

УДК 615.099: 543.054.2/9: 543.544.5.068.7

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ИЗОЛИРОВАНИЯ АНТИДЕПРЕССАНТА КЛОМИПРАМИНА ИЗ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЖИДКОСТИ (МОЧИ)

Люст Е.Н.

ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия Минздрава России», Пермь, Россия (614990, Пермь, ул. Полевая, 2), e-mail: elenalyust@mail.ru

В статье рассматривается вопрос медицинского и немедицинского применения лекарственного препарата, трициклического антидепрессанта кломипрамина («Анафранил®»). Препарат зарекомендовал себя как эффективное средство для борьбы с симптомами депрессий, обладает сбалансированным действием. Применение лекарственного средства в высоких дозировках или совместно с алкоголем, наркотическими средствами может стать причиной формирования зависимости от кломипрамина. Таким образом, существует необходимость идентификации его в биологических средах организма человека при отравлениях. Статья посвящена изучению условий изолирования кломипрамина из биологической жидкости (мочи). Исследования проводили с водными растворами и модельными смесями мочи, изучали влияние pH среды и природы растворителя на эффективность экстракции анализируемого вещества. Процент выхода кломипрамина в экстрагент контролировали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Ключевые слова: кломипрамин, трициклический антидепрессант, отравление, изолирование, моча.

DEVELOPMENT OF THE TECHNIQUE OF ISOLATION OF CLOMIPRAMINE FROM BIOLOGICAL LIQUID (URINE)

Lyust E.N.¹

¹*Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, Russia (614990, Perm, Polevaya street, 2), e-mail: elenalyust@mail.ru*

The preparation was proved to be an effective remedy for treat the symptoms of depressions, possesses the balanced action. Using of this medicine in high dosages or in common with alcohol and drugs can become the reason of formation of dependence on the clomipramine. Thus, there is a need of its identification in biological fluids of a human body at poisonings. Article is devoted to studying of conditions of isolation of the clomipramine from biological liquid (urine). Researches were conducted at water solutions and model mixtures of urine. The influence of pH and the nature of solvent on efficiency of extraction of the analyzed substance were studied. An extraction efficiency of the clomipramine by extractant was controlled by a high effective-liquid chromatography.

Keywords: clomipramine, tricyclic antidepressants, poisoning, isolation, urine.

Депрессия – это эмоциональный синдром, характеризующийся стойким снижением настроения и нарушением всех сфер жизнедеятельности человека: эмоциональной, интеллектуальной, волевой и телесной [6].

Трициклический антидепрессант кломипрамин («Анафранил®») по механизму действия относится к группе ингибиторов нейронального захвата моноаминов и является препаратом со сбалансированным действием [4]. Применяется при лечении депрессивных заболеваний различной этиологии взрослых и детей с пяти лет, фобий, каталепсий, обсессивно-компульсивных синдромов, преждевременной эякуляции, энуреза у детей и подростков, хронической боли при наличии органического заболевания или без него. Препарат в сочетании с анальгетиками также применяется в качестве дополнительного средства (коанальгетика) при лечении болей, вызванных злокачественными опухолями, что позволяет повысить порог болевой чувствительности и добиться лучшего обезболивающего действия

при той же дозе анальгетиков. Кроме того, препарату присущ дополнительный клинический эффект – антигистаминный, который при отсутствии противопоказаний можно использовать для лечения различных патологических состояний [1, 6, 8].

Нежелательные явления при приеме кломипрамина выражены слабо. Отмечают нарушения: психики (возбуждение, агрессивность, нарушение сна, мании и др.), со стороны нервной системы (головокружение, головная боль, нарушение внимания и памяти и др.), органов слуха и зрения (шум в ушах, нарушение аккомодации, нечеткость зрения и др.), со стороны крови и лимфатической, сердечно-сосудистой системы, желудочно-кишечного тракта, кожи и подкожных тканей и др. Лечение антидепрессантом требует систематического контроля за формулой крови, во время длительного лечения необходимо каждые 2 недели проводить повторный клинический анализ крови, особенно если у больного во время приема препарата развилась острая инфекция [1, 3, 6].

