



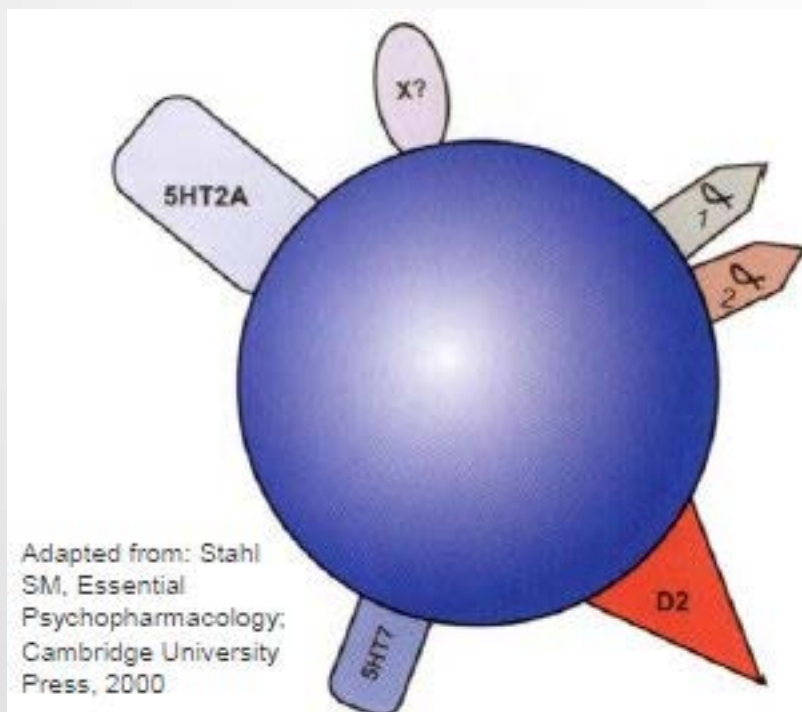
**Пятигорский медико-фармацевтический институт - филиал  
ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский  
университет» Минздрава России**

# **РАЗРАБОТКА МЕТОДИК ИДЕНТИФИКАЦИИ И КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ НЕКОТОРЫХ АТИПИЧНЫХ НЕЙРОЛЕПТИКОВ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТАХ**

