

УДК 615.214.2.099.074:543.544.943.3

РАЗРАБОТКА МЕТОДИК ОБНАРУЖЕНИЯ НЕКОТОРЫХ АТИПИЧНЫХ НЕЙРОЛЕПТИКОВ ДЛЯ ЦЕЛЕЙ ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

И.П. Ремезова, Д.С. Лазарян, Т.И. Максименко, Д.Ю. Санжиева, А.Ю. Рыбасова

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России, г. Пятигорск

E-mail: *i.p.remezova@pmedpharm.ru*

Для диагностики отравлений некоторыми атипичными нейролептиками: клозапином, рисперидоном, сертиндолом, оланзапином, арипипразолом необходимо разработать методики их обнаружения как индивидуальных веществ, так и в различных сочетаниях. Целью настоящего исследования явилась разработка методик обнаружения клозапина, рисперидона, сертиндола, оланзапина, арипипразола, галоперидола, оксазема, карбамазепина с использованием методов ТСХ, ВЭЖХ и УФ спектрофотометрии. В работе использовались таблетированные формы клозапина, рисперидона, сертиндола, оланзапина, арипипразола.

Для предварительного исследования изучаемых атипичных нейролептиков в комбинации с типичными нейролептиками и транквилизаторами при ненаправленном анализе (общий скрининг) можно использовать системы растворителей: этанол – вода – 25% раствор аммиака (8:1:1), толуол – ацетон – этанол – 25% раствор аммиака (45:45:7,5:2,5), диоксан – хлороформ – ацетон – 25% раствор аммиака (47,5:45:5:2,5). Систему растворителей этилацетат – хлороформ – 25% раствор аммиака (85:10:5) рекомендуется использовать для частного скрининга рисперидона, сертиндола, оланзапина, галоперидола, систему бензол – этанол – 25% раствор аммиака (50:10:0,5) – для клозапина, сертиндола, оланзапина. Систему этанол – 25% раствор аммиака (100:1,5) целесообразно использовать для хроматографической очистки извлечений из биологических объектов. Методы ВЭЖХ и УФ спектрофотометрии рекомендуются нами для проведения основного исследования клозапина, рисперидона, сертиндола, оланзапина и арипипразола в том случае, если определяется в объекте одно из изучаемых веществ.

Ключевые слова: химико-токсикологический анализ, атипичные нейролептики, клозапин, рисперидон, сертиндол, оланзапин, арипипразол.

METHODS ELABORATION ON DETECTION OF SOME ATYPICAL NEUROLYTIC AGENTS FOR CHEMICAL AND TOXICOLOGICAL ANALYSIS.

I.P. Remezova, D.S. Lazaryan, T.I. Maksimenko, D.Yu. Sanzhieva, A.Yu. Rybasova

Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University of the Ministry of Healthcare of Russia, Pyatigorsk

E-mail: *i.p.remezova@pmedpharm.ru*

It is necessary to elaborate methods of atypical neuroleptic agents detection as individual substances and in different combinations as well for diagnosis of poisoning by some of them: clozapine, risperidone, sertindole, olanzapine, aripiprazole. The purpose of this work is methods elaboration of detection of clozapine, risperidone, sertindole, olanzapine, aripiprazole, haloperidol, oxazepam, carbamazepine using TLC, HPLC and UV spectrophotometry methods.

During this work we used tablet forms of clozapine, risperidone, sertindole, olanzapine, aripiprazole.

It is possible to use solution systems like ethanol-water-25% ammonia solution (8:1:1), toluol-acetone-ethanol-25% ammonia solution (45:45:7.5:2.5), dioxan-chloroform-acetone-25% ammonia solution (47.5:45:5:2.5) for preliminary examination of atypical neuroleptic agents under study in combination with typical neuroleptics and tranquilizers with undirected analysis (general screening). System of solvents ethyl-acetate-chloroform-25% ammonia solution (85:10:5) is recommended to use for individual screening of risperidone, sertindole, olanzapine, haloperidol, benzol-ethanol-25% ammonia solution (50:10:0.5) system to use for clozapine, sertindole, olanzapine. Ethanol-25% ammonia solution (100:1.5) system is reasonable to use for chromatographic clearance of extracts from biological substances under study. We recommend using HPLC method and UV spectrophotometry for carrying out of a principal examination of clozapine, risperidone, sertindole, olanzapine and aripiprazole in case one of the substances under study is determined in the object.

Keywords: chemical and toxicological analysis, atypical neuroleptic agents, clozapine, risperidone, sertindole, olanzapine, aripiprazole.

