

Рекомендована д. фармац. наук, проф. С. О. Васюк
УДК 615.214.3.099.074
DOI 10.11603/2312-0967.2016.3.6816

ВИЗНАЧЕННЯ СЕРТИНДОЛУ В КРОВІ МЕТОДОМ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЇ СПЕКТРОСКОПІЇ

© С. І. Давидович¹, І. Й. Галькевич¹, О. В. Шамлян²

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького¹
Центральна науково-дослідна лабораторія та лабораторія промислової токсикології², Львів

Резюме: незважаючи на прогрес у лікуванні психічних захворювань, лікування таким сучасним антипсихотичним засобом, як сертиндол досі асоціюється з токсичними і летальними наслідками. У статті наведено результати визначення сертиндолу в крові, використовуючи флуоресціюючі властивості даного препарату. У 96 % етанолі спектр флуоресценції сертиндолу характеризується збудженням молекули при 310 нм і емісією при 345 нм. В екстрактах із крові було визначено до 87 % сертиндолу. Межа кількісного визначення сертиндолу в крові становить 12 нг / мл при відносній похибці 2,41 %.

Ключові слова: сертиндол, кров, флуоресценція, ізолювання.

Вступ. Антипсихотичні лікарські засоби широко призначають для лікування шизофренії та психозів. Одним з таких препаратів є сертиндол. Дані пост-маркетингових досліджень із фармаконагляду цього препарату та аналіз джерел літератури виявили дозозалежний ризик виникнення аритмії та раптової кардіогенної смерті при його прийомі [3, 5]. У зв'язку з повідомленнями про інтоксикації сертинделом, розробка експресних методів виявлення та визначення його у крові постраждалого є актуальним завданням при проведенні лабораторних та токсикологічних досліджень [6].

Згідно з оглядом літератури, для визначення кількісного вмісту препарату в біологічних рідинах найчастіше використовують високоефективну рідинну хроматографію [1, 2]. Проте метод флуоресцентної спектрометрії також дозволяє визначати сертиндол на рівні концентрацій, що виражаються в нг/мл. В літературі описано методики флуоресцентного визначення сертиндолу в лікарських формах, проте не описано визначення даного препарату в біологічних рідинах цим методом [4].

Мета роботи – розробка чутливої експресної методики визначення сертиндолу в крові на основі його флуоресціюючих властивостей.

Методи дослідження. Інтенсивність флуоресценції розчинів сертиндолу вимірювали на спектрофлуориметрі марки Hitachi MPF4 (Японія), оснащеного ксеноновою лампою. Спектри флуоресценції знімали при ширині щілини монохроматора 5 нм, швидкість сканування 30 нм/хв, $l=1$ см. Довжину хвилі збудження і випромінювання встановлювали на основі аналізу спектрів.

Для виготовлення серії стандартних розчинів використовували сертиндол, отриманий з Sigma-Aldrich, кваліфікації HPLC, із вмістом діючої речовини 99,98 %. Із відповідної наважки готували розчин сертиндолу в 96 % етанолі з концентрацією 1 мг/мл (розчин А).

Вивчали залежність спектрів флуоресценції сертиндолу в різних органічних розчинниках – 96 % етанолі, ізопропанолі та ацетонітрилі. Концентрація сертиндолу в кожному з них становила 10 мкг/мл ($C=0,3$).

Шляхом розведення розчину А 96 % етанолом готували серію стандартних розчинів із концентрацією 10, 50, 100, 250, 500, 1000 нг/мл ($n=3$ для кожного вмісту препарату). Інтенсивність флуоресценції вимірювали при 345 нм ($\lambda_{36} = 310$ нм, чутливість 3).

Методика ізолювання сертиндолу з крові. Готували модельні суміші сертиндолу з кров'ю, яку одержували у Львівському обласному центрі служби крові та зберігали при -20 °С. Кров перевіряли на відсутність лікарських засобів. Для виготовлення модельних зразків до 5 мл крові вносили по 0,05; 0,25; 0,5; 1,25; 2,5; 5,0 мкг сертиндолу та вносили по 5 мл води.