**И.П. Ремезова, Д.С. Лазарян, А.В. Воронков,  
М.В. Сварыч, А.С. Рыбасова, Д.Ю. Санжиева**

# АТИПИЧНЫЕ НЕЙРОЛЕПТИКИ

- Клозапин
- Рисперидон
- Сертиндол
- Оланзапин
- Арипипразол



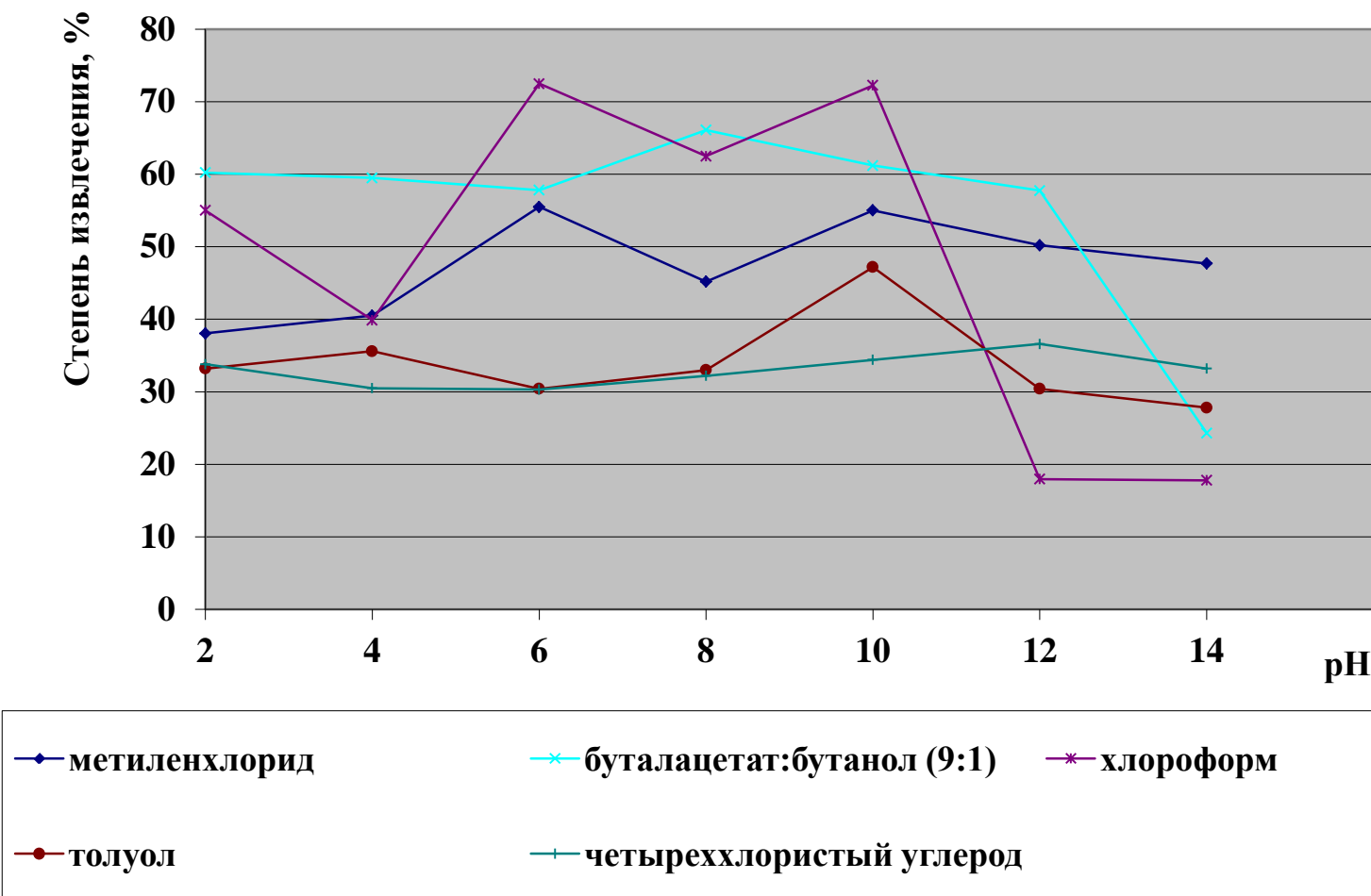
# **Цель исследования:**

**.Изучить влияние некоторых факторов экстракции (природа органического растворителя, рН среды, наличие электролита, время и кратность экстракции) на степень извлечения сертиндола, оланзапина и арипипразола из водных растворов**

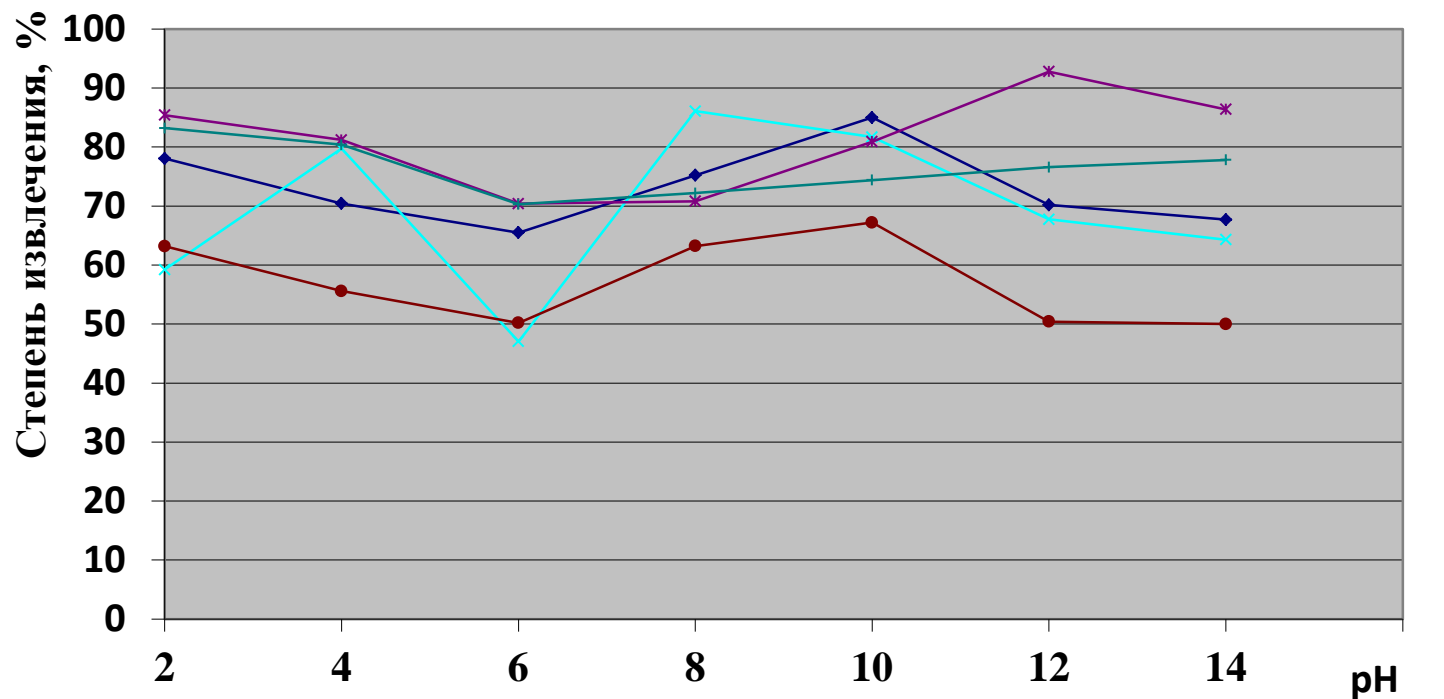
**.Разработать методики изолирования сертиндола, оланзапина, арипипразола из внутренних органов**

