

РОЗРОБКА МЕТОДІВ ІДЕНТИФІКАЦІЇ І КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ПОХІДНИХ П-АМІНОБЕНЗОЙНОЇ КИСЛОТИ

Клименко С.В., здобувач вищої освіти ОП «Ветеринарна медицина»

Науковий керівник – **Ладогубець О.В.**, к. біол. н., доцент
Державний біотехнологічний університет, м. Харків, Україна

Актуальність теми. Лікарські засоби, похідні п-амінобензойної кислоти - анестезин, новокаїн і новокаїнамід широко використовуються в сучасній медичній практиці. Анестезин і новокаїн – лікарські засоби місцево-анестезуючої дії. Новокаїнамід застосовують для лікування порушень ритму серця.

Поряд з цим, вони можуть надавати токсичну дію на організм людини, про що свідчить наявність випадків побічних реакцій і отруєння тварин і людей цими лікарськими засобами.

Причинами їх несприятливої дії є передозування і індивідуальна непереносимість, що має місце при прийомі звичайних доз препаратів.

Результати судово-медичних досліджень свідчать про те, що при таких медикаментозних отруєннях морфологічна картина і характер гістологічних змін неспецифічні. Це викликає необхідність розробки високочутливих і швидко-здійсненних методів хіміко-токсикологічного аналізу анестезину, новокаїну, новокаїнаміду. Незважаючи на наявні роботи по визначенню лікарських засобів досліджуваної групи в об'єктах біологічного походження, уніфіковані, легко відтворювані і об'єктивні методи, придатні для цілей хіміко-токсикологічного аналізу відсутні, тому, проведення експертизи на наявність анестезину, новокаїну і новокаїнаміду в трупному матеріалі ускладнено.

У зв'язку з цим, розробка уніфікованого і ефективного методу виділення лікарських засобів групи первинних ароматичних амінів, похідних п-амінобензойної кислоти - анестезину, новокаїну, новокаїнаміду з об'єктів біологічного походження, а так само вдосконалення способів виявлення і кількісного визначення цих речовин в витягах із біологічного матеріалу є однією з актуальних проблем хіміко-токсикологічного аналізу.

Мета дослідження. Розробка методів виділення анестезину, новокаїну, новокаїнаміду з об'єктів біологічного походження, методів їх виявлення та кількісного визначення, придатних для цілей хіміко-токсикологічного аналізу.

Результати досліджень. Для виявлення анестезину, новокаїну і новокаїнаміду, виділених з біологічного матеріалу використовувалась реакція утворення азобарвника.. Нами була вивчена можливість застосування високочутливих 3-похідних родаміну: 3- α , β -дікарбоксіпропілроданіна і 3- α , β -дікарбоксіетілродаміна для виявлення новокаїну, новокаїнаміду і анестеріна в об'єктах біологічного походження. У результаті проведених досліджень встановлено, що за допомогою вищеназваних реактивів можна виявити не тільки токсичні, але і терапевтичні дози досліджуваних речовин.

Межа виявлення анестеріна, новокаїну і новокаїнаміду по реакції їх солей діазонію з 3- α , γ -дікарбоксіпропілроданіном або 3- α , β -дікарбоксіетілроданіном становить 2 мкг в 1,0 мл досліджуваного розчину. Межа виявлення вищевказаних речовин ж біологічного походження становить 0,0002 г в 100,0 г печінки.

З метою проведення ідентифікації похідних п-амінобензойної кислоти модифікували методику виявлення досліджуваних речовин за допомогою методу тонкошарової хроматографії на пластинках «Sibifol UV-254» при використанні трьох систем розчинників:

- нейтральної - хлороформ: етанол (1: 1);
- кислотної - хлороформ: етанол: оцтова кислота (20: 2: 1);
- основний - толуол-ацетон-етанол-аміак (10: 5: 5: 1).

В якості проявника використовували атонові розчини 3- α , γ -дікарбоксіпропілроданіна і 3- α , β -дікарбоксіетілроданіна. Межа виявлення досліджуваних препаратів методом

тонкошарової хроматографії становить - 0,05 мкг. Межу їх виявлення в об'єктах біологічного походження становить 0,0002-0,0004 г в 100 г печінки.

Нами було встановлено, що при використанні загальноприйнятих методик значна частина досліджуваних сполук залишається в кислотних витяжках з біологічного матеріалу і в подальшому велика частина досліджуваних речовин втрачається, що є причиною низької ефективності класичних методів ізолювання досліджуваних речовин з об'єктів біологічного походження.

У зв'язку з цим при розробці методу визначення досліджуваних сполук з біологічного матеріалу ми дослідили можливість використання в якості ізолюючих рідин розчинів кислот різних концентрацій і, встановивши найбільш ефективну ізолюючу рідину, визначили оптимальний режим ізолювання і очищення одержуваних витягів.

Нами досліджена залежність ступеня виділення досліджуваних речовин з біоматеріалу від природи і концентрації, обсягу ізолюючої рідини, від тривалості та кратності настоювання.

З урахуванням проведених досліджень нами розроблений метод, заснований на 6-кратному настоюванні (протягом 10 хвилин кожне) 25г. досліджуваної тканини печінки з 25 мл 1 Н розчину хлорної кислоти.

Для кількісного визначення анестезину, новокаїну і новокаїнаміду нами були вдосконалені фотометричні методики, основані на реакціях утворення азобарвника із застосуванням в якості азовмісної сполуки 3- α , γ -дікарбоксіпропілроданін. Таким чином, за допомогою запропонованого нами способу можна виділити з печінки близько 80% анестезину, близько 76% новокаїну і близько 75% новокаїнаміду. Відносні помилки при цьому не перевищує 5%.

Нами було запропоновано схему хіміко-токсикологічного аналізу лікарських речовин групи первинних ароматичних амінів похідних п-амінобензойної кислоти анестезину, новокаїну, новокаїн аміду, яка включає виділення лікарських речовин з біологічного матеріалу, хроматографічне очищення з використанням метода гель-хроматографії на сорбенті «молелект-G75», або метода сорбції на силікагелі, або поліамідному сорбенті з подальшим хімічним аналізом біологічних проб, використовуючи високо ефективну рідинну хроматографію, газо рідинну хроматографію або фото спектрометрію.

Висновки

1. Розроблено об'єктивні і чутливі методики виявлення досліджуваних речовин в експертному біоматеріалу на основі кольорових реакцій солей діазонію анестезину, новокаїну, новокаїнаміду з 3- α , γ -дікарбоксіпропілроданіном або 3 - α , β -дікарбоксіетілроданіном.

2. Запропоновано методику ТШХ досліджуваних речовин в біопробі, що дозволяє виявити не тільки токсичні, але і терапевтичні дози досліджуваних речовин.

3. Розроблено ефективний метод виділення анестезину, новокаїну, новокаїнаміду з тканини печінки, заснований на ізолювання досліджуваних речовин розчином 1 н. хлорної кислоти.

4. Запропоновано методики виявлення і кількісного визначення анестезину, новокаїну, новокаїнаміду.

5. На підставі проведених досліджень запропоновано схему хіміко-токсикологічного аналізу біологічних об'єктів для діагностики отруєнь, викликаних застосуванням лікарських речовин групи первинних ароматичних амінів похідних п-амінобензойної кислоти анестезину, новокаїну, новокаїнаміду.