

Исследование строения химических соединений, методы анализа и контроль производства

© Коллектив авторов, 2016

Н. В. Баймеева, И. И. Мирошниченко

АНАЛИТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ АТИПИЧНЫХ НЕЙРОЛЕПТИКОВ (ОБЗОР)

ФГБНУ "Научный центр психического здоровья", Москва, Россия, e-mail: baymееva_n@mail.ru

Представлены общие тенденции и подходы к количественному химическому анализу атипичных нейролептиков и определению их концентрации в биологических матрицах, а также способы и подходы к подготовке биологических объектов к количественному химическому анализу этих соединений.

Ключевые слова: атипичные нейролептики; методы определения; хроматография; масс-спектрометрия; экстракция.

Среди наиболее распространенных лекарственных препаратов в психиатрической практике особое внимание привлекают нейролептики (антипсихотики). Нейролептики можно разделить на классические (фенотиазины и бутирофеноны) и так называемые "атипичные" или нейролептики второго поколения (табл. 1). К атипичным нейролептикам (АН) можно отнести препараты, при воздействии которых на животную модель отсутствует или минимально выражена каталепсия. В клинике препараты характеризуются выраженным антипсихотическим эффектом. Отличительной чертой антипсихотиков второго поколения является мультифункциональность воздействия на рецепторы (дофаминовые, серотониновые, глутаматные и т.д.) и менее выраженные побочные эффекты, такие как экстрапирамидные нарушения. Первыми внедренными в практику препаратами стали сульпирид и клозапин; родоначальником новой линейки препаратов считают рисперидон, остальные посредством различных заместителей синтезированы по принципу "me-too" (я тоже).

Методы количественного определения типичных нейролептиков достаточно широко освещены в литературе, в то время как для препаратов следующей генерации наблюдается некоторый дефицит данной информации, в особенности в систематизированном виде.

Для измерения концентрации атипичных нейролептиков (АН) применяются разнообразные аналитические методы, такие как фотометрия, полярография, капиллярный электрофорез. Все же наиболее распространенными методами являются ВЭЖХ и газовая хроматография (ГХ) с разнообразными методами детекции, в том числе и масс-спектрометрией.

Следует отметить, что иммуноферментные методы определения содержания лекарственных веществ, основанные на специфическом взаимодействии анти-

ген-антитело, при анализе АН применяются достаточно редко.

Требования к чувствительности анализа обусловлены фармакокинетическими характеристиками конкретного вещества, приведенными в табл. 2. Очевидно, что для веществ, характеризующихся низкими значениями концентрации, с одной стороны, и/или значительными величинами периода полувыведения ($T_{1/2}$), с другой, предел обнаружения должен быть на уровне пг/мл.

Методы аналитического определения

Хроматографические методы являются преобладающими в анализе содержания АН. При этом используются как традиционные, так и более современные детекторы (масс-спектрометрические, диодноматричные, светорассеяния). Жидкостная хроматография (ЖХ) с ультрафиолетовым детектором получила широкое распространение для количественного определения АН, в особенности для веществ, концентрация которых в образцах превышает 10 нг/мл (клозапин, сульпирид) [4].

Возможно также количественное определение атипичных антипсихотиков методом ЖХ с электрохимическим детектором (ЭХД), например, оланзапина и его метаболита 4-*N*-*des*-метил-оланзапина. ЖХ-ЭХД применили с целью установления корреляционной связи между концентрацией АН, его метаболита и некоторых метаболитов организма человека. Линейность наблюдали в диапазоне 1 – 100 нг/мл для каждого аналита. Метод апробирован при проведении терапевтического лекарственного мониторинга (ТЛМ) для 48 добровольцев [5].

Условия разделения и детекции АН приведены в табл. 3.

Метод ГХ показан для измерения концентрации таких гидрофобных соединений, как азеннапин [6].

Тонкослойная хроматография (ТСХ) находит свое применение при определении качества готовых лекар-

ственных форм АН. Так, например, для оценки зипразидона и продуктов его разложения в таблетках и порошках применили ТСХ на алюминиевых пластинах с силикагелем и в качестве подвижной фазы смесь хлороформ — метанол — ледяная уксусная кислота (75:5:4,5). Положение пятен определяли облучением УФ-светом при $\lambda = 247$ нм [7].

В настоящее время тандемная жидкостная хромато-масс-спектрометрия (ЖХ-МС-МС) набирает все большую популярность ввиду высокой чувствительности данных методов, низких пределов обнаружения веществ, высокой селективности и специфичности, а также экспрессности методик. Время анализа редко превышает 10 мин. ЖХ-МС-МС совмещает в себе 2 характеристики, используемые для идентификации и количественного определения вещества, — это время удерживания на колонке (стационарная фаза) и отношение массы к заряду (m/z) (анализатор массы).

Возможно также применение *хиральной хроматографии* для анализа АН в целях определения энантиомеров палиперидона как метаболитов респиридола с использованием хиральной обращенно-фазовой колонки Chiralcel OJ-H в методе ЖХ-МС-МС [8].

