

## АНАЛИЗ КОМБИНИРОВАННЫХ СОЧЕТАНИЙ ФЛУОКСЕТИНА И ПСИХОТРОПНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ МЕТОДОМ МИКРОКОЛОНОЧНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

А. М. Лазницкая<sup>1\*</sup>, Н. В. Чмелевская<sup>1</sup>, Е. А. Илларионова<sup>2</sup>, А. К. Давыдов<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Иркутское областное бюро судебно-медицинской экспертизы, Иркутск, Российская Федерация

<sup>2</sup> Иркутский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Иркутск, Российская Федерация

<sup>3</sup> Городская клиническая больница № 7, Иркутск, Российская Федерация

Вопрос идентификации лекарственных средств в химико-токсикологических и судебно-химических исследованиях всегда является актуальным, а в психиатрии приобретает особую остроту, так как люди с психическими болезнями часто злоупотребляют психотропными препаратами. Антидепрессанты нашли широкое применение в психиатрической практике. Флуоксетин — бициклический антидепрессант, производное фенилалкиламина, назначается индивидуально и в сочетании с другими сильнодействующими лекарственными средствами (ЛС). В данной статье предложены оптимальные условия анализа комбинированных сочетаний флуоксетина с тофизопамом, сульпиридом, рисперидоном, хлорпромазином, хлорпротиксеном, имипрамином, буспироном, бромдигидрохлорфенилбензодиазепином. Представлены условия идентификации флуоксетина и психотропных ЛС из модельных смесей после извлечения их из мочи методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на приборе «Милихром А-02».

**Ключевые слова:** флуоксетин, тофизопам, хлорпромазин, буспирон, бромдигидрохлорфенилбензодиазепин, рисперидон, хлорпротиксен, сульпирид, имипрамин, высокоэффективная жидкостная хроматография, комбинированные сочетания

**Конфликт интересов:** авторы не заявили о конфликте интересов

**Для цитирования:** Лазницкая А. М., Чмелевская Н. В., Илларионова Е. А., Давыдов А. К. Анализ комбинированных сочетаний флуоксетина и психотропных лекарственных средств методом микроколоночной жидкостной хроматографии // Сибирский медицинский журнал. — 2017. — Т. 32, № 3. — С. 83–87. DOI: 10.29001/2073-8552-2017-32-3-83-87

## ANALYSIS OF COMBINATIONS OF FLUOXETINE AND PSYCHOTROPIC DRUGS BY THE METHOD OF MICROCOLUMN LIQUID CHROMATOGRAPHY

A. M. Lazitskaya<sup>1\*</sup>, N. V. Chmelevskaya<sup>1</sup>, E. A. Illarionova<sup>2</sup>, A. K. Davydov<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Irkutsk Regional Agency Judicial-Medical Expert Operation, Irkutsk, Russian Federation

<sup>2</sup> Irkutsk State Medical University, Ministry of Health of Russian Federation, Irkutsk, Russian Federation

<sup>3</sup> Irkutsk City Clinical Hospital № 7, Irkutsk, Russian Federation

The question of identification of medicines in chemical-Toxicological forensic chemical and the research is always relevant, and in psychiatry is particularly important because people with mental illnesses are often abused with psychotropic drugs. Antidepressants found wide application in psychiatric practice. Fluoxetine a bicyclic antidepressant that is derived phenylalkylamine, prescribed individually or in combination with other potent drugs. In this article we propose the optimal conditions for the combined analysis of the combination of fluoxetine with tofizopama, sulpiride, risperidone, chlorpromazine, chlorprothixene, imipramine, buspirone, bromdihydrochlorphenylbenzodiazepin. The conditions of chromatographically proposed methodology in the identification of fluoxetine and psychotropic medicines from model compounds after their extraction from urine by high-performance liquid chromatography on device "Milichrom A-02" are presented.