Несмотря на то что передозировки антидепрессантами редко приводят к смертельным исходам, все же использование их в высоких дозах и немедицинских целях чревато негативными последствиями. Влияние антидепрессантов на организм не всегда одинаково. Побочные явления от их приема могут быть непредсказуемыми, помимо этого необоснованное применение данных препаратов через некоторое время может привести к формированию зависимости от них. Наркозависимые в моменты отказа от наркотиков могут принимать антидепрессанты для борьбы с симптомами депрессии. Таким образом, может происходить бесконтрольное использование этих лекарственных средств. Кроме того, необходимо с осторожностью выписывать антидепрессанты пациентам, потенциально склонным к суицидальным действиям. Также описан синдром отмены при резком прекращении лечения после длительной терапии большими дозами трициклических антидепрессантов [6, 7].

В диагностике отравлений большое значение приобретают результаты химического исследования. Наиболее распространенным объектом для анализа на лекарственные и токсические соединения, наиболее простым (среди других) вследствие низкого содержания белковых компонентов является моча. Подготовка биологической жидкости (мочи) к анализу, обычно, включает стадии концентрирования, экстракцию подходящим растворителем, хроматографическое разделение или сорбцию на твердом сорбенте. Для изолирования из биологических сред чаще применяется жидкость – жидкостная экстракция, которая может использоваться для пробоподготовки образцов с целью дальнейшего анализа методом высокоэффективной жидкостной хроматографии [2].

Кломипрамин преимущественно выводится с мочой в виде водорастворимых конъюгатов, в неизменном виде около 2 % дозы [1]. Биологическая жидкость (моча)

пригодна в качестве объекта анализа на кломипрамин. Высокоэффективная жидкостная хроматография на сорбентах с привитой фазой позволяет эффективно разделить и достоверно определить токсикант в биологических средах.

Цель исследования. Разработка методики изолирования кломипрамина из биологической жидкости (мочи).

Материалы и методы. Объекты исследования: рабочий стандартный образец кломипрамина 1 мг/мл (PCO), модельные смеси биологической жидкости (мочи), которые готовили путем прибавления к 9 мл мочи 1 мл PCO кломипрамина. Изолирование вели в диапазоне значений pH от 2 до 12. Для создания необходимого pH раствора использовали универсальные буферные смеси [5]. Контроль pH осуществляли с помощью универсального иономера ЭВ-74. Полученные экстракты анализировали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на приборе «Милихром А-02» по следующим условиям: хроматографическая колонка диаметром 2 мм, длиной 75 мм; неподвижная фаза ProntoSIL-C18; подвижная фаза: ацетонитрил: буферный раствор [4,0 М LiClO₄ – 0,1 М HClO₄]: H₂O = [5:95] (60:40); объем вводимой пробы – 4 мкл; длина волны детектирования – 210 нм; скорость потока элюента – 100 мкл/мин.; температура колонки – 35 °С; режим элюирования – изократический.

Результаты исследований. При выборе оптимальных условий изолирования кломипрамина необходимо учесть влияние нескольких факторов, существенными из которых являются pH раствора и природа экстрагента. В качестве экстрагентов по отношению к кломипрамину были изучены: хлороформ, метилхлорид, н-гексан, эфир диэтиловый, хлороформ: н-бутанол (9:1). Проводили двухкратную экстракцию растворителем по 5 мл, объединенные экстракты фильтровали через слой натрия сульфата безводного. Сухие остатки, полученные после удаления соответствующего экстрагента, растворяли в 1 мл спирта этилового 95 % и анализировали. Результаты степени экстракции рассчитывали как среднее шести параллельных измерений.

