

УДК: 615.214:543.544.943.3:543.422.3-76

**РОЗРОБКА МЕТОДІВ ВИЯВЛЕННЯ ТА КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ
ВОРТІОКСЕТИНУ, ПРИДАТНИХ ДЛЯ ХІМІКО-ТОКСИКОЛОГІЧНОГО
АНАЛІЗУ***Карпушина С.А., Баюрка С.В.***Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна**

Вступ. Вортіоксетин (1-[2-(2,4-диметилфенілсульфаніл)-феніл]-піперазину гідробромід) – новий антидепресивний засіб, який був схвалений FDA США для лікування великого депресивного розладу. Вортіоксетин віднесено до препаратів мультимодальної дії. Клінічна дія препарату опосередковується впливом на норадреналін, дофамін, серотонін, гістамін та на холінореактивну систему організму. У медичній практиці препарат рекомендовано застосовувати при лікуванні великих депресивних психозів у дорослих, а також при ендогенних, реактивних та невротичних депресивних станах [4]. Вортіоксетин має побічні ефекти, основними серед яких є порушення функцій ШКТ та алергічні прояви. Найбільш важливими побічними ефектами терапії вортіоксетином є гіпертонічний криз та підвищення суїцидального ризику. Зареєстровано випадок гострого отруєння вортіоксетином з суїцидальною метою [1].

Дані з біоаналітичних методів визначення вортіоксетину, що наведені в літературі, є малочисельними і стосуються використання ВЕРХ з різними видами детектування, зокрема, діодно-матричним фотометричним та мас-спектрометричним детектуванням [3, 5]. Вказані методи аналізу є не завжди доступними для токсикологічних лабораторій, потребують високовартісного обладнання та відповідного рівня кваліфікації персоналу. В літературі відсутні дані з використання методу УФ-спектрофотометрії для цілей біоаналітичних та токсикологічних досліджень. Систематичні дослідження з розробки методів хіміко-токсикологічного аналізу вортіоксетину не проводились.

Мета дослідження. Розробка умов виявлення вортіоксетину при загальному ТШХ-скринінгу та кількісного визначення методом УФ-спектрофотометрії.

Матеріали та методи. Субстанцію вортіоксетину було виділено з лікарського препарату «Брінтеллікс» (28 таблеток по 10 мг) виробництва LUNDBECK (Данія). Виділення субстанції вортіоксетину з таблеток, вкритих оболонкою. 14 таблеток препарату перенесли до скляного стакану та додавали 10 мл метанолу. Після набухання оболонки та їх відокремлення, таблетки підсушували і перенесли до порцелянової ступки та розтирали з 40 мл 96 % етанолу, потім вміст ступки фільтрували крізь паперовий складчастий фільтр (жовта полоса) до випарувальної чашки. Вміст чашки випаровували на водяній бані при температурі не вищій, ніж 40 °С, до видалення органічного розчинника. Сухий залишок розтирали в чашці при додаванні 10 мл діетилового етеру. Отриману суміш фільтрували крізь паперовий фільтр, залишок на фільтрі висушували та зважували (його маса складала 110 мг). Чистоту субстанції перевіряли методами ТШХ, УФ-спектрофотометрії та ВЕРХ і встановлювали відповідність її якості щодо вимог ДФУ.

Хроматографічну рухливість антидепресанта визначали на 5 типах хроматографічних пластин (виробництва Естонії (сорбент КСКГ), Сорбфіл, Silufol, Армсорб, Merck) в 12 рухомих фазах, у тому числі рекомендованих Комітетом з систематичного токсикологічного аналізу Міжнародної асоціації судових токсикологів (ТІАФТ) для ТШХ-скринінгу лікарських речовин. Як хромогенні досліджували реактиви, рекомендовані ТІАФТ для візуалізації речовин основного характеру [2]. Світлопоглинання розчинів в УФ- області спектру вимірювали на спектрофотометрі СФ-46 (ЛОМО), спектральний діапазон вимірювань від 190 до 1100 нм.

Для побудови калібрувального графіку готували стандартний розчин (СР) і робочі стандартні розчини (РСР) вортиоксетину в метанолі. 0,00635 г вортиоксетину гідроброміду (що в перерахунку відповідало 0,00500 г вортиоксетину-основи) розчиняли у вказаному розчиннику з використанням мірної колби об'ємом 100,00 мл (отримано СР вортиоксетину з концентрацією 50 мкг/мл вортиоксетину-основи). Для приготування РСР у мірні колби місткістю 10,00 мл вносили по 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0 та 9,0 мл та доводили об'єми розчинів до мітки метанолом (РСР 1 – 9 відповідно, концентрація – 5,0; 10,0; 15,0; 20,0; 25,0; 30,0; 35,0; 40,0; 45,0 мкг/мл). Вимірювали світлопоглинання отриманих СР і РСР при λ_{\max} 232 ± 2 нм. Кожен РСР готували двічі і вимірювали його світлопоглинання у кюветі з товщиною шару рідини 10 мм. Як компенсаційний розчин використовували метанол.

