

УДК 615.214.2.099.074:543.42'54

## ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ РИСПЕРИДОНА И ГАЛОПЕРИДОЛА В СЛЮНЕ

© 2012 И.П. Ремезова, Д.С. Лазарян, Т.И. Максименко

Пятигорская государственная фармацевтическая академия

Поступила в редакцию 22.09.2012

Разработаны методики изолирования рисперидона и галоперидола из слюны, их идентификация и количественное определение с помощью физико-химических методов (ТСХ, УФ спектрофотометрия), которые могут быть включены в схему химико-токсикологического анализа изучаемых лекарственных веществ.

Ключевые слова: *рисперидон, галоперидол, слюна, анализ, отравления*

Возникшая «токсическая» ситуация в мире, обусловленная широким производством вредных для человека химических веществ, попадающих в окружающую среду, изменила экологическое неблагополучие населения. Это приводит к расстройствам основных регуляторных систем организма, способствуя массовому росту заболеваемости, генетическим нарушениям и другим изменениям. В условиях экологического неблагополучия раньше других систем реагируют центральная нервная, иммунная, эндокринная системы, вызывая широкий спектр функциональных нарушений. Повышенное внимание со стороны специалистов по психическому здоровью к проблемам экологии отражает общее, существующее в современном обществе беспокойство за состояние окружающей среды, появляющиеся данные свидетельствуют о возрастающем неблагополучии, об увеличивающемся патогенном влиянии факторов окружающей среды на здоровье людей. Для коррекции нарушения изменений центральной нервной системы (ЦНС), в том числе возникающих в результате экологического неблагополучия, широкое применение получил атипичный нейролептик рисперидон, который может использоваться как в виде монотерапии, так и в комбинации с другими нейролептиками, например, галоперидолом [1]. Описаны случаи передозировки этих лекарственных средств, поэтому для диагностики интоксикации необходимо разработать схему их химико-токсикологического анализа [2, 3].

*Ремезова Ирина Петровна, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры токсикологической химии. E-mail: irinaremezova@rambler.ru*

*Лазарян Джон Седракович, доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой токсикологической химии*

*Максименко Татьяна Ивановна, кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры фармацевтической химии*

В последнее время интенсивно развиваются методы терапевтического мониторинга, основанные не на анализе крови, а на определении концентрации ксенобиотика в слюне, являющейся почти безбелковым ультрафильтратом крови. Уровень его концентрации в слюне пропорционален плазматической концентрации токсического вещества, не связанного с белками плазмы [4]. Слюна – секрет слюнных желез – представляет собой слабощелочную жидкость, содержащую в своем составе ферменты, белок, а также муцин.

В работе использовалась слюна здоровых добровольцев, не принимавших лекарственные средства за 14 дней до взятия проб. Сбор слюны проводился с использованием соответствующего коллектора при первоначальной стимуляции слюноотделения жеванием его в течение 30-45 секунд. Проба слюны бралась в объеме 5 мл. Количество слюны, выделяемое человеком за сутки, зависит от характера и режима питания, в среднем оно составляет около 1000-1500 мл. Основной недостаток слюны в качестве объекта анализа заключается в трудности получения достаточного ее количества, поэтому оптимальным объемом пробы слюны, которую можно взять в течение 3 минут при стимуляции слюноотделения жеванием, является 5 мл.

Нами готовилась следующая модельная смесь: к 5 мл слюны добавляли спиртовой раствор, содержащий 2 мг рисперидона и 5 мг галоперидола (концентрации веществ соответствуют минимальной терапевтической дозе, исходя из среднесуточного объема слюны 1500 мл), и оставляли для связывания исследуемого вещества с компонентами биологической жидкости на сутки. При проведении исследования для изолирования рисперидона и галоперидола из слюны нами были проверены разработанные методики при проведении анализа на другие лекарственные средства. После доведения значения рН

среды слюны до 10 к ней добавляли натрия сульфат безводный до образования кашицы. При трёхкратной экстракции хлороформом по 10 мл выход рисперидона составлял 24,0%, а галоперидола – 38%. Также использовали методику, по которой предварительно проводили извлечение галоперидола этанолом при значении pH среды 2 с последующей реэкстракцией исследуемого вещества этанолом при значении pH среды 9-10. Рисперидон экстрагировали этанолом при значении pH среды 10 с последующей реэкстракцией исследуемого вещества 0,05 М раствором кислоты серной. Далее водную фазу отделяли и доводили значение pH среды до 10 аммиаком водным, экстрагировали тремя порциями хлороформа по 10 мл с добавлением в качестве электролита аммония сульфата до насыщения и без него. Выход рисперидона при использовании этих условий не превышает 34%.

