

РАЗРАБОТКА МЕТОДИК ИЗОЛИРОВАНИЯ, ИДЕНТИФИКАЦИИ И КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФЛУПЕНТИКСОЛА В МОДЕЛЬНЫХ ПРОБАХ ПЕЧЕНИ И ПОЧЕК

Д. Ю. Санжиева, А. С. Корсаева, И. П. Ремезова, Д. С. Лазарян

*Пятигорский медико-фармацевтический институт — филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ
Минздрава России, г. Пятигорск*

Разработана оптимальная методика изолирования, идентификации и количественного определения флупентиксола в модельных пробах печени и почек. Определена степень извлечения флупентиксола классическими методами.

Ключевые слова: флупентиксол, изолирование, количественное определение

DEVELOPING TECHNIQUES OF ISOLATING, DETECTING AND QUANTIFYING FLUPENTIXOL IN MODEL SAMPLES OF LIVER AND KIDNEYS

D. Y. Sanzhieva, A. S. Karsaeva, I. P. Remezova, D. S. Lazaryan

Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute, Affiliate of the Federal State-Funded Educational Establishment of Higher Education "Volgograd State Medical University"

An optimal technique of isolating, detecting and quantifying flupentixol in model samples of liver and kidneys has been developed. The degree of extraction of flupentixol using conventional methods has been estimated.

Key words: flupentixol, isolation, quantification.

Появление в психиатрической практике атипичных нейролептиков сопровождается ростом числа публикаций, в которых дается самая высокая оценка клинических свойств этих препаратов. К таким свойствам относятся более широкий по сравнению с традиционными (типичными) нейролептиками спектр терапевтической активности, распространяющийся не только на позитивные, но и на негативные симптомы шизофрении, а также аффективные (депрессивные) расстройства. Указывается, что прием атипичных нейролептиков не сопровождается выраженными неврологическими побочными эффектами, столь характерными для типичных нейролептических препаратов. Вместе с тем, судя по данным, содержащимся в многочисленных публикациях, перечисленным свойствам «атипии» обладает и давно использующийся в психиатрической практике нейролептик флупентиксол, являющийся производным тиоксантена [2]. Известны случаи передозировки этим препаратом, которые приводили к острым отравлениям со смертельным исходом и внезапной смерти [1, 4].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Разработка методик изолирования, идентификации и количественного определения флупентиксола в модельных пробах печени и почек.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты химико-токсикологического анализа зависят от правильного выбора объектов исследования, соблюдения правил химико-токсикологического анализа биологического материала на наличие токсических веществ. Основными объектами судебно-химического анализа являлись внутренние органы трупа, а именно печень и почки погибших от механических травм лиц.

Для изолирования флупентиксола из модельных проб применяли метод Стаса-Отто и метод А. А. Васильевой.

Модельную пробу готовили путем добавления к биологическому объекту спиртового раствора флупентиксола, содержащего 15, 40, 100 мг исследуемого вещества, что соответствует терапевтической, токсической и летальной концентрации в пересчете на навеску органа [5]. Полученные пробы оставляли на 24 часа при комнатной температуре.

Изолирование флупентиксола методом Стаса-Отто проводили по следующей методике: навеску объекта массой 50 г настаивали три раза по 24 ч спиртом 96%-м, подкисленным щавелевой кислотой до pH = 2,5—3,0. Спиртовые вытяжки упаривали при 40—50 °С до густоты сиропа и в полученном остатке многократно осаждали белки спиртом 96%-м. Очищенный остаток растворяли в 20—25 мл воды. Водный раствор последовательно экстрагировали диэтиловым эфиром при pH = 2 и pH = 8 после подщелачивания аммиака раствором 25%-м. Растворитель удаляли при комнатной температуре. Сухие остатки, полученные после испарения экстрагента, растворяли в 5 мл спирта 96%-го.

Изолирование флупентиксола методом А. А. Васильевой проводили по следующей методике: навеску измельченного биологического объекта массой 50 г заливали водой очищенной (1:2), подкисляли щавелевой кислотой до pH = 2—2,5 и настаивали 2 раза: 2 ч и 1 ч при периодическом перемешивании. Водную вытяжку процеживали через двойной слой марли и центрифугировали. Надосадочную жидкость отделяли. Центрифугат экстрагировали последовательно диэтиловым эфиром при значениях pH = 2, затем при pH = 8 после подщелачивания аммиака раствором 25 %-м. Растворитель удаляли при комнатной температуре.