Основні результати. Встановлено хроматографічні системи з низькою кореляцією величин R_f вортиоксетину, що робить їх придатними для загального ТШХ-скринінгу. Низьку кореляцію значень хроматографічної рухливості (дані наведено для пластин Merck) виявили рухомі фази: етилацетат – метанол – 25 % розчин аміаку (85:10:5) (R_f 0,33), метанол – 25 % розчин аміаку (100:1,5) (R_f 0,44), циклогексан – толуен – діетиламін (15:3:2) (R_f 0,19). Як проявники використовували УФ-світло (254 нм) (фіолетова флюоресценція, чутливість 1,0 мкг в пробі) та реактив Драгендорфа (1,0 мкг в пробі). Специфічні забарвлення мали продукти взаємодії вортиоксетину з кислотою нітратною, реактивами Фреде та Манделіна. Вортиоксетин не утворював забарвлення з реактивами Маркі та Ердмана.

УФ-спектр вортиоксетину в метанолі мав максимуми світлопоглинання при 229 ± 2 та 232 ± 2 нм (рис. 1). Кількісне визначення проводили при довжині хвилі 232 нм, що відповідала більш інтенсивному світлопоглинанню. Значення світлопоглинання для СР і 9 РСР ($m = 10$; $n = 2$) було оброблено методом лінійної регресії, загальний вигляд якої описується рівнянням виду: $y = bx + a$. Після перевірки значущості параметру a у отриманому рівнянні за критерієм Фішера було зроблено висновок про неможливість переходу до рівняння виду: $y = b'x$. Таким чином, калібрувальний графік описувався рівнянням: $y = (0,0172 \pm 3 \cdot 10^{-4})x + (0,027 \pm 0,008)$ ($r = 0,999$). Лінійність спостерігали в межах концентрацій вортиоксетину 5,0 – 50,0 мкг/мл. Значення LOD та LOQ було розраховано з величини стандартного відхилення вільного члену в рівнянні калібрувального графіку (S_a) згідно з формулами: $LOD = 3,3 \cdot S_a/b$ та $LOQ = 10 \cdot S_a/b$. Вони становили, відповідно, 0,7 мкг/мл і 2,2 мкг/мл.

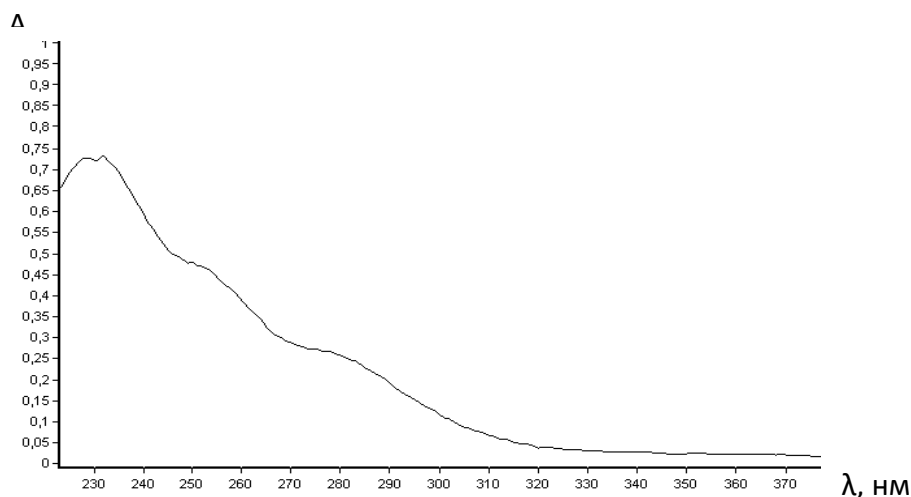


Рис. 1. УФ-спектр світлопоглинання вортиоксетину гідробромиду в метанолі (концентрація $1 \cdot 10^{-4}$ моль·л⁻¹)

Висновки. Запропоновано рухомі фази та селективні хромогенні реактиви, придатні для виявлення та ідентифікації вортиоксетину в умовах токсикологічного скринінгу методом тонкошарової хроматографії.

Розроблена методика УФ-спектрофотометричного визначення вортиоксетину, яка відносно діапазону використання методики та значень межі виявлення та кількісного визначення задовільняє вимогам до методів хіміко-токсикологічного аналізу, що підтверджено низкою валідаційних характеристик

Список літератури

1. Mazza M.G., Rossetti A., Botti E.R., Clerici M. Vortioxetine overdose in a suicidal attempt: A case report. *Medicine (Baltimore)*. 2018. Vol. 97(25). P. 10788.
2. Moffat A.C., Osselton M.D., Widdop B. Clarke's analysis of drugs and poisons in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material: 4-th edition. London, Chicago: Pharmaceutical Press, 2011. 2736 p.
3. Qin M., Qiao H., Yuan Y., Shao Q. A quantitative LC–MS/MS method for simultaneous determination of deuvortioxetine, vortioxetine and their carboxylic acid metabolite in rat plasma, and its application to toxicokinetic study. *Analytical Methods*. 2018. Vol. 10(9). P. 1023–1031.
4. Sanchez C., Asin K. E., Artigas F. Vortioxetine, a novel antidepressant with multimodal activity: Review of preclinical and clinical data. *Pharmacology & Therapeutics*. 2015. Vol. 145. P. 43–57.
5. Wróblewski K., Petruczynik A., Buszewski B., Szultka-Młyńska, M., Karakuła-Juchnowicz H., Waksmundzka-Hajnos M. Determination of vortioxetine in human serum and saliva samples by HPLC–DAD and HPLC–MS. *Acta Chromatographica*. 2017. Vol. 29(3). P. 325–344.