На первом этапе изучали степень извлечения кломипрамина из водных растворов (рисунок 1), далее с учетом результатов, полученных в первом этапе, эксперименты продолжали с модельными смесями биологической жидкости (мочи) для учета влияния биологической матрицы (таблицы 1, 2). Испытания с модельными смесями проводили в интервалах pH, показавшие наилучшие результаты в предварительных опытах.

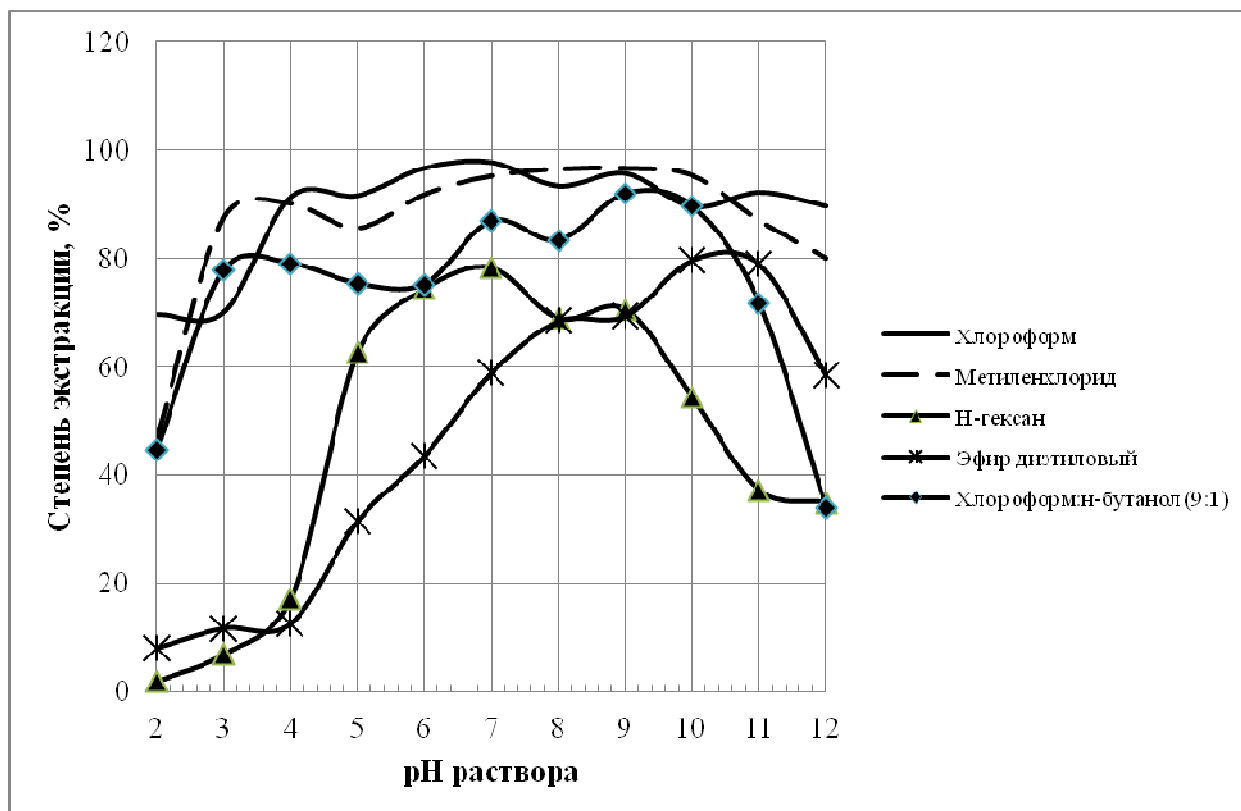


Рис. 1. Результаты экстракции кломипрамина из водных растворов органическими растворителями (n=6)