**Keywords:** fluoxetine, tofisopam, bromdihydrochlorphenylbenzodiazepin, chlorpromazine, risperidone, chlorprothixen, buspironum, sulphiride, imipramine, high performance liquid chromatography, combinations

**Conflict of interest:** the authors did not declare a conflict of interest

**For citation:** Lazitskaya A. M., Chmelevskaya N. V., Illarionova E. A., Davydov A. K. Analysis of Combinations of Fluoxetine and Psychotropic Drugs by the Method of Microcolumn Liquid Chromatography // Siberian Medical Journal. — 2017. — Vol. 32, № 3. — P. 83–87. DOI: 10.29001/2073-8552-2017-32-3-83-87

## Введение

Психотропные средства используются при лечении больных с психическими патологиями, устойчивыми к традиционным методам терапии, а также при оказании паллиативной помощи, когда клиническая симптоматика больного представлена сложным психопатологическим синдромом [1, 2]. Психотропные средства применяются как самостоятельно, для купирования соответствующих психических расстройств, так и в качестве адъювантных (вспомогательных) средств в составе комплексного лечения хронического болевого синдрома различной этиологии [1–4]. В этом случае на первый план выступают анальгетические свойства некоторых психотропных средств. Эти эффекты способствуют увеличению диапазона терапевтического действия классических анальгетиков. Рациональные комбинации с психотропными средствами позволяют снижать дозировку основного обезболивающего препарата. Этим достигается лучший контроль над побочными действиями, присущими многим традиционным анальгетикам.

К основным группам психотропных средств, используемых при оказании психиатрической и паллиативной помощи, относятся антидепрессанты, анксиолитики и нейролептики [2, 5]. Наиболее часто у терминальных больных наблюдаются такие психические отклонения, как бессонница, депрессия, делирий и тревожные расстройства. Медикаментозная коррекция нарушений сна проводится препаратами бензодиазепинового ряда (тофизопам, бромдигидрохлорфенилбензодиазепин, клоназепам); чистыми гипнотиками (золпидем, зопиклон); антидепрессантами (флуоксетин, имипрамин). При тяжелых формах делирия у терминальных больных используются нейролептики (сульпирид, рисперидон, хлорпромазин, хлорпротиксен) [5]. Пациенты с психическими болезнями и болевым синдромом часто злоупотребляют психотропными препаратами, что может привести к соматическим осложнениям — интоксикации, абстинентному синдрому, смерти [6].

В судебно-химической практике встречаются случаи отравления флуоксетином [6, 7] непосредственно, а также в сочетании с психотропными препаратами, такими как тофизопам, бромдигидрохлорфенилбензодиазепин, хлорпромазин, рисперидон, хлорпротиксен, буспирон, сульпирид, имипрамин. Отравления препаратами этой группы занимают 3-е место среди отравлений ЛС, а в психиатрической практике их удельный вес составляет примерно 15% [8]. Кроме того, эти препараты включены в «Перечень наименований токсичных веществ, наиболее часто встречающихся при острых отравлениях» [9]. В литературе есть данные о химико-токсикологическом анализе производных фенилалкиламина, в том числе флуоксетина [7], однако сведения о химико-токсикологическом анализе флуоксетина в сочетании с другими психотропными лекарственными средствами отсутствуют.

В связи с расширением списка определяемых веществ и увеличением числа комбинированных отравлений возрастает важность вопроса о чувствительности

методики идентификации лекарственных веществ и ее избирательности. Соответственно, разработка методики химико-токсикологического анализа, основанной на использовании современных инструментальных методов исследования, является актуальной проблемой.

В качестве объектов исследования в данной работе использовали трехкомпонентные сочетания флуоксетина с транквилизаторами (бромдигидрохлорфенилбензодиазепин, тофизопам, буспирон), нейролептиками (сульпирид, рисперидон, хлорпромазин, хлорпротиксен) и антидепрессантом (имипрамин).

Цель настоящего исследования: разработка методики обнаружения и идентификации флуоксетина в сочетании с другими психотропными веществами из модельных смесей с использованием метода микроколоночной ВЭЖХ.

Этот метод позволяет одновременно определять несколько соединений, отличается достаточной точностью и воспроизводимостью. Однако внедрение ВЭЖХ в практику ограничено из-за отсутствия унифицированных методик анализа. Это приводит к увеличению продолжительности всего анализа и существенно повышает стоимость анализа. Решение проблемы — разработка максимально унифицированных, экономичных и экспрессных методик для одновременного определения больших групп лекарственных веществ [10].