Слюна, как известно, содержит белки, ферменты и муцин, которые могут дать «фоновое» поглощение при анализе методом УФ-спектрофотометрии. В связи с этим необходимо предварительно удалить эндогенные соединения слюны, искажающие результаты на стадии изолирования. Осаждение эндогенных веществ, содержащихся в слюне, осуществляли ацетонитрилом в соотношении 1:3. Водную фазу сливали и

выпаривали до сухого остатка. Сухой остаток растворяли в этаноле и исследовали.

Обнаружение рисперидона и галоперидола в извлечениях из слюны проводили методом тонкослойной хроматографии (ТСХ). На стартовую линию пластины «Сорбфил» размером 10×10 см наносили по 0,01 мл из 3 серий испытуемых растворов. Рядом в качестве «свидетелей» наносили 0,01 мл 0,01% раствора рисперидона и галоперидола. Подготовленные пластины помещали в хроматографические камеры, заполненные разными системами растворителей. Хроматографировали восходящим способом. Детекцию пятен проводили путем просмотра пластин в УФ свете при длине волны 254 нм, парами йода и с помощью опрыскивания реактивом Драгендорфа с предварительной обработкой пластины 10% раствором серной кислоты и без неё. Полученные результаты при использовании общих и специальных хроматографических систем [5-7] представлены в таблицах 1 и 2. Полученные данные свидетельствуют о том, что максимальное разделение наблюдается в системе хлороформ – ацетон (100:10). Полученные данные свидетельствуют о том, что максимальное разделение наблюдается в системе хлороформ – ацетон (100:10).

**Таблица 1.** Значения  $R_f$  исследуемых лекарственных веществ в общих хроматографических системах (n=6)

Исследуемое вещество	Системы растворителей		
	диоксан – хлороформ – ацетон - 25% раствор аммиака (47,5: 45: 5: 2,5)	хлороформ – ацетон (90:10)	спирт 96% – 25% раствор аммиака (100: 1,5)
рисперидон	0,75	0,65	0,59
галоперидол	0,91	0,09	0,63

**Таблица 2.** Значения  $R_f$  исследуемых лекарственных веществ в частных хроматографических системах (n=6)

Исследуемое вещество	Системы растворителей				
	метиленхлорид – метанол – 25% р-р аммиака (85:15:1)	этилацетат-метанол - 25% р-р аммиака (85: 10: 5)	толуол – ацетон – 25% р-р аммиака (50:10:5)	гептан – спирт 96% – этилацетат- 25% р-р аммиака (36:4:28:2)	спирт 96%п – гексан – диэтиламин (50:49:1)
рисперидон	0,75	0,73	0,92	0,72	-
галоперидол	-	-	0,57	0,66	0,70

Выбранные нами при проведении предварительного исследования системы растворителей позволяют хорошо отделить друг от друга рисперидон и галоперидол как в извлечениях из раствора с pH=2, так и в извлечении из раствора с pH=9-10. Зону адсорбции галоперидола на хроматографической пластине элюировали спиртом 96%. Измеряли спектр полученного раствора в области 200-300 нм с помощью спектрофотометра в кюветках с длиной рабочего слоя 10 мм относительно раствора сравнения

(извлечение из контрольного опыта без добавления рисперидона и галоперидола). Раствор извлечения характеризуется наличием максимума при длине волны 245±2 нм. В извлечениях из контрольной пробы слюны максимумов поглощения не наблюдали. Результаты обнаружения галоперидола в извлечении из слюны представлены в таблице 3. Представленные данные свидетельствуют о том, галоперидол изолируется из слюны на 65,75%.