**.Разработать методики обнаружения сертиндола, оланзапина, арипипразола с использованием ТСХ, ВЭЖХ и УФ спектрофотометрии**

## Зависимость степени извлечения сертиндола от рН среды и природы органического растворителя



## Зависимость степени извлечения оланзапина от рН среды и природы органического растворителя



—♦— метиленхлорид

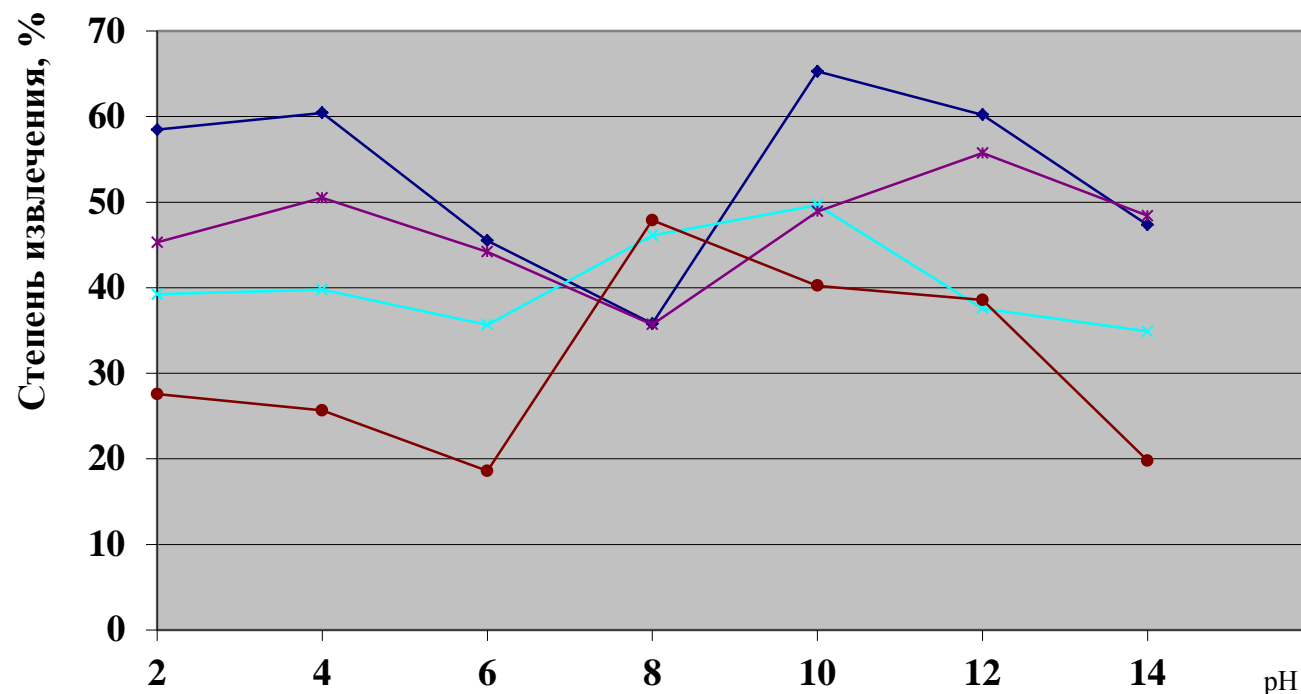
—\*— хлороформ

—+— четыреххлористый углерод

—x— бутацетат:бутанол (9:1)

—●— толуол

## Зависимость степени извлечения арипипразола от рН среды и природы органического растворителя



◆ хлороформ    ✕ бутилацетат:бутанол (9:1)    \* метиленхлорид    ● этилацетат

## Определение степени извлечения атипичных нейролептиков в зависимости от добавленного электролита

Используемый электролит	Степень извлечения, %		
	сертиндол	оланзапин	арипипразол
Раствор натрия хлорида 20%	72,35	34,70	60,34
Раствор натрия хлорида насыщенный	72,15	37,06	54,37
Раствор натрия сульфата 5%	70,24	65,21	50,25
Раствор натрия сульфата насыщенный	71,87	93,26	54,78
Раствор аммония сульфата 20%	72,18	46,50	55,02
Раствор аммония сульфата насыщенный	70,97	75,93	58,24
Раствор натрия карбоната 10%	71,67	66,8	48,24
Раствор натрия карбоната насыщенный	72,44	60,3	45,56