Сухие остатки, полученные после испарения экстрагента, растворяли в 5 мл спирта 96 %-го.

Предварительное обнаружение флулентиксола в извлечениях проводили методом ТСХ, используя наиболее оптимальную систему растворителей: бензол — диоксан — аммиака раствор 25%-й (75:20:5), аммиака раствор 25%-й — этанол (1:1) — этилацетат — ацетон (4:90:45) [3]. Во всех случаях наблюдали соответствие Rf пятен извлечений из печени и почек на хроматограмме Rf пятну стандарта флулентиксола.

Для обнаружения флулентиксола в извлечениях методом ВЭЖХ были использованы следующие условия хроматографирования: хроматографическая колонка размером 2 × 75 мм, заполненная обращено — фазовым сорбентом «ProntoSil 120-5-C18 AQ»; подвижная фаза: элюент А — 0,1%-й раствор кислоты трифторуксусной, элюент Б — ацетонитрил, скорость потока — 200 мкл/мин; время — 12 мин; температура — 35 оС; объем пробы — 10 мкл; длина волны — 230 нм.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На хроматограмме (рис. 1—4) обнаружен один основной пик со временем удерживания 6,5 мин, соответствующий флулентиксолу.

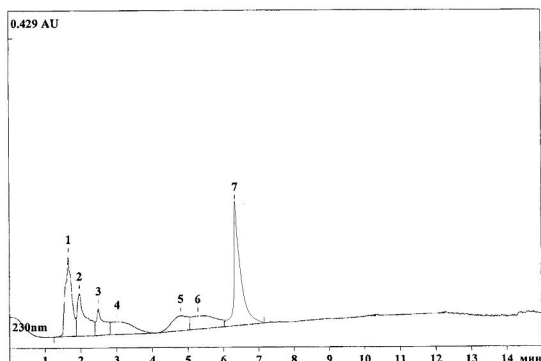


Рис. 1. Хроматограмма извлечения модельной пробы печени, полученного по методу А. А. Васильевой (1—6 — неидентифицированные вещества, 7 — флулентиксол)

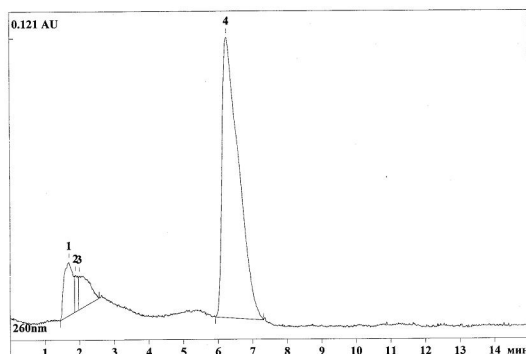


Рис. 2. Хроматограмма извлечения модельной пробы печени, полученного по методу Стаса-Отто (1—3 — неидентифицированные вещества, 4 — флулентиксол)

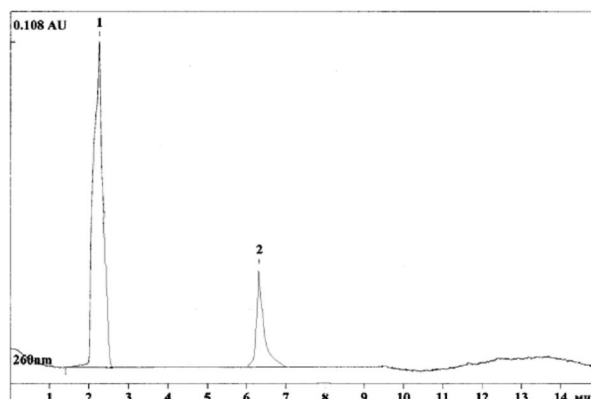


Рис. 3. Хроматограмма извлечения модельной пробы почек, полученного по методу Стаса-Отто (1 — неидентифицированное вещество, 2 — флулентиксол)

