

ИЗОЛИРОВАНИЕ, ОБНАРУЖЕНИЕ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АЛИМЕМАЗИНА В МОДЕЛЬНЫХ СМЕСЯХ МОЧИ, СЛЮНЫ И ПЛАЗМЫ КРОВИ

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

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

В статье приведены методики обнаружения и количественного определения алимемазина в модельных смесях мочи, слюны и плазмы крови. Изолирование алимемазина из биологических жидкостей предложено проводить методом жидкость-жидкостной экстракции с учетом физико-химических свойств исследуемого вещества. Обнаружение проводилось методами ТСХ и ВЭЖХ, количественное определение — методом ВЭЖХ.

Ключевые слова: алимемазин, модельные смеси.

ISOLATION, DETECTION AND QUANTIFICATION OF ALIMEMAZINE IN MODEL MIXTURES OF URINE, SALIVA AND BLOOD PLASMA

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

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

The article presents the study of the techniques of detecting and quantifying mixtures in models of alimemazine urine, saliva and blood plasma. To isolate alimemazine from biological fluids a method of liquid-liquid extraction analyzing the physicochemical properties of the analyte has been suggested. The detection was carried out using TLC and HPLC quantification — HPLC.

Key words: alimemazine, model mix.

Отравление психотропными препаратами возможно вследствие ошибочного приема более высокой дозы, повышенной чувствительности к ним отдельных лиц, а также при намеренном приеме токсической дозы с суицидальной целью. Потенциальную опасность в последнем случае представляет определенный контингент психически больных с тяжелыми депрессиями, императивными галлюцинациями, бредом [1].

Для диагностики отравлений чаще всего используют такие биологические жидкости, как кровь, моча и слюна [2]. Ранее мы изучили влияние различных факторов (природа органического растворителя, pH среды, наличие электролита, время и кратность экстракции) на изолирование алимемазина из растворов [3]. Полученные результаты были использованы нами при разработке методики изолирования алимемазина из модельных смесей биологических жидкостей.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Разработать методики изолирования, обнаружения и количественного определения алимемазина в модельных смесях мочи, слюны и плазмы.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Объекты исследования: слюна в количестве 5 мл, моча в количестве 100 мл отбирались у здоровых добровольцев, не принимавших лекарственные средства в течение 7 дней. Для приготовления модельных смесей использовали плазму (10 мл), предоставленную станцией переливания крови.

Для приготовления модельных смесей биологических жидкостей использовали следующую методику: к

100 мл мочи, или 10 мл плазмы, или 5 мл слюны добавляли спиртовой раствор алимемазина в терапевтической, токсической и летальной дозах в пересчете на объем биологической жидкости [4]. Полученную смесь оставляли на 24 часа при комнатной температуре.

Изолирование алимемазина из модельных смесей биологических жидкостей проводили следующим образом: к модельной смеси мочи добавляли аммиака раствор 25%-й до pH = 12 и 30 мл хлороформа [3], к модельной смеси слюны добавляли 1 мл раствора трихлоруксусной кислоты 50%-й. Модельную смесь слюны и плазмы крови центрифугировали при 5000 оборотах в минуту в течение 5 минут. Водную фазу отделяли, добавляли аммиака раствор 25%-й до pH = 12 и экстрагировали хлороформом. Содержимое колб взбалтывали и помещали в делительную воронку. После разделения фаз отделяли слой органического растворителя. Растворители удаляли при комнатной температуре. Сухие остатки, полученные после испарения экстрагентов, растворяли в 5 мл спирта 96%-го.

Обнаружение алимемазина в извлечениях проводили методом ТСХ и ВЭЖХ.

ТСХ проводили в наиболее оптимальной системе растворителей — аммиака раствор 25%-й — этанол (1:1) — этилацетат — ацетон (4:90:45) [3]. Во всех случаях наблюдали соответствие R_f пятен на хроматограммах извлечений R_f пятну стандарта алимемазина.