В настоящее время для лечения шизофрении применяются атипичные нейролептики, к которым в настоящее время относят клозапин, оланзапин, рисперидон, зипразидон, арипипразол и некоторые другие [3, 4]. Атипичные нейролептики за рубежом в значительной степени заменили традиционные препараты в качестве первой линии терапии при лечении шизофрении, несмотря на их высокую стоимость. Дозы препаратов подбираются индивидуально. При переходе с терапии типичным антипсихотиком на атипичный обычно проводят постепенную отмену старых препаратов с «наложением» по времени новой терапии. Однако, с другой стороны, и это отмечается многими авторами, в клинической практике порог доз, за которым могут развиваться двигательные расстройства, минимален, т.е. повышение дозы на 1-2 мг выше терапевтической уже может вызвать развитие патологии [1]. Возможные комбинации атипичных нейролептиков можно условно разбить на три основные категории:

- комбинации атипичных нейролептиков между собой;
- сочетанное применение одного из атипичных антипсихотиков (кроме клозапина) с типичным нейролептиком;
- комбинации некоторых атипичных нейролептиков с транквилизаторами.

Для диагностики отравлений клозапином, рисперидоном, сертиндолом, оланзапином, арипипразолом необходимо разработать методики их обнаружения.

Целью настоящего исследования явилась разработка методик обнаружения клозапина, рисперидона, сертиндола, оланзапина, арипипразола с использованием методов ТСХ, ВЭЖХ и УФ спектрофотометрии.

В работе использовались таблетки «Клоназепам» производства «Polfa Tarchomin S.A.», содержащие 2 мг клозапина, таблетки «Рисполепт» производства «Янсен Фармацевтика Н.В.» (Италия), содержащие 2 мг рисперидона; «Зипрекса таблетки диспергируемые» 5 мг производства «Каталент Ю.К. Свиндон Зидис Лтд.» (Великобритания); таблетки «Сердолект», содержащие 4 мг сертиндола производства «Х. Лундбек АО, Копенгаген» (Дания); «Абилифай таблетки 15 мг» производства «Бристол-Майерс» (США).

Для проведения исследований методом ТСХ использовались готовые пластины «Сорбфил» ПТСХ-АФ-В-УФ.

Для исследований готовились хлороформные растворы клозапина, рисперидона, сертиндола, оланзапина, арипипразола, галоперидола, оксазепам, карбамазепина в

концентрации 0,1 мг/мл. На линию старта хроматографической пластины «Сорбфил» ПТСХ-АФ-В-УФ наносили по 20 мкл исследуемых растворов с помощью микрошприца. Пластины с нанесенными пробами высушивали на воздухе в течение 10 минут, затем помещали в камеру с системой растворителей, предварительно насыщенную их парами в течение 30 минут и хроматографировали восходящим способом. После прохождения фронта растворителей 10 см пластину вынимали и сушили на воздухе в течение 15 мин. Детекцию пятен проводили с помощью УФ света при длине волны 254 нм. Значения величин R_f явились средним результатом трех параллельных определений. Нами использовались общие и частные системы растворителей [2].

Полученные данные представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Значение R_f клозапина, рисперидона, сертиндола, оланзапина, арипипразола, галоперидола, оксазема, карбамазепина в общих системах растворителей

Название вещества	Значение R_f в системе растворителей					
	этанол-вода-25% раствор аммиака (8:1:1)	толуол-ацетон-этанол-25% раствор аммиака (45:45:7,5:2,5)	диоксан-хлороформ-ацетон-25% раствор аммиака (47,5:45:5:2,5)	этилацетат-хлороформ-25% раствор аммиака (85:10:5)	бензол-этанол-25% раствор аммиака (50:10:0,5)	этанол-25% раствор аммиака (100:1,5)
Клозапин	0,60	0,60	0,75	0,53	0,51	0,67
Рисперидон	0,67	0,89	0,84	0,64	0,56	0,60
Сертиндол	-	0,79	-	0,35	0,55	0,68
Оланзапин	0,88	0,63	0,7	0,76	0,55	0,67
Арипипразол	0,82	0,86	-	0,69	0,73	0,78
Галоперидол	0,69	0,57	0,89	0,85	0,66	0,69
Оксазепам	0,85	0,57	0,69	0,81	0,87	0,74
Карбамазепин	0,78	0,67	0,82	0,59	0,68	0,70

Как следует из представленных данных, для предварительного исследования изучаемых атипичных нейролептиков в комбинации с типичными нейролептиками и транквилизаторами при ненаправленном анализе можно использовать системы растворителей: этанол – вода – 25% раствор аммиака (8:1:1), толуол – ацетон – этанол – 25% раствор аммиака (45:45:7,5:2,5), диоксан – хлороформ – ацетон – 25% раствор аммиака (47,5:45:5:2,5). Как видно из представленных данных в системе этилацетат – хлороформ – 25% раствор аммиака (85:10:5) идет наиболее четкое разделение рисперидона, сертиндола, оланзапина, галоперидола. Систему бензол – этанол – 25% раствор аммиака (50:10:0,5) можно использовать для разделения клозапина, сертиндола, оланзапина. Систему этанол – 25% раствор аммиака (100:1,5) целесообразно использовать для хроматографической очистки, так как пятна изучаемых веществ располагаются в средней хроматографической зоне, что позволяет отделить вещества от соэкстрактивных веществ в извлечениях из биологических объектов.