## Определение степени извлечения атипичных нейролептиков в зависимости от времени

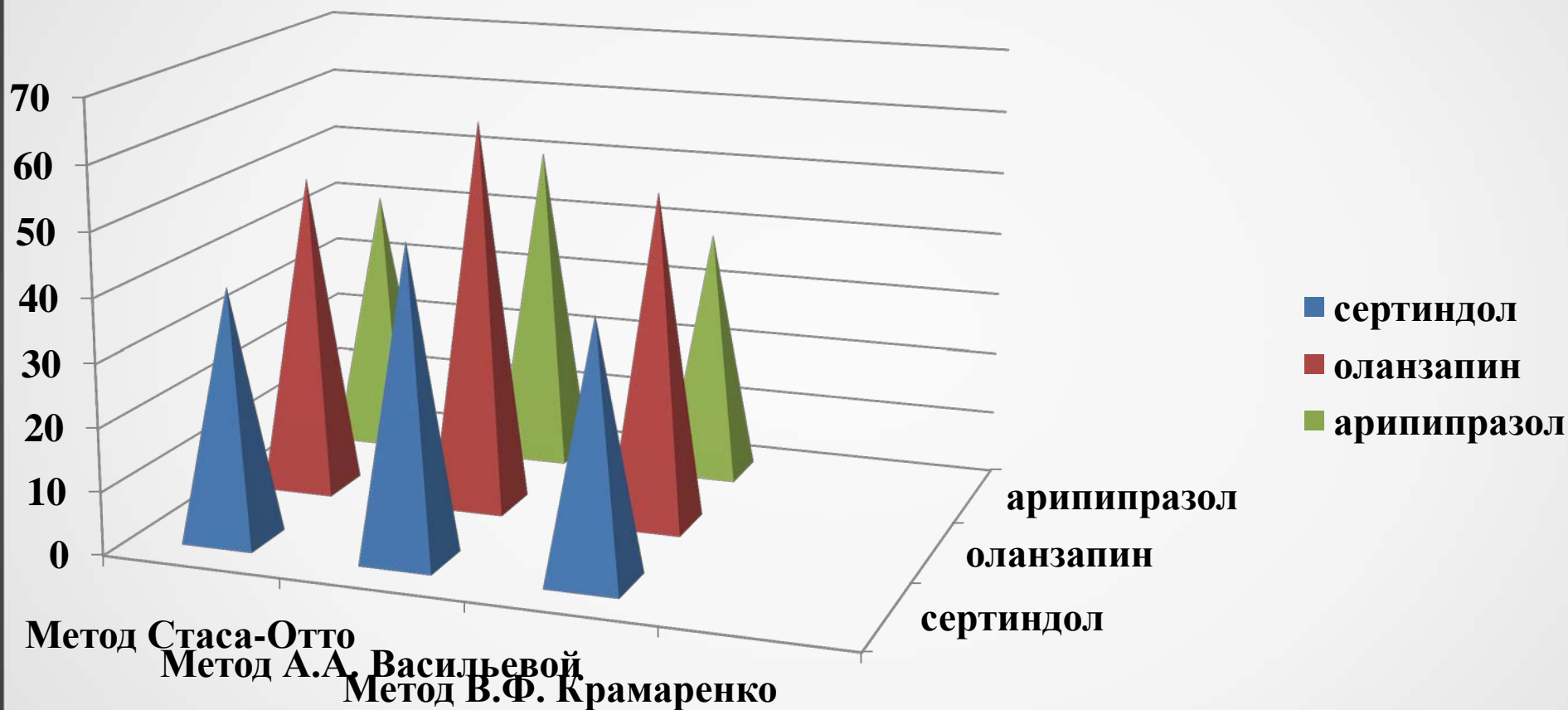
Время, мин	Степень извлечения, %		
	сертиндол	оланзапин	арипипразол
3	72,26	93,31	60,34
5	73,22	61,04	65,67
7	73,25	45,42	62,48