Таблица 1

Результаты экстракции кломипрамина из модельных смесей биологической жидкости (мочи) хлороформом, метиленхлоридом, н-гексаном (n=6)

pH модельной смеси	Концентрация кломипрамина (%) и метрологические параметры (n=6, f=5)		
	Хлороформ	Метиленхлорид	Н-гексан
4	$X_{cp} = 66,66$; $S = 1,98$; $\Delta X_{cp} = 2,08$; $\epsilon_{cp} = \pm 3,12\%$	-	-
5	$X_{cp} = 67,89$; $S = 1,18$; $\Delta X_{cp} = 1,23$; $\epsilon_{cp} = \pm 1,81\%$	-	-
6	$X_{cp} = 91,06$; $S = 1,38$; $\Delta X_{cp} = 1,46$; $\epsilon_{cp} = \pm 1,6\%$	$X_{cp} = 82,24$; $S = 1,85$; $\Delta X_{cp} = 1,95$; $\epsilon_{cp} = \pm 2,37\%$	$X_{cp} = 69,89$; $S = 1,53$; $\Delta X_{cp} = 1,62$; $\epsilon_{cp} = \pm 2,32\%$
7	$X_{cp} = 92,32$; $S = 1,50$; $\Delta X_{cp} = 1,57$; $\epsilon_{cp} = \pm 1,70\%$	$X_{cp} = 87,77$; $S = 1,97$; $\Delta X_{cp} = 2,07$; $\epsilon_{cp} = \pm 2,35\%$	$X_{cp} = 72,54$; $S = 1,52$; $\Delta X_{cp} = 1,59$; $\epsilon_{cp} = \pm 2,19\%$
8	$X_{cp} = 90,42$; $S = 1,39$; $\Delta X_{cp} = 1,47$; $\epsilon_{cp} = \pm 1,63\%$	$X_{cp} = 89,79$; $S = 3,38$; $\Delta X_{cp} = 3,54$; $\epsilon_{cp} = \pm 3,95\%$	$X_{cp} = 70,49$; $S = 1,81$; $\Delta X_{cp} = 4,65$; $\epsilon_{cp} = \pm 6,60\%$
9	$X_{cp} = 91,64$; $S = 1,39$; $\Delta X_{cp} = 1,47$; $\epsilon_{cp} = \pm 1,60\%$	$X_{cp} = 89,06$; $S = 2,59$; $\Delta X_{cp} = 2,72$; $\epsilon_{cp} = \pm 3,05\%$	$X_{cp} = 64,73$; $S = 1,52$; $\Delta X_{cp} = 1,59$; $\epsilon_{cp} = \pm 2,46\%$
10	$X_{cp} = 88,26$; $S = 1,18$; $\Delta X_{cp} = 1,23$; $\epsilon_{cp} = \pm 1,39\%$	$X_{cp} = 86,96$; $S = 2,09$; $\Delta X_{cp} = 2,19$; $\epsilon_{cp} = \pm 2,52\%$	$X_{cp} = 56,52$; $S = 1,77$; $\Delta X_{cp} = 1,85$; $\epsilon_{cp} = \pm 3,27\%$
11	$X_{cp} = 87,72$; $S = 1,94$; $\Delta X_{cp} = 2,03$; $\epsilon_{cp} = \pm 2,31\%$	-	-

Результаты экстракции кломипрамина из модельных смесей биологической жидкости (мочи) эфиром диэтиловым, смесью хлороформ: н-бутанол (9:1) (n=6)

