

РОЗРОБКА МЕТОДИК ІЗОЛЮВАННЯ ЛАМОТРИДЖИНУ З БІОЛОГІЧНИХ ОБ'ЄКТІВ

Мерзлікін С.І., Коваленко К.В., Кучер Т.В.*

Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна

**ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет*

ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України”, Тернопіль, Україна

msi07@ukr.net

Епілепсія – одне з найпоширених захворювань нервової системи з кількістю хворих у світі понад 40 млн осіб. Проведені в розвинених країнах популяційні дослідження показали, що даний недуг щорічно виявляється у 40-70 осіб на 100 тис. населення, а показники захворюваності з урахуванням усієї тривалості життя досягають 3%. В Україні сьогодні на обліку перебуває близько 100 тис. пацієнтів з діагнозом на епілепсію, а реальна картина - це 500 тис. з її проявами.

Для лікування епілепсії застосовують широку групу протисудомних препаратів, зокрема похідні кислоти барбітурової, гідантоїну, оксазолідин-діону, сукциніміду, бензодіазепіну, кислоти вальпроєвої та фенілтриазину. При цьому специфіка фармакотерапії епілепсії полягає у довготривалому лікуванні пацієнтів, іноді протягом всього життя, що обумовлює високу ймовірність створення токсикологічної небезпеки при їх застосуванні, у тому числі гострих отруєнь. Згідно даних веб-сайтів FDA та patientsville.com у більш ніж 30 країнах зареєстровано летальні отруєння внаслідок застосування тільки ламотриджину, який є одним з найпоширених протисудомних лікарських засобів.

Метою роботи є розробка методик ізолювання ламотриджину з біологічних об'єктів для аналітичної діагностики гострих отруєнь.

Для розробки оптимальних умов ізолювання ламотриджину з біологічних об'єктів готували модельні проби печінки (20 г) з вмістом досліджуваного токсиканту 10 мг.

Враховуючи фізико-хімічні властивості ламотриджину (розчинність в органічних розчинниках та нерозчинність у воді, значення рKa), для його ізолювання з тканин печінки застосовували методи: водою, підкисленою кислотою оксалатною; етанолом, підкисленим кислотою оксалатною; ацетонітрилом, підкисленим кислотою хлоридною.

Ізолювання ламотриджину з тканин печінки водою, підкисленою кислотою оксалатною та етанолом, підкисленим кислотою оксалатною, здійснювали відповідно загальноприйнятих умов.

Для ізолювання ламотриджину ацетонітрилом, підкисленим кислотою хлоридною, 20 г подрібненої свинячої печінки, попередньо насиченої протягом 24 год етанольним розчином ламотриджину (10 мг), поміщали у колбу, додавали 50 мл ацетонітрилу, підкисленого 6 М розчином кислоти хлоридної до рН 2,0-2,5 за універсальним індикатором, настоювали протягом 30 хв при періодичному контролі рН середовища та фільтрували через фільтр марки «червона стрічка». Операцію настоювання проводили тричі. Одержані вилучення об'єднували та додавали 2,5 % розчин натрій сульфату. Вміст колби ретельно перемішували,

підлужнювали 30% розчином натрію гідроксиду до рН 9 за універсальним індикатором, фільтрували через фільтр марки «червона стрічка» у ділильну колбу та двічі по 100 мл екстрагували *n*-гексаном по 10 хв з використанням механічного струшувача. Після розшарування вміст колби переносили у ділильну лійку та відділяли органічний шар, який у подальшому не досліджують. Одержані водно-ацетонітрильні вилучення об'єднували, додавали 30% розчин натрію гідроксиду до рН = 9 за універсальним індикатором, поміщали у ділильну колбу та тричі по 100 мл екстрагували хлороформом по 10 хв з використанням механічного струшувача. Після розшарування вміст колби переносили у ділильну лійку, органічний шар відділяли, фільтрували через паперовий фільтр з 5,0 г безводного натрій сульфату. Одержані хлороформні екстракти об'єднували, упарювали в потоці теплого повітря до сухого залишку. Далі сухий залишок розчиняли в 10 мл етанолу та досліджували.

Результати за виділенням ламотриджину з досліджуваного зразка біологічного об'єкту наведено в таблиці.

Таблиця

Результати ізолювання ламотриджину з тканин печінки

Біологічний об'єкт	Метод ізолювання	Визначено ламотриджину методом, %	
		ВЕРХ	Спектрофотом.
Печінка	Підкисленою водою	21,54±2,16	19,39±1,82
	Підкисленим етанолом	81,37±2,22	79,68±1,74
	Підкисленим ацетонітрилом	84,28±1,09	81,44±1,12

Дані таблиці свідчать, що при ізолюванні ламотриджину з тканин печінки найбільш вагомим результатом було одержано в умовах застосування ацетонітрильного методу (до 84%) при кількісному визначенні токсиканту методом ВЕРХ. До 81% ламотриджину можна віділити із зазначеного біологічного об'єкту підкисленим етанолом. При цьому, спектрофотометричне визначення кількісного вмісту ламотриджину в пробі біологічного матеріалу є також цілком прийнятним.

В умовах застосування підкисленої води було одержано значно нижчих результатів. Виділити ламотриджин з тканин біологічного об'єкту вдалося тільки на рівні 20%. Останні результати можна пояснити більш низьким ступенем екстракції ламотриджину підкисленою водою у порівнянні з екстракцією підкисленими етанолом або ацетонітрилом, що обумовлено особливостями фізико-хімічних властивостей досліджуваної речовини.

Що стосується застосованих методів кількісного визначення ламотриджину в одержаних вилученнях (ВЕРХ та спектрофотометрія), то вони, виходячи з одержаних результатів, задовільно корелюють між собою.