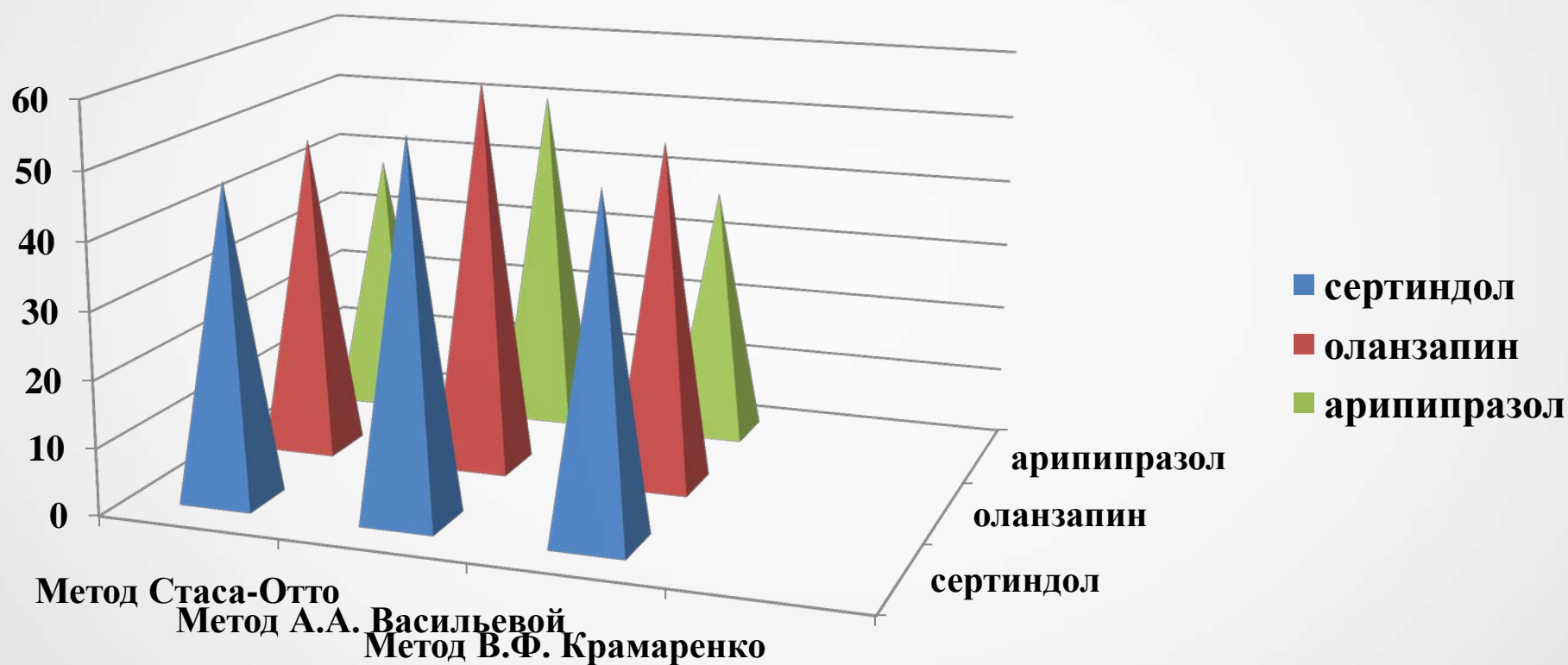
## Определение степени извлечения атипичных нейролептиков в зависимости от кратности экстракции

Кратность	Степень извлечения, %		
	сертиндол	оланзапин	арипипразол
Однократная	73,25	93,51	65,67
Двухкратная	73,02	93,01	66,78
Трехкратная	73,22	92,75	66,83

## Степень извлечения сертиндола, оланзапина и арипипразола из модельной пробы печени



## Степень извлечения сертиндола, оланзапина и арипипразола из модельной пробы почек



# Методика изолирования сертиндола, оланзапина и арипипразола из внутренних органов

навеску измельченного объекта заливали 40% раствором этанола (1:2), подкисляли 0,1 М раствором кислоты хлороводородной до оптимального значения pH



настаивали 2 ч при периодическом взбалтывании, к водной фазе добавляли 5 мл диэтилового эфира, органический слой отбрасывали

к водной фазе прибавляли 1 мл раствора электролита и 3 мл хлороформа

содержимое колбы взбалтывали в течении 5 минут и помещали в делительную воронку

после разделения фаз отделяли слой органического растворителя

растворители удаляли при комнатной температуре

сухие остатки, полученные после испарения экстрагента, растворяли в 5 мл 96% этанола и проводили обнаружение

водную фазу подщелачивали 25% раствором аммиака до оптимального значения pH

прибавляли 1 мл раствора электролита и 3 мл хлороформа

содержимое колбы взбалтывали в течении

5 минут и помещали в делительную воронку

после разделения фаз отделяли слой органического растворителя

растворители удаляли при комнатной температуре

сухие остатки, полученные после испарения экстрагента, растворяли в 5 мл 96% этанола и проводили обнаружение

- Для разработки методик обнаружения некоторых атипичных нейролептиков в комбинации с типичными нейролептиками и транквилизаторами при проведении предварительного и основного исследования в ХТА необходимо предложить оптимальные условия разделения изучаемых веществ в различных системах растворителей, реагенты для детекции и определить предел обнаружения

