. Токсикологическая химия. Метаболизм и анализ токсикантов : учеб. пособие / под. ред. проф. Н. И. Калетиной. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 1016 с.
4. Clark's analysis of drugs and poisons in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material / A. C. Moffat [et al.]. – 4-th ed. – London ; Chicago : Pharmaceutical Press, 2011. – 2736 p.