## Материал и методы

В работе использовали микроколоночный жидкостный хроматограф «Миличром А-02» (ЗАО «ЭкоНова», Новосибирск, Россия), снабженный стальной колонкой размером  $\varnothing 2 \times 75$  мм, заполненной сорбентом ProntoSIL-120-5-C18 AQ (Bischoff Anal. GmbH, Германия). Температура  $40^\circ\text{C}$ .

Для приготовления элюентов и растворения образцов использовали: ацетонитрил «осч» (сорт 1) фирмы «Криохром» (Санкт-Петербург); лития перхлорат, спирт метиловый, воду очищенную, хлорную кислоту квалификации не ниже «хч».

Спирт метиловый перегоняли перед использованием. Вода дополнительно была очищена с помощью системы Norganic, Millipore Corporation (США).

В качестве стандартных веществ были использованы растворы субстанций флуоксетина, тофизопамы, бромдигидрохлорфенилбензодиазепина, хлорпромазина, рисперидона, хлорпротиксена, буспилона, сульпирида, имипрамина в спирте метиловом с концентрацией 0,5 мг/мл.

Статистическую обработку результатов исследования проводили в соответствии с требованиями ГФ XIII издания, том 1, ОФС 1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента» [11]. Обработку полученных хроматограмм проводили с использованием программ «Миличром А-02» и «Альфахром» с базой данных БД-2003-500.

Исследования проводили на модельных смесях флуоксетина с психотропными препаратами.

## Результаты и обсуждение

Нами, в судебно-химическом отделении Областного бюро судебно-медицинской экспертизы г. Иркутска, в качестве одного из методов идентификации и количественного определения лекарственных веществ в анализируемой пробе используется метод ВЭЖХ на микроколоночном жидкостном хроматографе «Миличром А-02» с УФ-детектором. Для анализа используется колонка с обращенно-фазным сорбентом ProntoSil-120-5-C18 AQ с термостатированием, размер 75x2 мм. В качестве подвижной фазы используется смесь перхлората лития, воды и ацетонитрила — А: [4М LiClO<sub>4</sub> — 0,1М HClO<sub>4</sub>] — H<sub>2</sub>O (1:19); В: ацетонитрил; скорость потока элюента 100 мкл/мин, температура 40,0 °С. Данные условия не позволяют достоверно разделить и идентифицировать флуоксетин в сочетании с другими психотропными ЛС. Поэтому для анализа таких комбинированных сочетаний был экспериментально подобран обращенно-фазный вариант хроматографии с градиентным элюированием, режим элюирования 3700 мкл от 5% Б до 70% Б в системе: элюент А: 0,2 М LiClO<sub>4</sub> — 0,005 М HClO<sub>4</sub> (рН 2,8); элюент Б — ацетонитрил. Объем пробы варьировался от 2 до 4 мкл.

На рисунке 1 приведена хроматограмма девятикомпонентной модельной смеси раствора флуоксетина с психотропными ЛС.

Пики исследуемых веществ в предложенном элюенте достаточно симметричны. Свидетельством этого являются значения коэффициентов асимметрии, рассчитанные на уровне 10% высоты пиков, которые близки к единице. Таким образом, данная хроматографическая система «сорбент-элюент» является оптимальной для анализа исследуемых лекарственных веществ.

Наглядно видно, что все исследуемые соединения отделяются друг от друга практически до базовой линии. Таким образом, показано, что предложенная форма градиента позволяет определять любые сочетания исследуемых соединений.

Детектирование исследуемых веществ осуществляли в интервале длин волн 190–360 нм с шагом 2 нм, базовая длина волны для нормирования спектра — 210 нм (длина волны максимального поглощения или близкая к ней).