# ОБЩИЕ СИСТЕМЫ РАСТВОРИТЕЛЕЙ

**А-хлороформ – ацетон (9:1);**

**Б – этанол-вода-25% раствор аммиака (8:1:1);**

**В – хлороформ-диоксан-ацетон – 25% раствор аммиака (45:47,5:5:2,5);**

**Г – толуол – ацетон-этанол-25% раствор аммиака (45:45:7,5:2,5);**

**Д- диоксан-хлороформ-ацетон-25% раствор аммиака (47,5:45:5:2,5);**

**Е – ацетонитрил-изопропанол-вода (5:3:2)**

# ЧАСТНЫЕ СИСТЕМЫ РАСТВОРИТЕЛЕЙ

**Ж- толуол-ацетон-25% раствор аммиака (50:10:5);**

**З- этанол-25% раствор аммиака (100:1,5);**

**И- хлороформ-ацетон (90:10);**

**К- метиленхлорид-метанол-25% раствор аммиака (85:15:1);**

**Л- этилацетат-25% раствор аммиака-уксусная кислота (26:1,6:3,3);**

**М- хлороформ-метанол (100:10);**

**Н- этилацетат-хлороформ-25% раствор аммиака (85:10:5);**

**О- бензол-этанол-25% раствор аммиака (50:10:0,5);**

**П- метанол - 25% раствор аммиака (100:1,5)**

**Значение  $R_f$  клозапина, рисперидона, сертиндола, оланзапина, арипипразола, галоперидола, оксазепам, карбамазепина в общих системах растворителей**

Название вещества	Значение $R_f$ в системе					
	А	Б	В	Г	Д	Е
Клозапин	0,08	0,60	0,85	0,60	0,75	0,58
Рисперидон	0,04	0,67	0,77	0,89	0,84	0,71
Сертиндол	0,04	-	-	0,79	-	-
Оланзапин	0,03	0,88	0,67	0,63	0,7	0,42
Арипипразол	0,15	0,82	0,90	0,86	-	0,9
Галоперидол	0,05	0,69	0,90	0,57	0,89	0,72
Оксазепам	0,33	0,85	0,69	0,57	0,69	0,81
Карбамазепин	0,52	0,78	0,80	0,67	0,82	0,89



**Значение  $R_f$  клозапина, рисперидона, сертиндола, оланзапина, арипипразола, галоперидола, оксазепам, карбамазепина в частных системах растворителей**

Название вещества	Значение $R_f$ в системе								
	Ж	З	И	К	Л	М	Н	О	П
Клозапин	0,52	0,67	0,22	-	0,65	0,42	0,53	0,51	0,53
Рисперидон	0,92	0,60	0,65	0,75	-	0,92	0,64	0,56	0,60
Сертиндол	-	0,68	0,06	0,95	-	0,8	0,35	0,55	0,51
Оланзапин	0,03	0,67	0,06	0,96	-	0,76	0,76	0,55	0,57
Арипипразол	0,04	0,78	0,25	0,96	0,09	0,89	0,69	0,73	0,78
Галоперидол	0,57	0,69	0,10	0,02	0,15	0,75	0,85	0,66	0,73
Оксазепам	0,80	0,74	0,42	0,94	0,67	0,83	0,81	0,87	0,80
Карбамазепин	--	0,70	-	-	0,88	0,82	0,59	0,68	0,80

# ОБНАРУЖЕНИЕ МЕТОДОМ УФ - СПЕТРОФОТОМЕТРИИ

Название вещества	Концентрация раствора, мг/мл	$\lambda_{\max}$ , нм	$\lambda_{\min}$ , нм
Сертиндол	0,02	225 $\pm$ 2 и 260 $\pm$ 2	243 $\pm$ 2
Оланзапин	0,01	230 $\pm$ 2 и 275 $\pm$ 2	255 $\pm$ 2
Арипипразол	0,02	245 $\pm$ 2	-

# УСЛОВИЯ ХРОМАТОГРАФИРОВАНИЯ

Хроматографическая колонка 2x75 мм

Сорбент «ProntoSil 120-5-C18 AQ»