рН модельной смеси	Концентрация кломипрамина (%) и метрологические параметры (n=6, f=5)	
	Эфир диэтиловый	Хлороформ: н-бутанол (9:1)
7	-	$X_{cp} = 69,72$; $S = 1,81$; $\Delta X_{cp} = 1,90$; $\varepsilon_{cp} = \pm 2,72\%$
8	$X_{cp} = 60,87$; $S = 1,22$; $\Delta X_{cp} = 1,28$; $\varepsilon_{cp} = \pm 2,10\%$;	$X_{cp} = 71,70$; $S = 1,80$; $\Delta X_{cp} = 1,89$; $\varepsilon_{cp} = \pm 2,64\%$
9	$X_{cp} = 68,91$; $S = 1,62$; $\Delta X_{cp} = 1,70$; $\varepsilon_{cp} = \pm 2,47\%$;	$X_{cp} = 80,99$; $S = 2,23$; $\Delta X_{cp} = 2,34$; $\varepsilon_{cp} = \pm 2,89\%$
10	$X_{cp} = 73,00$; $S = 1,4629$; $\Delta X_{cp} = 1,54$; $\varepsilon_{cp} = \pm 2,11\%$;	$X_{cp} = 81,82$; $S = 2,22$; $\Delta X_{cp} = 2,33$; $\varepsilon_{cp} = \pm 2,85\%$
11	$X_{cp} = 72,64$; $S = 1,02$; $\Delta X_{cp} = 1,08$; $\varepsilon_{cp} = \pm 1,49\%$;	-

Выводы:

1. Изучена степень извлечения кломипрамина из водных растворов в зависимости от рН раствора и природы органического растворителя. В результате проведенного эксперимента определено, что вещество из водных растворов максимально извлекается: хлороформом при рН 6-11 (96,75%; 97,78%; 93,45%; 95,75%; 89,58%; 92,36% соответственно), метилхлоридом при рН 6-10 (91,84%; 95,22%; 96,48%; 96,63%; 95,30% соответственно), н-гексаном при рН 6-10 (74,37%; 78,38%; 68,95%; 70,66%; 54,36% соответственно), диэтиловым эфиром при рН 8-11 (68,44%; 69,36%; 79,77% 78,93%; соответственно), смесью хлороформ: н-бутанол (9:1) при рН 7-10 (86,96%; 83,33%; 92,00%; 89,62% соответственно).

2. Разработана методика изолирования кломипрамина из биологической жидкости (мочи). Наиболее оптимальными органическими растворителями для экстракции кломипрамина являются хлороформ и метилхлорид, выход анализа при использовании предложенных растворителей в интервале рН от 7 до 9 достигает в среднем 89-92 %.

Список литературы

1. Анафранил®. Инструкция по применению лекарственного препарата для медицинского применения.
2. Еремин С.К. Анализ наркотических средств: руководство по химико-токсикологическому анализу наркотических и других одурманивающих средств / Еремин С.К., Изотов Б.Н., Веселовская Н.В. / под ред. Б.Н. Изотова – М : Мысль, 1993. – 271 с.

3. Дороженок И. Клинико-терапевтические аспекты психосоматических расстройств / И. Дороженок // Врач, 2011. – № 9. – С.14-19.
4. Клиническая фармакология : учебник / Под ред. В. Г. Кукеса. - 4-е изд., перераб. и доп. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 1056 с.
5. Лурье Ю.Ю. Справочник по аналитической химии / Ю.Ю. Лурье. – Изд. 4-е, перераб. и доп. – М. : Химия, 1971. – С. 238.
6. Сорокина И.Б. Основные принципы проведения антидепрессивной терапии / И.Б.Сорокина // Медицинский совет, 2007. – № 2. – С.71-75.
7. Moffat, A.C. Clarke's Analysis of Drugs and Poisons [Electronic Edition] A.C. Moffat, M.D. Osselton, B. Widdop. – London: Pharmaceutical Press, 2011. – P.1134-1136.
8. Understanding Obsessive-Compulsive and Related Disorders. Stanford University School of Medicine. Retrieved November 16, 2005, from <http://ocd.stanford.edu/about/understanding.html>.

Рецензенты:

Малкова Т.Л., д.фарм.н., заведующая кафедрой токсикологической химии ГБОУ ВПО ПГФА Минздрава России, г. Пермь;

Коркодинова Л.М., д.фарм.н., профессор, заведующая кафедрой фармацевтической химии ФОО, ГБОУ ВПО ПГФА Минздрава России, г. Пермь.