При использовании метода ВЭЖХ использовали следующие условия хроматографирования: хроматографическая колонка размером 275 мм, заполненная обращено-фазовым сорбентом «ProntoSil 120-5-C18AQ»; подвижная фаза: элюент А — 0,1%-й раствор трифтор-

уксусной кислоты, элюент Б — ацетонитрил, скорость потока — 100 мкл/мин; время — 19 мин; температура — 35 °С; объем пробы — 5 мкл.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Получены хроматограммы извлечений, представленные на рисунках 1—3.

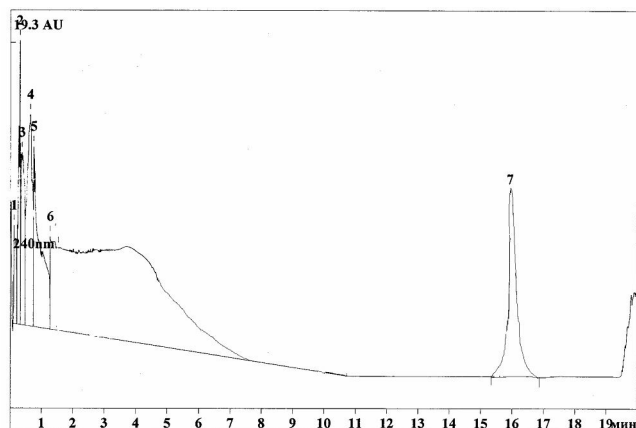


Рис. 1. Хроматограмма модельной смеси мочи (1—6 — неидентифицированные пики, 7 — пик алимемазина)

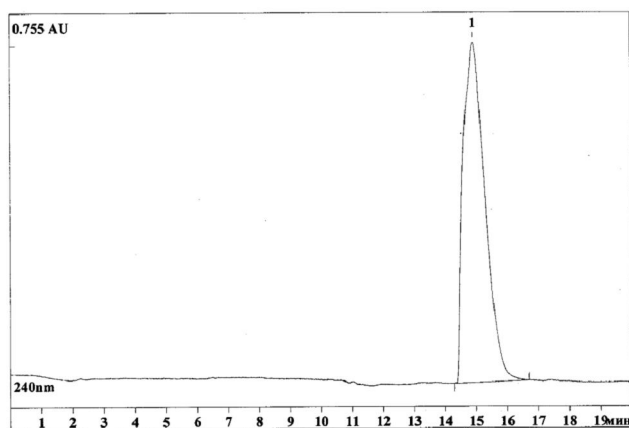


Рис. 2. Хроматограмма модельной смеси слюны

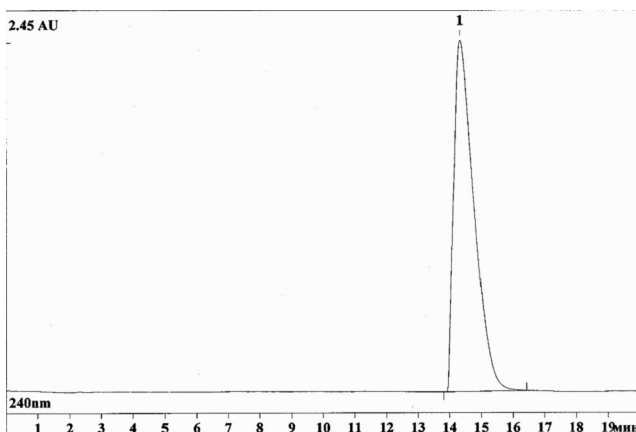


Рис. 3. Хроматограмма модельной смеси плазмы

Полученные данные свидетельствуют о том, что в извлечениях из мочи, слюны и плазмы наблюдали основной пик алимемазина, время удерживания которого соответствовало $(15 \pm 0,5)$ мин. Отклонения во временах удерживания связаны с влиянием биологической матрицы на результаты анализа.

Расчет количественного содержания алимемазина в извлечениях (г/мл) проводили по стандартному образцу, используя формулу:

$$X = \frac{S \times c_{ст}}{S_{ст} \times V}$$

где $S_{ст}$ — площадь пика стандартного раствора;
 S — площадь пика испытуемого раствора;
 $c_{ст}$ — концентрация стандартного раствора, г/мл;
 V — объем биологической жидкости, мл.

