

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
УКРАЇНСЬКА АКАДЕМІЯ НАУК
ГО «ВСЕУКРАЇНСЬКА ОРГАНІЗАЦІЯ АПІТЕРАПЕВТІВ»
НАЦІОНАЛЬНИЙ НАУКОВИЙ ЦЕНТР
«ІНСТИТУТ БДЖІЛЬНИЦТВА ІМ. П.І. ПРОКОПОВИЧА»
НААН УКРАЇНИ



**«ЗАСТОСУВАННЯ МЕТОДІВ
ЛІКУВАННЯ І АПІПРЕПАРАТІВ
У МЕДИЧНІЙ, ФАРМАЦЕВТИЧНІЙ
ТА КОСМЕТИЧНІЙ ПРАКТИЦІ»**

**МАТЕРІАЛИ ВСЕУКРАЇНСЬКОЇ
НАУКОВО-ПРАКТИЧНОЇ КОНФЕРЕНЦІЇ
З МІЖНАРОДНОЮ УЧАСТЮ**

**29-30 березня 2018 року
м. Харків**

Харків
2018

УДК 615.1:616-085:638.1 (075.8)

ББК 53.5

3-36

Редакційна колегія: проф. Котвіцька А. А., проф. Тихонов О. І.,
проф. Загайко А. Л., проф. Ярних Т. Г.,
проф. Жилякова О. Т., проф. Шпичак О. С.

Упорядник: Шпичак О. С.

3-36 Застосування методів лікування і апіпрепаратів у медичній, фармацевтичній та косметичній практиці : матеріали всеукраїнської науково-практичної конференції з Міжнародною участю (29-30 березня 2018 р., м. Харків) / за редакцією академіка УАН О. І. Тихонова. – Х. : Вид-во «Оригінал», 2018. – 500 с.

Збірник містить матеріали всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, на якій розглянуто теоретичні та практичні аспекти розвитку апітерапії та бджільництва в Україні. Висвітлені питання з технології ліків, аналізу та контролю якості лікарських засобів, фармакологічні та клінічні аспекти вивчення та впровадження нових лікарських апіпрепаратів, застосування продуктів бджільництва та їх стандартизованих субстанцій, економіко-правові, наукові, інформаційні аспекти лікарського забезпечення та фармацевтичної освіти.

Для широкого кола наукових та практичних робітників медицини, фармації, апітерапії, бджільництва та косметології. Матеріали публікуються мовою оригіналу. За достовірність матеріалів відповідальність несуть автори.

УДК 615.1:616-085:638.1 (075.8)

ББК 53.5

© Тихонов О. І., 2018

УДК: 615.214:543.544.943.3:543.422.3-76

ОПТИМІЗАЦІЯ УМОВ ІЗОЛЮВАННЯ СУЛЬПІРИДУ З БІОЛОГІЧНИХ РІДИН

БАЮРКА С.В., КАРПУШИНА С.А., СТЕПАНЕНКО В.І.,
МОРОЗ В.П.¹

Національний фармацевтичний університет,
кафедра лікарської та аналітичної токсикології,
кафедра аналітичної хімії¹

Розроблено методики ізолювання сульпіриду з сечі та крові методом рідинно-рідинної екстракції, ефективність яких, відповідно, складала $65\pm 3\%$, $17\pm 2\%$. Ідентифікацію та кількісне визначення препарату, виділеного з біологічних рідин, проводили методом високоефективної рідинної хроматографії з УФ-спектрофотометричним детектуванням.

Ключові слова: сульпірид, рідинно-рідинна екстракція, високоефективна рідинна хроматографія,.

Сульпірид (N-[(етил-2-пірролідиніл)метил]-2-метокси-5-сульфамойлбензамід) – є сучасним психотропним лікарським засобом, який відносять до атипічних нейролептиків. Поєднує помірну антипсихотичну та антидепресивну активність, також проявляє стимулюючі властивості [1 – 5]. Сульпірид неодноразово був причиною гострих та смертельних отруень [6 – 9]. Тому результати токсикологічного дослідження біологічних рідин потерпілого на присутність сульпіриду мають вирішальне значення для встановлення діагнозу отруєння.

В літературі наведено методики аналізу сульпіриду в плазмі та сечі за допомогою газо-рідинної хроматографії [6, 9], високоефективної рідинної хроматографії з мас-спектрометричним [10 – 12] та флюорометричним детектуванням [13]. Використання зазначених методів аналізу вимагає ретельної пробопідготовки (твердофазна екстракція, рідиннофазна мікроекстракція) та високоякісного обладнання, що робить їх не завжди доступними.