Проби струшували 2 хв до отримання гомогенної маси. В досліджувані зразки вносили по 5 мл 20 % розчину оксалатної кислоти і проби 20 хв обробляли ультразвуком (частота 52кГц). Після цього проби центрифугували (10000 об/хв, 15 хв). Центрифугати відокремлювали, а залишок повторно обробляли 2 мл 20 % розчину оксалатної кислоти, після чого рідину відокремлювали центрифугуванням.

Центрифугати об'єднували та доводили 30 % розчином натрію гідроксиду до рН 11 (за універсальним індикатором). Двічі екстрагували сертиндол 1,2-дих-

лоретаном (порціями по 7 мл). Для екстракції застосовували 1,2-дихлоретан кваліфікації х. ч. Дихлоретанові витяжки об'єднували, випаровували розчинник досуха при 40 °С. Сухий залишок кількісно розчиняли в 5 мл 96 % етанолу і ці розчини використовували для визначення сертиндолу флуориметричним методом.

Результати й обговорення. На рисунку 1 наведено спектри флуоресценції сертиндолу залежно від природи розчинника. В ізопропанольних розчинах інтенсивність флуоресценції є дещо вищою, проте при дослідженні контрольних проб із крові більшою мірою спостерігався матричний ефект, в результаті чого значно зменшувалась чутливість. Для визна-

чення вмісту сертиндолу доцільно використовувати етанольні розчини. В цьому розчиннику для сертиндолу $\lambda_{36} = 310$ нм, а $\lambda_{ем.}$ спостерігається при 340 нм. При знятті спектрів флуоресценції контрольних проб із крові при даних довжинах хвиль не спостерігалось флуоресценції.

У межах концентрацій сертиндолу від 10 нг/мл до 1000 нг/мл градуювальний графік (рис. 2) описується залежністю $Y = 2,88 + 0,296 \times X$, де Y – інтенсивність флуоресценції, а X – концентрація сертиндолу в розчині (нг/мл). Відносна похибка кількісного визначення сертиндолу в 96 % етанолі становить 0,98 %. Межа виявлення (LOD) та межа кількісного визна-