Таблица 2

### Спектральные отношения для исследуемых соединений, растворитель: CH<sub>3</sub>CN — 0,2 М LiClO<sub>4</sub> (рН 2,8)

№	Определяемое вещество	Время удерживания, T <sub>R</sub> , мкл; n=10	Спектральное отношение, A(λ <sub>x</sub> )/A(λ <sub>210</sub> )						
			A <sub>220</sub> /A <sub>210</sub>	A <sub>230</sub> /A <sub>210</sub>	A <sub>240</sub> /A <sub>210</sub>	A <sub>250</sub> /A <sub>210</sub>	A <sub>260</sub> /A <sub>210</sub>	A <sub>280</sub> /A <sub>210</sub>	A <sub>300</sub> /A <sub>210</sub>
1	Аминазин	3121	0,635	0,523	0,676	1,111	1,125	0,062	0,148
2	Имипрамин	2907	0,602	0,230	0,260	0,340	0,308	0,223	0,080
3	Рisperидон	2226	0,506	0,772	0,938	0,579	0,474	0,541	0,032
4	Буспирон	2298	0,867	1,083	1,383	0,520	0,042	0,072	0,156
5	Сульпирид	1212	0,740	0,389	0,349	0,198	0,043	0,045	0,058
6	Тофизопам	2568	0,677	0,474	0,454	0,451	0,404	0,145	0,243
7	Бромдигидрохлорфенилбензодиазепин	2741	1,002	1,067	0,840	0,508	0,305	0,060	0,055
8	Флуоксетин	3024	0,714	0,740	0,153	0,048	0,080	0,043	0,009
9	Хлорпротиксен	3133	0,805	1,023	0,599	0,351	0,352	0,286	0,097

Длины волн максимального и минимального поглощения исследуемых веществ представлены в таблице 1.

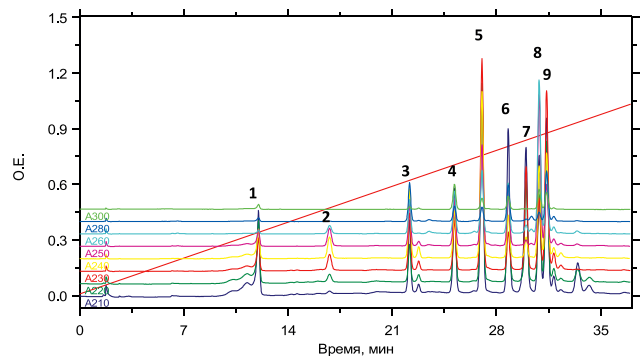


Рис. 1. Хроматограмма стандартного раствора смеси веществ в спирте метиловом

Примечание: Пики: 1 — сульпирид; 2 — рисперидон; 3 — буспирон; 4 — тофизопам; 5 — бромдигидрохлорфенилбензодиазепин; 6 — имипрамин; 7 — флуоксетин; 8 — аминазин; 9 — хлорпротиксен.

Таблица 1

### Длины волн максимального и минимального поглощения

Определяемое соединение	λ <sub>max</sub> , нм	λ <sub>min</sub> , нм
Аминазин	256, 310	226, 280
Имипрамин	252	плато 210, 232
Рisperидон	238, 274	222, 256
Буспирон	212, 238, 300	224, 264
Сульпирид	212, 294	плато 230, 268
Тофизопам	208	плато 230, 280
Бромдигидрохлорфенилбензодиазепин	230, 314	214, плато 292
Флуоксетин	228, 264	218, 248
Хлорпротиксен	206, 230, 270, 330	218, 254, 310

Идентификацию веществ проводили по временам удерживания и спектральным отношениям (табл. 2). Спектральные отношения для исследуемых соединений рассчитывали как отношение площадей пиков, зарегистрированных при длинах волн λ<sub>x</sub> и λ<sub>210</sub>.

Проведена валидационная оценка разработанной методики. Условия пригодности хроматографической системы соблюдены. Предложенные нами условия хроматографирования использованы для разработки методики идентификации флуоксетина в сочетании с психотропными ЛС в извлечениях из мочи.