Метою даних досліджень є розробка методики рідинно-рідинної екстракції сульпіриду з сечі та крові, придатної для

наступного дослідження екстрактів на вміст препарату методом обернено-фазної ВЕРХ з мультитихвильовим УФ-спектрофотометричним детектуванням.

Матеріали та методи

Методики екстракції сульпіриду з сечі та крові було оптимізовано з урахуванням ступеню екстракції препарату в залежності від рН водної фази та природи органічного розчинника.

Методика ізолювання сульпіриду з сечі. До 50 мл сечі людини додавали 1 мл водного розчину сульпіриду, що містив від 200 до 1000 мкг препарату і суміш залишали на 24 год. Паралельно ставили «холості» досліди. Після цього до проб сечі додавали 0,1 М розчин кислоти хлоридної до значення рН 1–2 і для видалення біологічних домішок суміш двічі збовтували з гексаном по 15 мл кожного разу. Фазу органічного розчинника відкидали і у подальшому не досліджували. Потім до підкисленої сечі додавали 20 % розчин натрій гідроксиду до рН 10–11 і тричі екстрагували сульпірид етилацетатом по 15 мл кожного разу. Емульсії, якщо вони утворювались, руйнували центрифугуванням протягом 15 хв зі швидкістю 3000 об/хв. Центрифугат фільтрували через паперовий фільтр з 0,5 г безводного натрій сульфату у мірну колбу місткістю 50 мл і доводили етилацетатом до позначки. Як розчини порівняння використовували екстракти, одержані у «холостих» дослідах.

Методика ізолювання сульпіриду з крові. До 10 мл донорської крові додавали по 1 мл водного розчину сульпіриду, що містив від 100 до 500 мкг препарату, перемішували і залишали на добу. Через добу до 10 мл модельної суміші сульпіриду з кров'ю додавали 10 мл 10 % розчину кислоти трихлорацетатної і перемішували. Після цього суміш центрифугували на протязі 15 хв зі швидкістю 3000 об/хв. Центрифугат зливали та двічі екстрагували домішки гексаном по 10 мл кожного разу. Фазу органічного розчинника відокремлювали та відкидали, а потім, після підлугування водної фази до рН 10–11 20 % розчином натрій гідроксиду, тричі екстрагували сульпірид етилацетатом по 10 мл кожного разу. Одержані «лужні»

екстракти фільтрували через фільтр з 0,5 г безводного натрій сульфату у мірну колбу місткістю 50 мл і доводили до позначки етилацетатом.

Відповідні об'єми отриманого екстракту (від 5 до 10 мл) випаровували до мінімального об'єму (0,05 мл) і наносили смугою скляним капіляром на лінію старту хроматографічної пластинки з закріпленим шаром силікагелю (розмір пластинок 10x20 см). Поряд наносили 10 мкл розчину сульпірида-«свідка» в метанолі (1000 мкг/мл). Хроматограми розвивали послідовно з використанням двох рухомих фаз: хлороформ і етилацетат – метанол – 25 % розчин амоній гідроксиду (85:10:5). Плямю сульпірида-«свідка» проявляли за допомогою реактива Драгендорфа у модифікації за Мун'є ($R_f 0,63 \pm 0,02$). Сульпірид елюювали 5 мл метанола з непроявленої полоси хроматограми на рівні, що відповідав місцю знаходження плями сульпірида-«свідка» (ступінь елюювання сульпірида з шару сорбенту метанолом складав 99,5 %), елюат випаровували і розчиняли в 1 мл метанола, відбирали 10 мкл проби і досліджували на мікроколоночному рідинному хроматографі з мультитихвильовим УФ-детектором.

Умови аналізу елюатів методом ВЕРХ. Колонка 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; детектор мультитихвильовий УФ-спектрофотометричний. Детектування проводили при 8 довжинах хвиль: 210, 220, 230, 240, 250, 260, 280, 300 нм.

Результати та їх обговорення

Ідентифікацію сульпіриду в екстрактах здійснювали за часом утримування ($t_R=10,09 \pm 0,06$ хв, $RSD=0,26$ %, $\epsilon=0,64$ %, $P=95$ %, $\nu=2$) і спектральними характеристикам $R=S_\lambda/S_{210}$, які при зазначених вище довжинах хвиль становили відповідно 0,729 \pm 0,009; 0,393 \pm 0,003; 0,354 \pm 0,009; 0,203 \pm 0,004; 0,047 \pm 0,003; 0,044 \pm 0,007; 0,060 \pm 0,004.