Элюент А — 0,1% раствор трифторуксусной кислоты

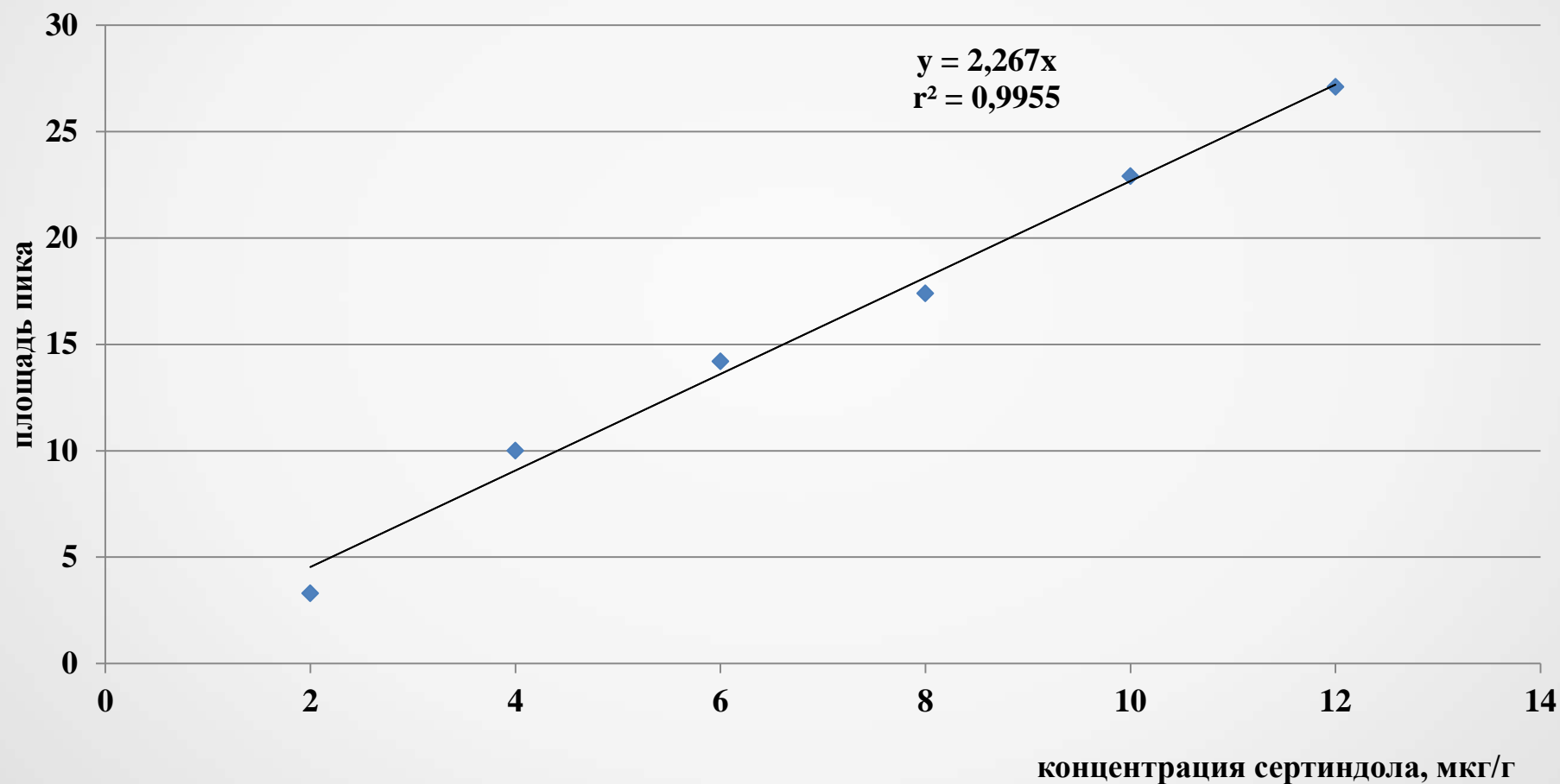
Элюент Б - ацетонитрил

Название вещества	Скорость потока, мкл/мин	Время измерения, мин	Температура термостата колонки, °C	Объем пробы, мкл	Элюент Б, %	Длина волны, нм	Время удерживания основного пика, мин	Время удерживания минорных пиков, мин
Сертиндол	100	15	20	5	10-90	225	12	-
Оланзапин	100	15	20	2	10-90	275	7,75	8,86; 9,95; 11,02
Арипипразол	200	15	20	10	20-80	245	11,5	13,26; 14,07

## Результаты вычисления предела количественного определения сертиндола в печени

Площади пиков фоновых сигналов	Концентрация определяемого вещества, мкг/г	Площадь пика	Коэффициент чувствительности
1	2	3,3	SD=0,55 S=2,38 LOQ=2,31 мкг/г
2	4	10,0	
2	6	14,2	
1	8	17,4	
1	10	22,9	
2	12	27,1	