Чувствительность определяли с использованием УФ света, реактива Драгендорфа и паров йода. Нами рекомендуется проводить детектирование изучаемых веществ сначала УФ светом с последующей обработкой парами йода или реактивом Драгендорфа.

Для обнаружения клозапина, рисперидона, сертиндола, оланзапина и арипипразола с использованием метода ВЭЖХ готовили растворы веществ в 96% этаноле. Для определения использовалась хроматографическая колонка размером 2×75 мм, заполненная обращенно-фазовым сорбентом «ProntoSil 120-5-C18 AQ»; подвижная фаза: элюент А – 0,1% раствор кислоты трифторуксусной, элюент Б – ацетонитрил. Условия хроматографирования изучаемых веществ представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Условия обнаружения клозапина, рисперидона, сертиндола, оланзапина и арипипразола с использованием метода ВЭЖХ

Название вещества	Скорость потока, мкл/мин	Время мин	Температура, °С	Объем пробы, мкл	Элюент Б, %	Длина волны нм	Время удерживания основного пика, мин	Время удерживания минорных пиков, мин
Клозапин	100	15	35	10	20-80	240	10,35	5,64
Рисперидон	100	15	35	10	20-80	238	7,85	9,84; 10,91; 13,14
Сертиндол	100	15	20	5	10-90	230	12	-
Оланзапин	100	15	20	2	10-90	260	7,75	8,86; 9,95; 11,02
Арипипразол	200	15	20	10	20-80	260	11,5	13,26; 14,07

Полученные данные свидетельствуют о том, что невозможно подобрать условия, в которых бы обнаруживались все изучаемые вещества. Поэтому метод ВЭЖХ рекомендуется нами для проведения основного исследования клозапина, рисперидона, сертиндола, оланзапина и арипипразола в том случае, если определяется в объекте одно вещество.

Для проведения основного исследования извлечений нами разработаны условия обнаружения клозапина, рисперидона, сертиндола, оланзапина и арипипразола методом УФ спектрофотометрии. Для определения готовились растворы изучаемых веществ в 96% этаноле. Условия обнаружения клозапина, рисперидона, сертиндола, оланзапина и арипипразола методом УФ спектрофотометрии представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Условия обнаружения клозапина, рисперидона, сертиндола, оланзапина и арипипразола методом УФ спектрофотометрии

Название вещества	Концентрация раствора, мг/мл	λ_{max} , нм	λ_{min} , нм
Клозапин	0,1	245±2 и 297±2	-
Рисперидон	0,05	238±2, 275±2, 282±2	253±2
Сертиндол	0,02	225±2 и 260±2	243±2
Оланзапин	0,01	230±2 и 275±2	255±2
Арипипразол	0,02	245±2	-

Полученные данные свидетельствуют о том, что с использованием предложенных условий можно обнаружить клозапин, рисперидон, сертиндол, оланзапин и арипипразол. Нами рекомендуется метод УФ спектрофотометрии использовать для анализа вещественных доказательств небиологического происхождения.

Выводы

Таким образом, нами предложены условия обнаружения клозапина, рисперидона, сертиндола, оланзапина и арипипразола при общем и частном скрининге методом ТСХ, а также условия обнаружения изучаемых веществ при проведении основного исследования методами ВЭЖХ и УФ спектрофотометрии.

Библиографический список:

1. Маляров С.А. Чем должен руководствоваться врач при назначении комбинированной антипсихотической терапии? [Электронный ресурс]. - Режим доступа: <http://www.health-ua.org/archives/health/738.html>.
2. Пospelова, А.А. Оценка возможности использования обращенно-фазной тонкослойной хроматографии в химико-токсикологических исследованиях ряда групп лекарственных и химических соединений / А.А. Пospelова, Л.Н. Карпова, Т.Л. Малкова // Токсикологический вестник. – 2012. – №2.
3. Livingstone M.G. Management of schizophrenia // Prescribers J. – 1996. – № 36. – P. 206-215.
4. The use of atypical antipsychotics in the management of schizophrenia / M. Cambell [et al] // British Journal of Clinical Pharmacology. – 2000. – №6. – P. 432-438.

Ремезова Ирина Петровна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической и токсикологической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов: химико-токсикологический анализ атипичных нейролептиков. E-mail: i.p.remezova@rmedpharm.ru.

Лазарян Джон Седракович – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармацевтической и токсикологической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов: совершенствование способов химико-токсикологического анализа токсических веществ. E-mail: j.s.lazaryan@rmedpharm.ru.

Максименко Татьяна Ивановна – кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры фармацевтической и токсикологической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов: совершенствование способов контроля качества лекарственных средств.

Санжиева Диана Юрьевна – студент 5 курса Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов: химико-токсикологический анализ сертиндола.

Рыбасова Анна Юрьевна – студент 5 курса Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов: химико-токсикологический анализ арипипразола.