Результаты количественного определения алимемазина в извлечениях из биологических жидкостей представлены в табл.

Результаты количественного определения алимемазина в извлечениях из биологических жидкостей

Внесено, г/мл	Обнаружено, г/мл	Метрологические характеристики
Моча		
0,015	0,0106	$\bar{X} = 0,0103$ SD = 0,0003 RSD = $\pm 2,91\%$ $\varepsilon = \pm 6,64\%$
	0,0105	
	0,0098	
0,025	0,0179	$\bar{X} = 0,0176$ SD = 0,000348 RSD = $\pm 1,98\%$ $\varepsilon = \pm 4,9\%$
	0,0180	
	0,0170	
0,2	0,145	$\bar{X} = 0,150$ SD = 0,002608 RSD = $\pm 1,74\%$ $\varepsilon = \pm 4,32\%$
	0,147	
	0,158	
Слюна		
0,0035	0,0023	$\bar{X} = 0,0022$ SD = $7,3 \cdot 10^{-5}$ RSD = $\pm 3,31\%$ $\varepsilon = \pm 8,12\%$
	0,0021	
	0,0023	
0,005	0,0032	$\bar{X} = 0,0032$ SD = $9,66 \cdot 10^{-5}$ RSD = $\pm 3,01\%$ $\varepsilon = \pm 7,57\%$
	0,0030	
	0,0033	
0,04	0,027	$\bar{X} = 0,027$ SD = 0,00096 RSD = $\pm 3,58\%$ $\varepsilon = \pm 8,77\%$
	0,026	
	0,029	
Плазма		
0,0007	0,00045	$\bar{X} = 0,00042$ SD = $1,9 \cdot 10^{-5}$ RSD = $\pm 4,52\%$ $\varepsilon = \pm 11,37\%$
	0,00039	
	0,00041	

Окончание таблицы

Внесено, г/мл	Обнаружено, г/мл	Метрологические характеристики
0,001	0,00060	$\bar{X} = 0,00063$ $SD = 1,61 \cdot 10^{-5}$ $RSD = \pm 2,55\%$ $\varepsilon = \pm 6,35\%$
	0,00065	
	0,00064	
0,008	0,0050	$\bar{X} = 0,0053$ $SD = 0,000158$ $RSD = \pm 2,98\%$ $\varepsilon = \pm 7,47\%$
	0,0055	
	0,0053	

Предложенные условия позволяют обнаружить 68,7—75,0 % алимемазина из модельной смеси мочи, 62,86—67,5 % алимемазина из модельной смеси слюны, 60—66 % алимемазина из модельной смеси плазмы.

Наибольшая степень извлечения и наименьшее значение ошибки определения наблюдается в извлечениях из мочи. Степень извлечения изучаемого вещества из слюны и плазмы меньше, ошибка определения больше. Это связано с проведением дополнительной подготовки проб слюны и плазмы при изолировании.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, разработанные методики могут быть использованы в химико-токсикологическом анализе алимемазина в моче, слюне и плазм.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авруцкий, Г. Я. Неотложная помощь при отравлениях психотропными средствами и побочных эффектах психофармакотерапии / Г. Я. Авруцкий // Неотложная помощь в психиатрии. — М.: Медицина, 1979. — 184 с.
2. Об утверждении Порядка организации и производства судебно-медицинских экспертиз в государственных судебно-экспертных учреждениях Российской Федерации [Электронный ресурс]: приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 12 мая 2010 г. — № 346н. — Режим доступа: <http://base.garant.ru/12177987/>
3. Обнаружение алимемазина в вещественных доказательствах небиологического происхождения / А. С. Рыбасова [и др.] // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. — Пятигорск, 2016. — Вып. 71. — С. 180—184.
4. Alimemazine: сайт Toxnet [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2>.

Контактная информация

Рыбасова Анна Сергеевна — аспирант кафедры фармацевтической и токсикологической химии, Пятигорский медико-фармацевтический институт — филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, e-mail: anna.rybasova@yandex.ru