## Градуировочный график зависимости площади пика от концентрации сертиндола в печени



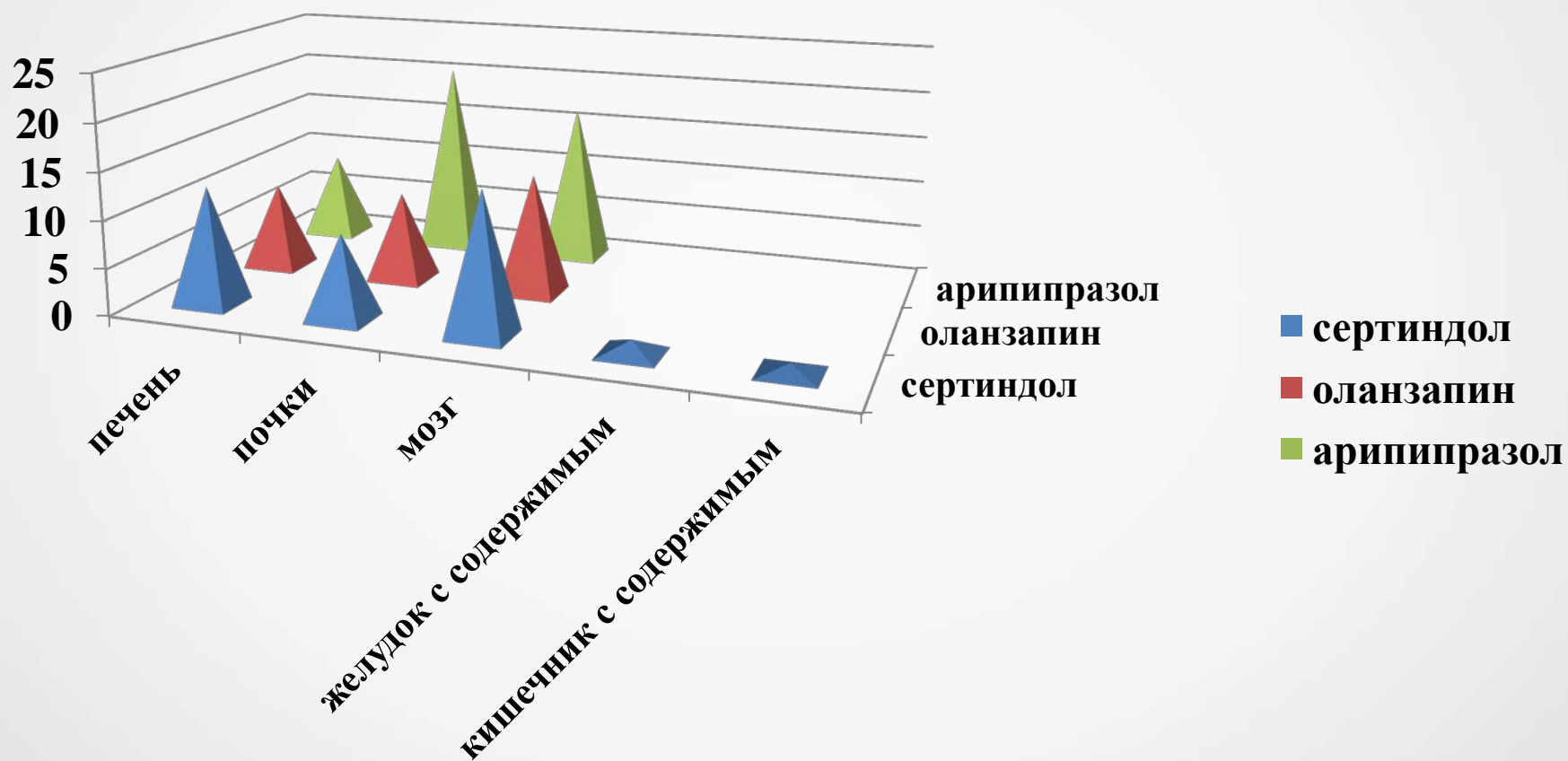
## Результаты оценки прецезионности и правильности изолирования сертиндола из печени (intra-day)

№ п/п	Уровень	Внесено, мг	Найдено, мг	R, %	Метрологические характеристики
1	1	3,0	1,7028	56,76	R=56,86 %; SD=1,69 RSD=2,97 %; $\varepsilon=\pm 7,39\%$
2	1	3,0	1,6269	54,23	
3	1	3,0	1,7874	59,58	
4	2	7,0	4,0488	57,84	R=57,77 %; SD=1,53 RSD=2,65%; $\varepsilon=\pm 6,57\%$
5	2	7,0	3,8724	55,32	
6	2	7,0	4,2105	60,15	
7	3	11,0	6,3569	57,79	R=57,03 %; SD=1,73 RSD=3,03%; $\varepsilon=\pm 7,53\%$
8	3	11,0	6,5241	59,31	
9	3	11,0	5,9400	54,00	

## Результаты оценки прецизионности и правильности изолирования сертиндола из печени (inter-day)

№ п/п	Уровень	Внесено, мг	Найдено, мг	R, %	Метрологические характеристики
1	1	3,0	1,6602	55,34	R=54,93 %; SD=1,62 RSD=2,95%; $\varepsilon=\pm 7,33\%$
2	1	3,0	1,7178	57,26	
3	1	3,0	1,5654	52,18	
4	2	7,0	3,7415	53,45	R=55,26 %; SD=1,15 RSD=2,08 %; $\varepsilon=\pm 5,16\%$
5	2	7,0	3,8668	55,24	
6	2	7,0	3,9956	57,08	
7	3	11,0	6,2293	56,63	R=55,22 %; SD=2,18 RSD=3,95%; $\varepsilon=\pm 7,22\%$
8	3	11,0	6,2425	56,75	
9	3	11,0	5,7519	52,29	

# Степень извлечения сертиндола, оланзапина, арипипразола из внутренних органов на модели острого отравления белых мышей







**БЛАГОДАРЮ ЗА ВНИМАНИЕ!**