Методика идентификации комбинированных сочетаний флуоксетина и психотропных ЛС методом ВЭЖХ после извлечения их из мочи: в колбу вместимостью 100 мл вносят 50 мл мочи, содержащей смесь исследуемых веществ, настаивают в течение 2 ч при комнатной температуре, периодическом перемешивании и обработке на ультразвуковой бане RK 100 Bandelin electronic (Германия). Полученный раствор переносят в делительную воронку, добавляют 0,1 М раствор хлористоводородной кислоты до pH=4,0 и 20 мл хлороформа, затем проводят экстракцию двукратно в течение 20 мин. Хлороформные извлечения упаривают на водяной бане досуха, сухой остаток растворяют в 20 мл спирта метилового. Полученный раствор вводят в колонку в объеме 2 мкл. Хроматографируют анализируемый раствор в следующих условиях: градиентное элюирование 3700 мкл от 5% Б до 70% Б в системе: элюент А: 0,2 М LiClO<sub>4</sub> – 0,005 М HClO<sub>4</sub> (pH 2,8); элюент Б – ацетонитрил.

Результаты хроматографического анализа исследуемых соединений после извлечения их из мочи в предложенных условиях статистически обработаны и представлены в таблице 3.

Таблица 3

**Время удерживания исследуемых соединений после извлечения их из мочи**

Соединение	Время удерживания, мин	Метрологические характеристики (n=6)
Аминазин	31,21; 31,20; 31,22 31,22; 31,20; 31,23	$\bar{X} = 31,21; S_x = 0,0052;$ $\Delta X = 0,0133; E = 0,04\%$
Имипрамин	29,07; 29,06; 29,08 29,06; 29,07; 29,06	$\bar{X} = 29,07; S_x = 0,0037;$ $\Delta X = 0,009; E = 0,03\%$
Рisperидон	22,26; 22,27; 22,25 22,26; 22,24; 22,25	$\bar{X} = 22,26; S_x = 0,0049;$ $\Delta X = 0,0126; E = 0,06\%$
Буспирон	22,98; 22,97; 22,98 22,96; 22,97; 22,99	$\bar{X} = 22,98; S_x = 0,0047;$ $\Delta X = 0,012; E = 0,05\%$
Сульпирид	12,12; 12,14; 12,13 12,12; 12,15; 12,11	$\bar{X} = 12,13; S_x = 0,0061;$ $\Delta X = 0,0156; E = 0,12\%$
Тофизопам	25,68; 25,67; 25,66 25,67; 25,66; 25,67	$\bar{X} = 25,67; S_x = 0,0034;$ $\Delta X = 0,0081; E = 0,03\%$
Бромдигидрохлорфенилбензодиазепин	27,41; 27,42; 27,40 27,42; 27,41; 27,42	$\bar{X} = 27,41; S_x = 0,0036;$ $\Delta X = 0,009; E = 0,03\%$
Флуоксетин	30,24; 30,25; 30,23 30,24; 30,23; 30,25	$\bar{X} = 30,24; S_x = 0,0038;$ $\Delta X = 0,008; E = 0,04\%$
Хлорпротиксен	31,33; 31,32; 31,30 31,32; 31,33; 31,31	$\bar{X} = 31,32; S_x = 0,0048;$ $\Delta X = 0,0123; E = 0,04\%$

Примечание:  $\bar{X}$  — среднее значение из n-определений;  $S_x$  — стандартное отклонение среднего результата;  $\Delta X$  — абсолютная ошибка среднего арифметического;  $E$  — относительная ошибка среднего результата.

На рисунках 2–6 приведены хроматограммы трехкомпонентных сочетаний флуоксетина с психотропными ЛС, полученные по разработанной методике. Видно, что все исследуемые вещества хорошо разделяются.

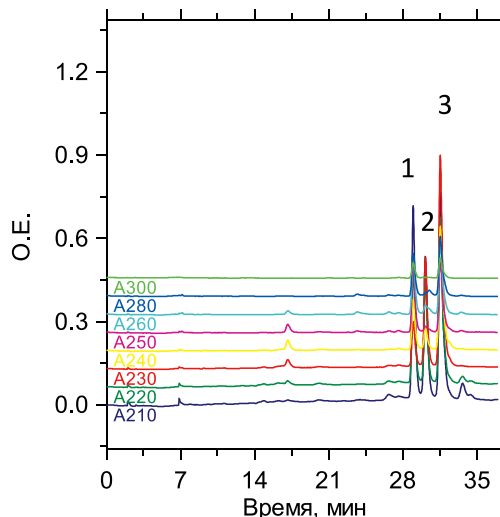


Рис. 2. Хроматограмма извлечения из мочи, пики: 1 — имипрамин; 2 — флуоксетин; 3 — хлорпротиксен