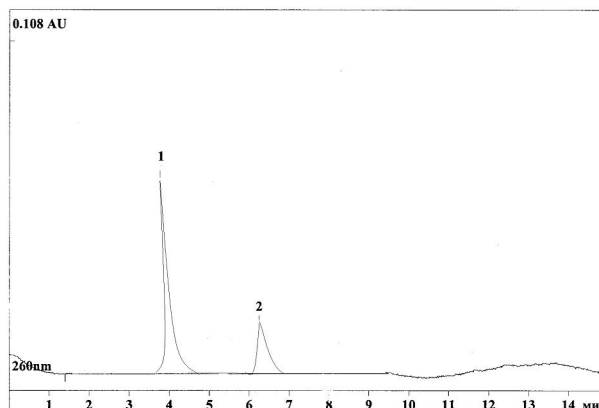


Рис. 4. Хроматограмма извлечения модельной пробы почек, полученного по методу А. А. Васильевой (1 — неидентифицированное вещество, 2 — флулентиксол)

Содержание флулентиксола рассчитывали по формуле 1:

$$X = \frac{S_{ucп} \times C_{cm} \times W}{S_{cm} \times a} \quad (1)$$

где $S_{ucп}$ — площадь пика испытуемого вещества;
 S_{cm} — площадь пика стандартного раствора;
 C_{cm} — концентрация стандартного раствора, мкг/мл;
 a — навеска биологического объекта, г;
 W — объем растворителя, мл.

Расчет степени извлечения (X , %) флулентиксола проводили по формуле 2.

$$X = \frac{X_i}{C_0} \times 100 \quad (2)$$

где X_i — содержание вещества, мг
 C_0 — внесенная в биологический объект концентрация вещества, мг
 Полученные данные представлены в таблицах 1, 2.

Таблица 1

Степень извлечения флупентиксола из модельных проб почек и печени по методу Стаса-Отто

Внесено, мг	Почки			
	pH = 2		pH = 8	
	Степень извлечения, %	Метрологические характеристики	Степень извлечения, %	Метрологические характеристики
15	21,13	$\bar{x} = 21,97$ SD = 0,58 RSD = $\pm 2,63$ % $\Delta X = \pm 1,45$ $\varepsilon = \pm 6,60$ %	64,97	$\bar{x} = 65,51$ SD = 2,05 RSD = $\pm 3,12$ % $\Delta X = \pm 5,09$ $\varepsilon = \pm 7,76$ %
	22,96		68,99	
	21,82		62,58	
40	24,19	$\bar{x} = 23,53$ SD = 0,51 RSD = $\pm 2,16$ % $\Delta X = \pm 1,26$ $\varepsilon = \pm 5,40$ %	72,35	$\bar{x} = 69,72$ SD = 2,12 RSD = $\pm 3,04$ % $\Delta X = \pm 5,28$ $\varepsilon = \pm 7,58$ %
	23,78		70,89	
	22,63		65,93	
100	24,43	$\bar{x} = 24,85$ SD = 0,60 RSD = $\pm 2,41$ % $\Delta X = \pm 1,50$ $\varepsilon = \pm 6,02$ %	68,57	$\bar{x} = 70,91$ SD = 1,74 RSD = $\pm 2,45$ % $\Delta X = \pm 4,31$ $\varepsilon = \pm 6,08$ %
	25,94		73,93	
	24,18		71,89	
Печень				
15	29,24	$\bar{x} = 27,79$ SD = 0,81 RSD = $\pm 2,91$ % $\Delta X = \pm 2,02$ $\varepsilon = \pm 7,29$ %	68,13	$\bar{x} = 67,02$ SD = 2,21 RSD = $\pm 3,30$ % $\Delta X = \pm 5,49$ $\varepsilon = \pm 8,19$ %
	27,15		63,11	
	26,89		69,83	
40	27,11	$\bar{x} = 27,14$ SD = 0,62 RSD = $\pm 2,30$ % $\Delta X = \pm 1,53$ $\varepsilon = \pm 5,64$ %	68,48	$\bar{x} = 67,59$ SD = 1,91 RSD = $\pm 2,80$ % $\Delta X = \pm 4,74$ $\varepsilon = \pm 7,01$ %
	26,18		64,19	
	28,13		70,01	
100	29,98	$\bar{x} = 28,44$ SD = 0,905 RSD = $\pm 3,18$ % $\Delta X = \pm 2,25$ $\varepsilon = \pm 7,90$ %	71,13	$\bar{x} = 68,23$ SD = 2,22 RSD = $\pm 3,30$ % $\Delta X = \pm 5,51$ $\varepsilon = \pm 8,07$ %
	28,19		64,33	
	27,15		69,22	

Таблица 2

Степень извлечения флупентиксола из модельных проб почек и печени по методу А. А. Васильевой