Кількісне визначення сульпіриду в екстрактах проводили при $\lambda_{\max}=290$ нм за залежністю площі піку від концентрації (мкг/мл). Для побудови калібрувального графіка готували СР з концентрацією 100 мкг/мл сульпірида. Готували дев'ять РСР у діапазоні концентрацій 2 – 80 мкг/мл, для цього 0,2; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0 та 8,0 мл СР вносили до мірних колб місткістю 10 мл та доводили об'єми розчинів до позначки метанолом; концентрація сульпірида у РСР становила відповідно 2; 5; 10; 20; 30; 40; 50; 60 та 80 мкг/мл. Калібрувальний графік описувався рівнянням $y=(7,74 \cdot 10^{-4} \pm 5,2 \cdot 10^{-6})x$. Лінійність спостерігали в межах концентрацій сульпіриду 2,0 – 100 мкг/мл; значення LOD становило 0,6 мкг/мл ($LOD=3,3S_a^2/b$), значення LOQ дорівнювало 1,8 мкг/мл ($LOQ=10S_a^2/b$). Правильність розробленої методики складала 98,9 % в області низьких концентрацій ($RSD=1,7$ %), 100,1 – 100,3 % в областях середніх та високих концентрацій ($RSD=0,3$ – 1,1 %).

За допомогою розробленої методики з сечі було виділено 65 ± 3 % сульпіриду, з крові – 17 ± 2 % препарату.

ВИСНОВКИ

Розроблені методики ізолювання сульпіриду з сечі та крові з наступним дослідженням екстрактів на вміст препарату методом ВЕРХ з мультитихвильовим УФ-спектрофотометричним детектуванням задовольняють вимогам до методів, які рекомендовано для використання в судовій токсикології [14, 15], що підтверджено валідаційними характеристиками. Методики пропонуються для використання в практиці токсикологічних відділень бюро судово-медичної експертизи та клінічних лабораторій з аналітичної діагностики отруень лікарськими речовинами.

ЛІТЕРАТУРА

1. Прокудин, В. Н. Сульпирид – первый атипичный нейролептик с активирующим и тимолептическим эффектами и уникальным соматотропным действием / В. Н. Прокудин // Психиатрия и психофармакотерапия. – 2013. – Т. 15, №1. – С. 42–45

2. Sulpiride in the treatment of somatoform disorders: results of a European observational study to characterize the responder profile / F. Rouillon, G. Rahola, M. Van Moffaert // *J. Int. Med. Res.* – 2001. – V. 29 (4). – 304–313.
3. Данилов, Д. С. Возможности использования сульпирида для лечения психических расстройств / Д. С. Данилов // *Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова.* – 2012. – Т. 112, № 6. – С. 91–97.
4. The response to sulpiride in social anxiety disorder: D2 receptor function / C. Bell, S. Bhikha, H. Colhoun [et al.] // *J. Psychopharmacol.* – 2013. – V. 27 (2). – P. 146–151.
5. Sulpiride and refractory panic disorder / E. A. Nunes, R. C. Freire, M. Dos Reis [et al.] // *Psychopharmacology (Berl.)*. – 2012. – V. 223 (2). – P. 247–249.
6. The distribution of Doxepine and Sulpiride in human poisoning death / Z. Wei, K. Xiao, M. Wu [et al.] // *Rom. J. Leg. Med.* – 2012. – V. 20 (1). – P. 57–60.
7. Sulpiride poisoning-case report confirmed with the quantitative determination of the xenobiotic serum level / K. Ciszowski, D. Szpak, J. Wilimowska, B. Groszek // *Przegl Lek.* – 2011. – V. 68 (8). – P. 506–509.
8. Chang, J. H. Long QT syndrome and torsades de pointes induced by acute sulpiride poisoning / J. H. Chang, T. I. Weng, C. C. Fang // *Am. J. Emerg. Med.* – 2009. – V. 27 (8). – P. 1016.
9. Toxicological analysis of sulpiride in a lethal poisoning case / P. P. Rop, M. H. Sournac, I. Elie [et al.] // *J. Anal. Tox.* – 1999. – V. 23 (4). – P. 294–296.
10. Shinozuka, T. Solid-phase extraction and analysis of 20 antidepressant drugs in human plasma by LC/MS with SSI method / T. Shinozuka, M. Terada, E. Tanaka // *Forens. sci. Int.* – 2006. – V. 162 (1–3). – P. 108–112.
11. Kirchherr, H. Quantitative determination of forty-eight antidepressants and antipsychotics in human serum by HPLC tandem mass spectrometry. A multi-level, single-sample ap-