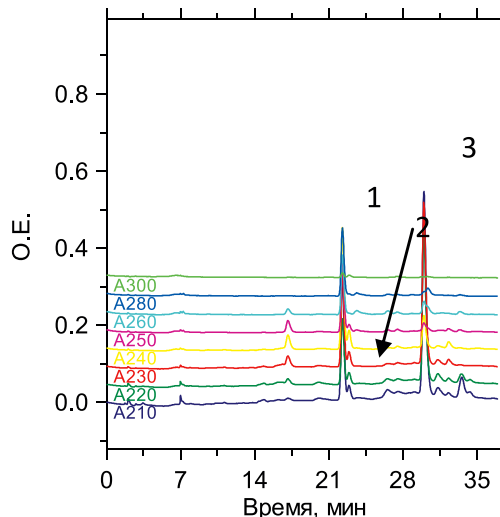


Рис. 3. Хроматограмма извлечения из мочи, пики: 1 — рисперидон; 2 — буспирон; 3 — флуоксетин

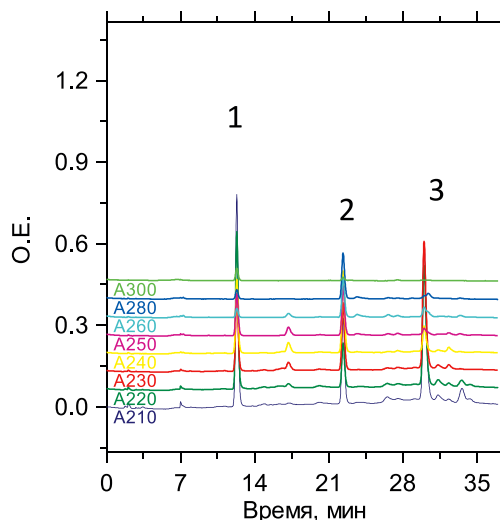


Рис. 4. Хроматограмма извлечения из мочи, пики: 1 — сульпирид; 2 — рисперидон; 3 — флуоксетин



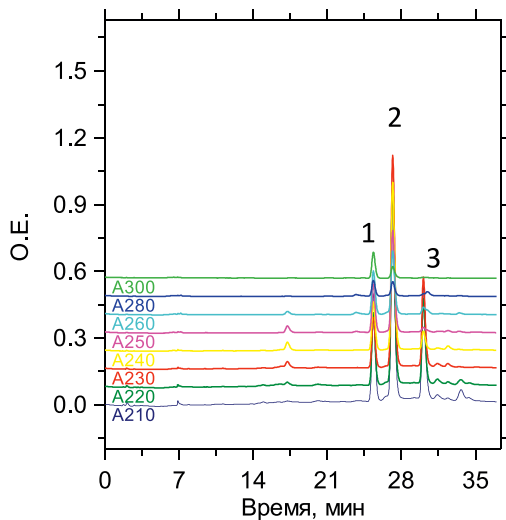


Рис. 5. Хроматограмма извлечения из мочи, пики: 1 — тофизопам; 2 — бромдигидрохлорфенилбензодиазепин; 3 — флуоксетин

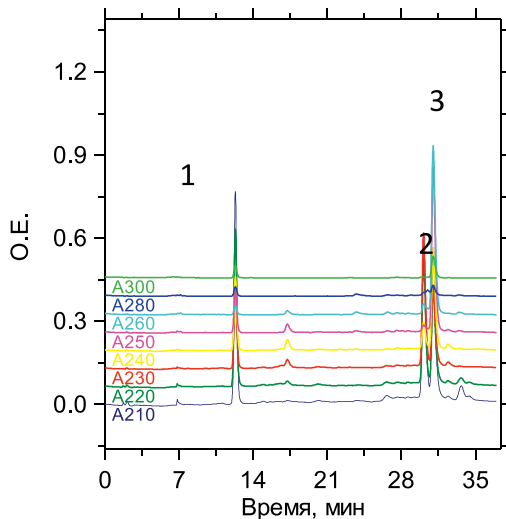


Рис. 6. Хроматограмма извлечения из мочи, пики: 1 — сульпирид; 2 флуоксетин; 3 — хлорпромазин

