

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ И ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА АМИСУЛЬПРИДА, СУЛЬПИРИДА И ТИАПРИДА В СЛЮНЕ

*Аннотация.* В статье предложен метод идентификации нейролептиков производных бензамида (амисульприда, сульпирида и тиаприда) в извлечениях из слюны. По результатам полученных исследований предложенная методика позволяет с высокой воспроизводимостью и достоверностью проводить идентификацию исследуемых веществ с соэкстрактивными веществами в извлечениях из слюны.

*Ключевые слова:* нейролептики, амисульприд, сульпирид, тиаприд, слюна, высокоэффективная жидкостная хроматография.

*Abstract.* The article suggests a method to identify neuroleptics of benzamid derivatives (amisulpride, sulphiride and tiapride) in saliva extracts. According to research results the suggested method enables to reliably identify the substance under investigation with co-extract substances in saliva extracts.

*Key words:* neuroleptics, amisulpride, sulphiride, tiapride, saliva, HPLC.

### Введение

В настоящее время в медицинской практике широко используются психотропные лекарственные средства – нейролептики, к которым относится группа нейролептиков производных бензамида. К представителям данной группы относятся: амисульприд (4-амино-N-[(1-этил-2-пирролидинил)метил]-5-(этил-сульфонил)-2-метоксибензамид), сульпирид (N-[(1-Этил-2-пирролидинил)метил]-2-метокси-5-сульфамоилбензамид), тиаприд (N-[2-(N,N-Диэтил-амино)этил]-2-метокси-5-(метилсульфонил)-бензамид), которые применяются для лечения различных форм шизофрении; при психомоторном возбуждении и агрессивных состояниях, особенно при хроническом алкоголизме или в пожилом возрасте, депрессиях различной этиологии, острых маниакальных и маниакально-бредовых состояниях. Достаточно часто встречаются случаи острого и хронического отравления, передозировки этими лекарственными препаратами, а также их немедикаментозное и бесконтрольное применение [1, 2]. В настоящее время интенсивно используются и развиваются методы терапевтического мониторинга, основанные не на анализе крови, а на определении концентрации препарата в слюне, являющейся почти безбелковым ультрафильтратом крови. Уровень в слюне пропорционален плазматической концентрации лекарственного препарата, не связанного с белками плазмы [3].

Поэтому целью нашего исследования явилась разработка методики определения нейролептиков производных бензамида (амисульприда, сульпирида и тиаприда) в слюне наиболее современным и достоверным методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

### **Материалы и методы**

Количество слюны, выделяемое человеком за сутки, зависит от характера и режима питания, в среднем оно составляет около 1000–1500 мл [3]. Разовая доза исследуемого лекарственного препарата составляет от 200 до 400 мг для взрослого человека. Обоснование выбора ориентировочного объема анализируемой пробы слюны представлено по приведенным формулам:

$$C = \frac{200}{1500} = 0,133 \text{ мг/мл}, \quad (1)$$

где 200 – средняя разовая доза нейролептиков производных бензамида, мг; 1500 – среднесуточный объем слюны взрослого человека, мл.

Расчет основан на том, что вся доза принятого вещества за сутки пройдет через весь суточный объем слюны.

Основной недостаток слюны в качестве объекта анализа заключается в трудности получения достаточного ее количества. Поэтому оптимальным объемом пробы слюны, которую можно взять в течение до 3 мин при стимуляции слюноотделения жеванием, является 5 мл.

При взятии пробы слюны объемом 5 мл в ней будет находиться около 0,665 мг производного бензамида (амисульприда/сульпирида/тиаприда), что достаточно его для обнаружения:

$$5 \times 0,133 = 0,665 \text{ мг}, \quad (2)$$

где 5 – объем пробы, мл; 0,133 – содержание производного бензамида в 1 мл слюны, мг.

Следовательно, объем пробы слюны 5 мл позволит обнаружить и количественно определить любой из производных бензамида при минимальном однократном терапевтическом приеме лекарственного вещества.

Изолирование нейролептиков производных бензамида сводилось к следующему: к пробе слюны объемом 5 мл, содержащей производные бензамида в трех различных концентрациях (минимальная, средняя и максимальная терапевтические концентрации) по 5 проб, что достаточно для установления воспроизводимости результатов, прибавляли 1 мл 50 %-го раствора кислоты трихлоруксусной. После осаждения эндогенных веществ пробу центрифугировали при 5000 об/мин в течение 5 мин. Водную фазу отделяли, доводили значение рН среды до 12 аммиаком водным и добавляли аммония сульфат до насыщения. Экстрагирование проводили хлороформом объемом 10 мл в течение 5 мин. Органическую фазу переносили в выпарительную чашку и осуществляли удаление растворителя в токе теплого воздуха при температуре 30–40 °С. Полученный сухой остаток после выпаривания растворяли в воде, переносили в мерную колбу на 25 мл или 10 мл и доводили объем до метки.

Предложенная методика идентификации нейролептиков производных бензамида проводилась на микроколоночном жидкостном хроматографе «Милихром А-02» с УФ-детектором производства ЗАО «ЭкоНова» (Россия). Полностью автоматическое устройство позволяло в соответствии с заданной программой обеспечивать выполнение всех циклов: промывки колонки,

набора и ввода пробы. Исследование осуществляли на хроматографической колонке размером 2×75 мм, заполненной обращенно-фазовым сорбентом «Силасорб С18». В качестве элюента применяли 0,1 %-й раствор трифторуксусной кислоты (А), ацетонитрил (Б) в градиентном режиме от 10 % элюента Б до 80 % за 30 мин. Скорость подачи подвижной фазы составляла 100 мкл/мин. Время измерения – 0,18 сек, а температура термостата колонки была равна 35 °С. Исследованию подвергали вышеописанные лекарственные вещества (амисульприд, сульпирид и тиаприд) в водном растворе.