Внесено, мг	Почки			
	pH = 2		pH = 8	
	Степень извлечения, %	Метрологические характеристики	Степень извлечения, %	Метрологические характеристики
15	20,61	$\bar{x} = 20,68$ SD = 0,57 RSD = $\pm 2,76$ % $\Delta X = \pm 1,42$ $\varepsilon = \pm 6,85$ %	64,28	$\bar{x} = 65,32$ SD = 1,65 RSD = $\pm 6,26$ % $\Delta X = \pm 4,09$ $\varepsilon = \pm 6,26$ %
	21,62		63,39	
	19,82		68,28	
40	23,28	$\bar{x} = 24,35$ SD = 0,64 RSD = $\pm 2,63$ % $\Delta X = \pm 1,58$ $\varepsilon = \pm 6,49$ %	64,87	$\bar{x} = 66,47$ SD = 1,41 RSD = $\pm 5,25$ % $\Delta X = \pm 3,49$ $\varepsilon = \pm 5,25$ %
	24,49		65,54	
	25,28		69,01	
100	23,39	$\bar{x} = 24,39$ SD = 0,60 RSD = $\pm 2,46$ % $\Delta X = \pm 1,49$ $\varepsilon = \pm 6,11$ %	64,18	$\bar{x} = 66,77$ SD = 1,53 RSD = $\pm 2,29$ % $\Delta X = \pm 3,80$ $\varepsilon = \pm 5,70$ %
	24,49		67,15	
	25,28		68,98	

Полученные данные свидетельствуют о том, что методом Стаса-Отто из почек изолируется 21,97—24,85 % флупентиксола при pH = 2, относительная ошибка определений 5,40—6,60 %; при pH = 8 изолируется 65,51—70,91 % вещества, относительная ошибка определений 6,08—7,76 %; из печени изолируется 27,14—28,44 % флупентиксола при pH = 2, относительная ошибка определений 5,64—7,29 %. При pH = 8 из печени изолируется 67,02—68,23 %, относительная ошибка определения 7,01—8,19.

Методом А. А. Васильевой из почек изолируется 20,68—24,39 % флупентиксола при pH = 2, относительная ошибка определений 6,11—6,85 %; при pH = 8 из почек изолируется 65,32—66,77 %, относительная ошибка определения 5,25—6,26 %; из печени изолируется 24,13—29,22 % флупентиксола при pH = 2, относительная ошибка определений 5,83—6,98 %; при pH = 8 изолируется 63,91—70,53 % вещества, относительная ошибка определений 5,31—6,41 %.

Таким образом, степень извлечения флупентиксола из биологических объектов используемыми методами значительно выше при значении pH = 8. Методом Стаса-Отто степень извлечения исследуемого вещества незначительно выше из почек, а методом А. А. Васильевой — из печени.

В связи с чем нами рекомендуется при направленном судебно-химическом анализе использовать извлечение, полученное при pH = 8.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Определена степень извлечения флупентиксола из модельных проб печени и почек при использовании классических методов: Стаса-Отто, А. А. Васильевой.

Полученные данные свидетельствуют о необходимости совершенствования методики изолирования исследуемого вещества из внутренних органов, основанной на его физико-химических свойствах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Валиуллина И. М. Сравнительная оценка фармакотерапии атипичными нейролептиками в сочетании с трудотерапией больных шизофренией: автореф. дис. ... к. м. н. — СПб., 2011. — 24с.
2. Дробижев М. Ю., Мухин А. А. Флупентиксол — назад в будущее. Еще один атипичный нейролептик? // Клиника кардиологии ММА им. И. М. Сеченова, НЦПЗ РАМН. — М., 2003. — Т. 05/№ 1. — С. 35—37.
3. Санжиева Д. Ю. Разработка методик обнаружения флупентиксола для химико-токсикологического анализа в объектах небиологического происхождения // Фундаментальная наука и технологии — перспективные разработки. — North Charleston, USA, 2016. — Т. 1. — С. 109—113.
4. Flupentixol; сайт www.inchem.org [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <http://www.inchem.org/documents/pims/pharm/flupenth.htm>.
5. Flupenthixol; сайт www.toxnet.nlm.nih.gov [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <http://www.chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus/rn/2709-56-0>.

Контактная информация

Санжиева Диана Юрьевна — аспирант кафедры фармацевтической и токсикологической химии, Пятигорский медико-фармацевтический институт — филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, e-mail: sanzhieva2011@bk.ru