## Выводы

На основании вышеизложенного можно сделать вывод, что предложенная методика позволяет идентифицировать флуоксетин в извлечениях из мочи как индивидуально, так и в сочетании с психотропными ЛС (тофизопамом, хлорпромазином, рисперидоном, хлорпротиксеном, буспироном, сульпиридом, имипрамином, бромдигидрохлорфенилбензодиазепином). Следовательно, подобранные условия оптимальны, а методика унифицирована, что позволяет использовать метод ВЭЖХ для обнаружения флуоксетина и психотропных ЛС в комбинированных сочетаниях.

## Литература/References

1. Клинические рекомендации. Хронический болевой синдром (ХБС) у взрослых пациентов, нуждающихся в паллиативной медицинской помощи. Утверждены на II конференции с международным участием «Развитие паллиативной помощи взрослым и детям». — М., 2016. — С. 55–56.
2. Контроль симптомов в паллиативной медицине / Под ред. проф. Г.А. Новикова. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. — 248 с.
3. Данилов А.Б., Данилов Ал.Б. Управление болью. Биопсихосоциальный подход. — М.: «АММ ПРЕСС», 2014. — 592 с.
4. Камчатнов П.Р. Нейропатическая боль: проблемы и решения // Журнал «Нейро News: психоневрология и нейропсихиатрия». — 2009. — № 4 (15). — С. 36–39.
5. Машковский М.Д. Лекарственные средства, 15-е изд., перераб., испр. и доп. — М.: Новая Волна, 2005. — 1200 с.
6. Малин Д.И. Побочное действие психотропных средств. — М.: Вузовская книга, 2000. — 207 с.
7. Казарцев И.А., Воронкова Л.Г. Химико-токсикологическое исследование препарата флуоксетин // Суд.-мед. экспертиза. — 2008. — Т. 51, № 4. — С. 31–35.
8. Скорнякова А.Б., Лазарян Д.С., Цыбулина М.Г. Химико-токсикологический анализ галоперидола в желчи методом высокоэффективной жидкостной хроматографии при комбинированных отравлениях // Вестник ВГУ. — 2006. — № 2. — С. 368–370.
9. Приказ МЗ РФ от 29.12.2000 г. № 460 «Об утверждении учетной документации токсикологического мониторинга».
10. Федорова Г.А., Кожанова Л.А. Применение микроколоночной высокоэффективной жидкостной хроматографии // Сборник трудов «Хроматография на благо России». — 2007. — С. 666–684.
11. Государственная Фармакопея, 13-е изд. — 2015. — Т. 1. — 1470 с.

Поступила 07.03.2017

## Сведения об авторах

**Лазницкая Анна Марковна\***, врач судебно-медицинский эксперт Иркутского областного бюро судебно-медицинской экспертизы.

Адрес: 664022, г. Иркутск, бульвар Гагарина, 4.

E-mail: anlaz2005@yandex.ru.

**Чмелевская Наталья Владимировна**, канд. фарм. наук, заведующая судебно-химическим отделением Иркутского областного бюро судебно-медицинской экспертизы.

Адрес: 664022, г. Иркутск, бульвар Гагарина, 4.

E-mail: lllelena24@rambler.ru.

**Илларионова Елена Анатольевна**, докт. хим. наук, профессор, заведующая кафедрой фармацевтической и токсикологической химии Иркутского государственного медицинского университета Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Адрес: 664003, г. Иркутск, ул. Красного восстания, 1.

E-mail: lllelena24@rambler.ru.

**Давыдов Анастасий Константинович**, врач-терапевт, заведующий онкологическим отделением Городской клинической больницы № 7.

Адрес: 664019, г. Иркутск, ул. Ушаковская, 2.

E-mail: anlaz2005@yandex.ru.