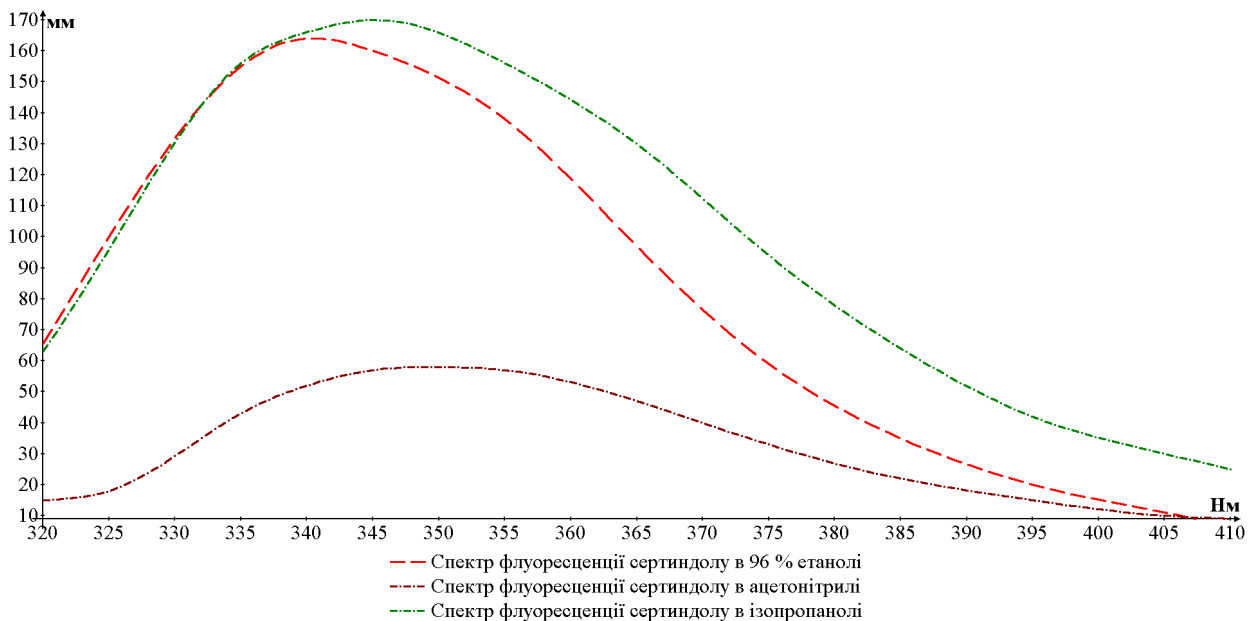


Рис. 1. Характер спектрів флуоресценції сертиндолу в 96 % етанолі, ізопропанолі та ацетонітрилі.

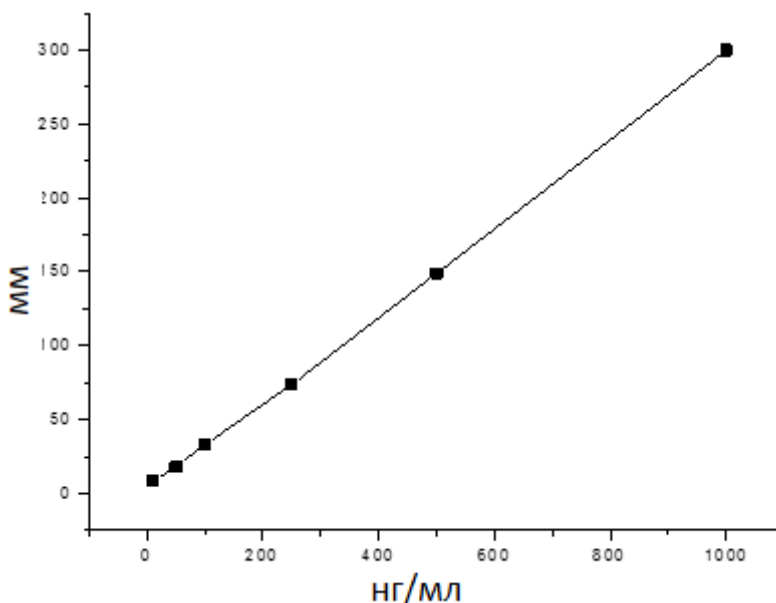


Рис. 2. Градуювальний графік кількісного визначення сертиндолу методом флуориметрії.

чення (LOQ) сертиндолу в цьому розчині становлять 4 нг/мл та 10 нг/мл відповідно.

Результати кількісного визначення сертиндолу в пробах крові методом флуориметрії наведено в таблиці 1.

Як видно з даних, представлених в таблиці 1, межа визначення сертиндолу в 1 мл крові методом флуоресцентної спектроскопії становить 12 нг в 1 мл проби.

Відносна похибка кількісного визначення сертиндолу в крові не перевищує 2,41 %.

Таблиця 1. Результати визначення сертиндолу в крові методом флуориметрії

Внесено сертиндолу (нг) до 5 мл крові	Виділено препарату		Метрологічні характеристики методу
	нг	%	
50	41	82,00	$\bar{X} = 84,87$
250	208	83,20	SD= 2,05
500	422	84,40	$S_{\bar{X}} = 0,84$
1250	1070	85,60	$\Delta X = \pm 2,05$
2500	2167	86,68	$\bar{X} \pm \Delta \bar{x} = 84,87 \pm 2,05$
5000	4365	83,20	$\epsilon = 2,41\%$

Висновки. Вивчено ефективність ізолювання сертиндолу з модельних зразків крові. Розроблено умови кількісного визначення сертиндолу шляхом вимірювання його природної флуоресценції в полярних розчинниках.