**Таблица 3.** Результаты количественного определения галоперидола в извлечениях из слюны методом УФ спектрофотометрии

Внесено, мг	Найдено, мг	Метрологические характеристики
5,0	3,435	$\bar{X}=3,29$ $SD=0,214$ $RSD=6,50\%$ $a=3,29\pm 0,22$
5,0	3,425	
5,0	3,001	
5,0	3,023	
5,0	3,417	
5,0	3,425	

**Таблица 4.** Результаты количественного определения рисперидона в извлечениях из слюны методом УФ спектрофотометрии

Внесено, мг	Найдено, мг	Метрологические характеристики
2,0	1,40	$\bar{X}=1,31$ $SD=0,006$ $RSD=4,81\%$ $a=1,31\pm 0,07$
2,0	1,22	
2,0	1,27	
2,0	1,30	
2,0	1,35	
2,0	1,33	

Зону адсорбции рисперидона элюировали спиртом 96%. Оптическую плотность полученного раствора измеряли в области 200-300 нм с помощью спектрофотометра в кюветах с длиной рабочего слоя 10 мм относительно раствора сравнения (извлечение из контрольного опыта без добавления рисперидона). Извлечения из слюны характеризуется наличием одного максимума при  $238\pm 2$  нм. В извлечениях из контрольной пробы слюны максимумов поглощения не наблюдали. Результаты определения

рисперидона в извлечениях из слюны представлены в таблице 4. Представленные данные свидетельствуют о том, что рисперидон изолируется из слюны на 65,5%.

**Выводы:** предложена методика изолирования рисперидона и галоперидола из слюны. Обнаружение рисперидона и галоперидола в извлечениях из слюны предлагается проводить методом ТСХ. Разработана методика количественного определения рисперидона и галоперидола методом УФ спектрофотометрии после очистки с помощью метода ТСХ, которая может быть использована в схеме их химико-токсикологического анализа.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Александровский, Ю.А. Пограничные психические расстройства. 2000 г. [Электронный ресурс]. Режим доступа: [http:// fidel-kastro.ru/.../patopsychologia/pogpser.htm](http://fidel-kastro.ru/.../patopsychologia/pogpser.htm)
2. Мансурова, Р.Г. Изолирование рисперидона из биологического материала и его идентификация / Р.Г. Мансурова, Л.Д. Смирнова // Современные проблемы медико-криминалистических, судебно-химических и химико-токсикологических экспертных исследований: сб. материалов Всероссийской науч.-практ. конф., посвященной памяти профессора Ю.М. Кубицкого. – М., 2007. С. 256-258.
3. Скорнякова, А.Б. Химико-токсикологический анализ галоперидола в крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии при комбинированных отравлениях / А.Б. Скорнякова, Д.С. Лазарян, М.Г. Цыбулина // Судеб.-мед. экспертиза. 2007. №3. С. 33-35.
4. Куценко, С.А. Основы токсикологии: научно-методическое издание // СПб.: ООО «Издательство Фолиант», 2004. С. 214-216.
5. ВФС 42-3229-98. Галоперидол. – М., 1998. 8 с.
6. ВФС 42-3228-98. Раствор галоперидола 0,5% для инъекций. – М., 1998. 7 с.
7. НД 42-64-98. Рисполепт. – М., 2002. 14 с.

## RISPERIDON'S AND HALOPERIDOL'S CHEMICAL AND TOXICOLOGICAL ANALYSIS IN THE SALIVA

© 2012 I.P. Remezova, D.S. Lazaryan, T.I. Maksimenko

Pyatigorsk State Pharmaceutical Academy

The methods of isolation of risperidone and haloperidol from a saliva, their identification and quantitative definition by means of physical and chemical methods (by TLC, UF spectrophotometry) which can be included in the scheme of chemical and toxicological analysis of studied medicinal substances are developed.

Key words: *risperidone, haloperidol, saliva, analysis, poisonings*

*Irina Remezova, Candidate of Pharmacy, Associate Professor at the Toxicological Chemistry Department. E-mail: irinaremezova@rambler.ru*  
*John Lazaryan, Doctor of Pharmacy, Professor, Head of the Toxicological Chemistry Department*  
*Tatiana Maksimenko, Candidate of Pharmacy, Senior Lecturer at the Pharmaceutical Chemistry Department*