- proach / H. Kirchherr, W. N. Kuhn-Velten // *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* – 2006. – V. 843 (1). – P. 100–113.
12. Helmy. S. A. Therapeutic drug monitoring and pharmacokinetic compartmental analysis of sulpiride double-peak absorption profile after oral administration to human volunteers / S. A. Helmy // *Biopharm. Drug Dispos.* – 2013. – V. 34 (5). – P. 288–301.
 13. Simultaneous determination of sulpiride and mebeverine by HPLC method using fluorescence detection: application to real human plasma / M. I. Walsh, M. M. Kh Sharaf El-Din, N. M. El-Enany [et al.] // *Chem. Cent. J.* – 2012. – N 6. – P. 13.
 14. Державна Фармакопея України. Доп. 2. / Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х. : Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – 620 с.
 15. SOFT / AAFS Forensic Laboratory Guidelines. – 2006. – 24 р. – [Електронний ресурс], режим доступа: http://www.soft-tox.org/files/Guidelines_2006_Final.pdf.

ЛЕЧЕБНОЕ ДЕЙСТВИЕ ТРУТНЕВОГО РАСПЛОДА И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ	171
Тихонов А.И., Богуцкая Е.Е.	
РАЗРАБОТКА СОСТАВА И ТЕХНОЛОГИИ КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА С НИФУРОКСАЗИДОМ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ	177
Фарес Р., Бобрицкая Л.А.	
GROUNDING OF SEMISOLID MEDICINAL FORMS PRODUCTION ON NATURE COMPONENTS	185
Kovalev V.M., Yarnykh T.G., Kovalev V.V.	
УЛЬТЕРАПИЯ: СУТЬ ОЗДОРОВЛЕНИЯ.....	191
Анненков Ф.	
ВИЗНАЧЕННЯ ВЕНЛАФАКСИНУ В БІОЛОГІЧНИХ ОБ'ЄКТАХ МЕТОДОМ ВИСОКОЕФЕКТИВНОЇ РІДИННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ.....	197
Баярка С.В., Карпушина С.А.	
ОПТИМІЗАЦІЯ УМОВ ІЗОЛЮВАННЯ СУЛЬПРИДУ З БІОЛОГІЧНИХ РІДИН	203
Баярка С.В., Карпушина С.А., Степаненко В.І., Мороз В.П.	
APPEARANCE OF DISEASES SURFACE-CUTTING TRACT	209
Bogdan N.S., Palamar A.O., Goroshko O.M.	
ЗАБРУДНЕННЯ ВОДНИХ ОБ'ЄКТІВ ФАРМАЦЕВТИЧНИМИ ПРЕПАРАТАМИ (ОГЛЯД)....	215
Нетьосова К.Ю., Євсеева Л.В., Губін Ю.І., Журавель І.О., Бондарь Н.Г.	
ЗАСТОСУВАННЯ АНТИБАКТЕРІАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ У ВЕТЕРИНАРІЇ ТА СІЛЬСЬКОМУ ГОСПОДАРСТВІ (ОГЛЯД).....	221
Нетьосова К.Ю., Євсеева Л.В., Губін Ю.І., Журавель І.О., Бондарь Н.Г.	

Наукове видання

**«ЗАСТОСУВАННЯ МЕТОДІВ
ЛІКУВАННЯ І АПІПРЕПАРАТІВ
У МЕДИЧНІЙ, ФАРМАЦЕВТИЧНІЙ
ТА КОСМЕТИЧНІЙ ПРАКТИЦІ»**

**МАТЕРІАЛИ ВСЕУКРАЇНСЬКОЇ
НАУКОВО-ПРАКТИЧНОЇ КОНФЕРЕНЦІЇ
З МІЖНАРОДНОЮ УЧАСТЮ**

**29-30 березня 2018 року
м. Харків**

Відповідальний за випуск: *О. І. Тихонов*

Коректор: О. С. Шпичак
Комп'ютерний набір: О. С. Шпичак

Підписано до друку 16.03.2018. Формат 60 x 90 ¹/₁₆. Папір офсетний.
Гарнітура Times ET. Друк офсетний. Умов. друк. арк. 27. Обл.-вид. арк. 28,5.
Тираж 500 прим. Зам. № 744
Видавництво Харківське комунальне видавництво «Оригінал».
61022, м. Харків, пл. Свободи, 5, Держпром, 6-й під'їзд, 6-й поверх.
Тел.: (057) 705-50-04. E-mail: original_kharkiv@ukr.net
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи серії ДК № 4071 від 20.05.2011.