### Результаты и их обсуждение

Прецизионность (воспроизводимость) характеризует случайное рассеяние результатов относительно среднего значения. Для этого проводилась оценка метрологических характеристик. Результаты хроматографирования представлены в табл. 1.

Таблица 1

Результаты хроматографирования амисульприда, сульпирида, тиаприда методом ВЭЖХ

Нейролептик производный бензамида	Время удерживания, мин ( $n = 6$ )
Амисульприд	10,40 ± 0,28
Сульпирид	7,59 ± 0,21
Тиаприд	8,40 ± 0,26

Время удерживания исследуемых веществ при извлечении из слюны совпадало со временем удерживания стандартных препаратов без матрицы-слюны.

Особой проблемой при идентификации биологических жидкостей является ложная положительная реакция, которую могут дать соэкстрактивные вещества. Особой ценностью разработанной методики идентификации ВЭЖХ является четкое разделение соэкстрактивных веществ с исследуемыми веществами, причем выход соэкстрактивных веществ происходит вначале (рис. 1), а затем выходят нейролептики производных бензамида. На хроматограмме представлен экстракт соэкстрактивных веществ из слюны без присутствия исследуемых веществ. Это дает возможность показать, что у них не совпадает время удерживания с временем удерживания исследуемых веществ, и при разработанной методике они не мешают определению изучаемых веществ.

Как видно на рис. 1, извлечение по предложенной методике содержит шесть соэкстрактивных веществ, которые в предложенной методике идентификации не мешают определению нейролептиков производных бензамида.

### Выводы

По результатам проведенных исследований предложена методика идентификации нейролептиков производных бензамида (амисульприда, сульпирида и тиаприда) в извлечении из слюны, которая может быть использована для обнаружения и качественного определения исследуемых веществ в биожидкости человека.

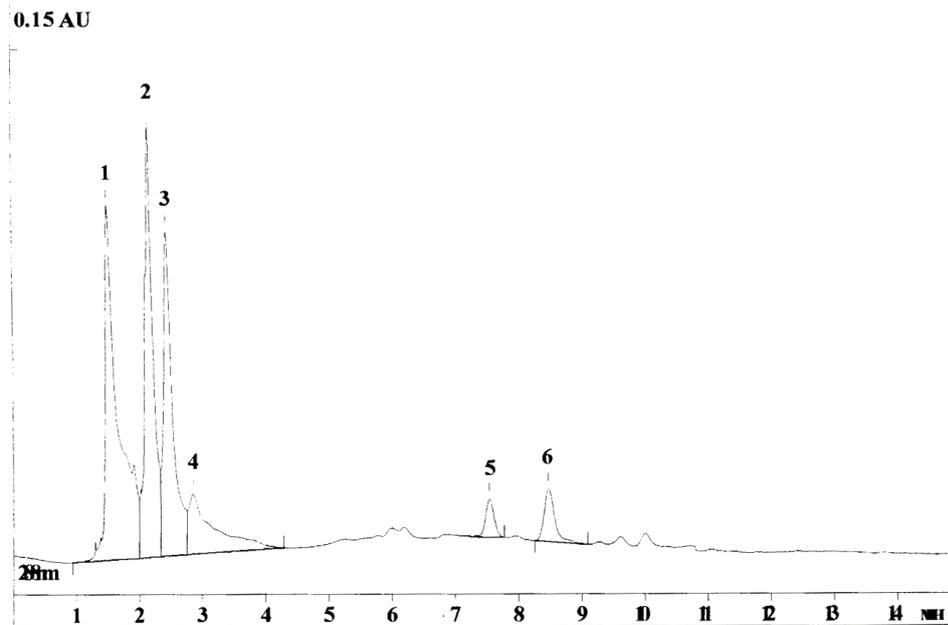


Рис. 1. Хроматограмма извлечения из слюны при ВЭЖХ анализе (1–6 – неидентифицированные пики соэкстрактивных веществ)

#### Список литературы

1. Калёкин, Р. А. Изучение особенностей использования в практической медицине нейролептиков производных бензамида для целей судебной медицины / Р. А. Калёкин // Экспертъ. – 2012. – № 2. – С. 49–51.
2. Калёкин, Р. А. Токсикологическая характеристика нейролептиков – замещенных бензамидов / Р. А. Калёкин, Е. М. Саломатин, В. А. Калёкина // Судебно-медицинская экспертиза. – 2007. – № 6. – С. 31–34.
3. Исследование уровня концентрации теофиллина в сыворотке крови и слюне человека с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии / Б. Е. Кушкенбаева и др. // Современные методы химико-токсикологического анализа : сб. науч. тр. – М., 1986. – С. 180–189.

---

**Калёкин Роман Анатольевич**  
кандидат фармацевтических наук,  
старший научный сотрудник, Российский  
центр судебно-медицинской экспертизы  
(г. Москва)

**Kalyokin Roman Anatolyevich**  
Candidate of pharmaceutical sciences,  
senior staff scientist, Russian center  
of forensic medical examination (Moscow)

E-mail: kalyokin@yandex.ru

---

УДК 615.2

**Калёкин, Р. А.**

**Использование метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для количественного определения и терапевтического мониторинга амисульприда, сульпирида и тиаприда в слюне / Р. А. Калёкин // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2012. – № 4 (24). – С. 33–36.**