Запропонований флуориметричний метод для визначення сертиндолу в крові має високу стабіль-

ність та чутливість – дозволяє визначати мінімальні концентрації препарату. Дану методику можна використовувати для визначення терапевтичного та токсичного рівнів концентрацій сертиндолу в крові при проведенні лабораторних та токсикологічних досліджень.

Список літератури

1. Pae C. U. Sertindole: dilemmas for its use in clinical practice / C. U. Pae // Expert opinion on drug safety – 2013. – Vol. 12, №3. – P. 321–326.
 2. Waldman W. Acute poisoning with sertindole – a case report / W. Waldman, K.Kaletha, J. Sein Anand // Przeglad Lekarski. – 2013. – Vol. 70, №8. – P. 669– 670.
 3. Drug safety and efficacy evaluation of sertindole for schizophrenia. / E. Karamatskos, M. Lambert, C. Mulert [et al.] // Expert opinion on drug safety. – 2012. – Vol. 11, № 6. – P. 1047–1062.
 4. Stability-Indicating Chromatographic Methods for the Determination of Sertindole / N. A. El-Ragehy, N. Y. Hassan,

M. Abdelkawy [et al.] // Journal of chromatographic science. – 2014. – Vol. 52. №6. – P. 559–565.
 5. Determination of the concentration of sertindole in human plasma by RP-HPLC with UV detection / W. Z. Liu, Q. X. Chen, H. M. Shi [et al.] // Chinese Journal of Hospital Pharmacy. – 2010. – №18. – P. 19–22.
 6. Micelle enhanced and native spectrofluorimetric methods for determination of sertindole using sodium dodecyl sulfate as sensitizing agent / A. M. El-Kosasy, L. A. Hussein, N. G. Sedki [et al.] // Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. – 2016. – №153. – P. 422–427.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СЕРТИНДОЛА В КРОВИ МЕТОДОМ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

С. И. Давыдович¹, И. И. Галькевич¹, О. В. Шамлян

*Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого¹
 Центральная научно-исследовательская лаборатория и лаборатория промышленной токсикологии², Львов*

Резюме: несмотря на прогресс в лечении психических заболеваний, лечение таким современными антипсихотическим средством, как сертиндол до сих пор ассоциируется с токсическими и летальными последствиями. Поэтому целью данной работы была разработка чувствительной методики определения сертиндола в крови используя флуоресцирующие свойства данного препарата. В 96 % этаноле спектр флуоресценции сертиндола характеризуется возбуждением молекулы при 310 нм и эмиссией при 345 нм. В экстрактах из крови было определено до 87 % сертиндола. Предел количественного определения сертиндола в крови составляет 12 нг/мл, при относительной ошибке – 2,41 %.

Ключевые слова: сертиндол, кровь, флуоресценция, изолирование.

DETERMINATION OF SERTINDOLE IN BLOOD BY FLUORESCENCE SPECTROSCOPY

S. I. Davydovych¹, I. Y. Halkevych¹, O. V. Shamlian

¹ *Danylo Halytskyi Lviv National Medical University*

Central Research Laboratory and Laboratory of Industrial Toxicology, Lviv

Summary: fluorescence spectra of sertindole molecules in 96 % ethanol is characterized by excitation at 310 nm and emission at 345 nm. Relative error of sertindole quantification in 96 % ethanol is 0.98 %. In extracts from the blood there were determined up to 87 % sertindole. The limit of sertindole quantification in blood is 12 ng/ml. Relative error of sertindole quantification in blood is 2.41 %. Conditions of sertindole isolation and identification in biological fluids on model mixes with blood are studied. Experimentally it was proved the feasibility of fluorometry developed techniques to quantify sertindole in extracts from biological fluids in forensic and toxicological investigations.

Key words: sertindole, blood, fluorescence, isolation.

Отримано 27.07.2016