

ВИЗНАЧЕННЯ ВЕНЛАФАКСИНУ В КРОВІ МЕТОДОМ ВИСОКОЕФЕКТИВНОЇ РІДИННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ

Баюрка С.В., Карпушина С.А.

Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна,

toxchem@ukrfa.kharkov.ua

Венлафаксин (1-[2-(диметиламіно)-1-(4-метоксифеніл)етил]циклогексанолу гідрохлорид) – антидепресант з групи селективних інгібіторів зворотнього нейронального захвату серотоніну та норадреналіну. Венлафаксин має ряд побічних ефектів та ускладнень, найсерйознішим з яких є підвищення суїцидального ризику. Зафіксовано випадки смертельних отруєнь венлафаксином, тому розробка методів хіміко-токсикологічного аналізу зазначеного антидепресанту є актуальною задачею.

У літературі описані методики аналізу венлафаксину в плазмі крові за допомогою газо-рідинної хроматографії з нітроген-фосфорним та мас-спектрометричним детекторами, вискоефективної рідинної хроматографії з УФ-, флюоресцентним та МС-детектуванням, електрокінетичної капілярної хроматографії. Вищеперелічені методики характеризуються високою чутливістю та специфічністю, але пов'язані з використанням спеціального коштовного обладнання або з ретельною пробопідготовкою, що робить їх не завжди доступними та економічно вигідними.

Нами розроблена доступна та достатньо чутлива і специфічна методика аналізу крові на венлафаксин, яка включає пробопідготовку за допомогою оптимізованої процедури рідинно-рідинної екстракції, ідентифікацію та кількісне визначення венлафаксину методом обернено-фазної ВЕРХ з мультихвильовим УФ-детектуванням.

З модельних проб крові, що містили венлафаксин, зазначений антидепресант екстрагували діетиловим етером з лужного середовища при рН 10–11, використовуючи для підлугування 20 % розчин натрій гідроксиду. Попередньо проводили осадження формених елементів крові за допомогою 10 % розчину кислоти трихлорацетатної, а також екстракційну очистку плазми

діетиловим етером з кислого середовища при рН 1. Отримані екстракти очищували методом ТШХ. Хроматограми розвивали послідовно з використанням двох рухомих фаз: хлороформ та етилацетат – метанол – 25 % розчин амонію гідроксиду (85:10:5). Венлафаксин проявляли за допомогою реактива Драгендорфа у модифікації за Мун'є ($R_f 0,81 \pm 0,02$). Елюювали антидепресант метанолом.

Хроматографування елюатів проводили на мікроколоночному хроматографі з мультихвильовим УФ-спектрофотометричним детектором. Використовували колонку розміром 2x75 мм з оберненою фазою С 18; елюент А: 0,2 М перхлорату літію - 0,005 М перхлорна кислота, елюент Б: ацетонітрил, режим елюювання – градієнтний (від 5 % Б до 100 % Б за 4 хв, 100 % Б протягом 3 хв); швидкість подачі елюенту 100 мкл/хв; температура термостата колонки 40° С; Детектування проводили при 8 довжинах хвиль: 210 , 220 , 230 , 240 , 250 , 260 , 280 , 300 нм.

Ідентифікацію венлафаксину здійснювали за часом утримування ($t_R=17,81 \pm 0,08$ хв, $RSD=0,20\%$, $\epsilon=0,51\%$, $P=95\%$, $\nu=2$) і спектральними характеристиками $R=S_\lambda/S_{210}$, які при зазначених вище довжинах хвиль становили відповідно $1,71 \pm 0,07$; $1,88 \pm 0,08$; $0,169 \pm 0,002$; $0,037 \pm 0,009$; $0,100 \pm 0,007$; $0,218 \pm 0,009$; $0,005 \pm 0,004$. $LOD=4$ мкг/мл при $\lambda=280$ нм ($LOD=3,3S_a^2/b$).

Кількісне визначення венлафаксину проводили при $\lambda_{max}=280$ нм за залежністю площі піку від концентрації (мкг/мл) (УФ-спектр абсорбції венлафаксину в метанолі має три смуги поглинання при довжинах хвиль 226 ± 2 ($A^1_{210}=339,0$), 277 ± 2 ($A^1_{210}=43,8$) та 284 ± 2 нм ($A^1_{210}=37,0$)). Градууювальна залежність описувалась рівнянням $Y=(0,00370 \pm 2,5 \cdot 10^{-5})X$. Лінійність спостерігали в межах концентрацій венлафаксину 12,2–400 мкг/мл; $LOQ=12,2$ мкг/мл ($LOQ=10S_a^2/b$). Правильність розробленої методики складала 102,7% в області низьких концентрацій ($RSD=1,2\%$), 100,1–100,3% в областях середніх та високих концентрацій ($RSD=0,2-0,3\%$). За допомогою розробленої методики з крові можливо виділити 36 ± 3 % венлафаксину.