Еще раз подчеркнем, преимуществом ЖХ-МС-МС является высокая чувствительность и способность за 1 операцию определять более 10 аналитов. Использование дейтерированных внутренних стандартов является тоже крайне удобным, так как они полностью повторяют свойства оригинальных АН (одинаковая степень извлечения, химические свойства) [9].

Условия разделения и детекции приведены в табл. 3.

Находят свое применение и нижеперечисленные методы обнаружения.

Таблица 1
Общая информация о некоторых атипичных нейролептиках

Международное непатентованное название	Торговая марка	Год регистрации	Основной метаболит
Амисульприд	Солиан	1991	нет
Азенапин	Сафрис	2009	N-десметилазенапин
Арипипразол	Абилифай	2002	дигидроарипипразол
Зипразидон	Зелдокс	2001	S-метилдигидрозипрозидон
Илоперидон	Фанапт	2009	P95 и P88
Кветиапин	Сероквель	1997	норкветиапин
Клозапин	Лепонекс	1989	норклозапин
Луразидон	Латуда	2010	нет
Оланзапин	Зипрекса	1996	4-N-десметилоланзапин
Рисперидон	Рисполепт	1993	9-оксирисперидон*
Сульпирид	Эглонил	1969	нет

Примечания. Жирным шрифтом выделены продукты метаболизма основного вещества, обладающие сравнимой с исходным продуктом фармакологической активностью. * Известен как палиперидон (инвега); применяется в качестве самостоятельного препарата с 2010 г.

Посредством *капиллярного электрофореза* определяли не связанный с белками крови клозапин в плазме человека и кролика. Образцы без тщательной пробоподготовки вводили в кварцевый капилляр; наиболее подходящий для разделения буфер содержит 1 ммоль/л ЭДТА, 0,5 моль/л глицина, 1,67 ммоль/л фосфата натрия с рН 7,4. Концентрации несвязанного клозапина, полученные указанным методом, согласуются с данными, полученными методом ультрафильтрации. Методика обладает хорошей точностью и правильностью [33].

Электро-аналитические методы (потенциометрия, вольтамперометрия, полярография) применяются в настоящий момент достаточно редко, хотя некоторые по селективности и точности не уступают хроматографическим [34]. Ограничения связаны с токсичностью некоторых из них (применение ртутных капельных электродов), трудоемкостью аналитических процедур, ограниченностью применения именно в биологических матрицах.

Спектрометрические методы исследования (фотометрия, УФ-спектрометрия) находят применение в фармакопейном анализе и соответственно освещаются должным образом в фармакопейных статьях. Например, для анализа стабильности зипразидона в капсулах применен спектрофлуориметрический метод анализа. В основе метода лежит измерение флуоресценции зипразидона в ацетатном буфере рН 4,5 при 398 нм после возбуждения при 315 нм. Калибровочная зависимость была линейна в диапазоне 0,05 – 0,80 мкг/мл. Предел количественного определения (LOQ) зипразидона составил 20,0 нг/мл [35].

Извлечение из матрикса

В табл. 4 указаны конкретные условия экстракции образцов, содержащих АН.

Жидко-жидкостная экстракция (ЖЭ). Данный способ пробоподготовки основан на экстракции искомого вещества из матрикса органическим растворителем. ЖЭ не сложна для исполнителя и дает возможность автоматизации процесса, но при нескольких этапах экстракции и выпаривания этот метод, по нашему мнению, вряд ли можно назвать экспрессным.

Таблица 2
Усредненные значения параметров фармакокинетики АН при однократном введении *per os* [1 – 3]

Препарат	Доза, мг	C_{max} , нг/мл	T_{max} , ч	$T_{1/2}$, ч
Амисульприд	200	525	3,5	10
Азенапин	5	4	1,5	24
Арипипразол	30	55	4	75
Зипразидон	20	46	4,1	4,7
Илоперидон	3	2	2 – 4	14
Кветиапин	25	250	1 – 1,5	7
Клозапин	200	385	2,4	9,1
Луразидон	20	25	2	90
Оланзапин	15	590	5,8	33
Рисперидон	2	12	1	4,12
Сульпирид	100	90	3 – 6	9,0

Твердофазная экстракция (ТФЭ) основана на разделении смеси веществ на твердом сорбенте с последующим элюированием интересующего компонента. Состав сорбента варьируется в зависимости от цели. Преимущество ТФЭ в малом расходе растворителей при концентрировании пробы, простота в использовании. Для предварительной преципитации белка возможно использование солей тяжелых металлов: в работе [17] использовали 0,1 М раствор сульфата цинка в воде, данный подход позволяет избежать забивания патронов эндогенными компонентами матрицы.

Относительно новым словом в создании готовых решений для пробоподготовки с целью извлечения из биологических матриц ЛС является изготовление па-

тронов и планшетов на основе методов жидкостной экстракции в нанесенном слое (англ. SLE — Solid supported liquid-liquid extraction). Данный метод основан на извлечении интересующего компонента сначала в слой жидкости, распределенной на твердом носителе (например, кизельгуре), с последующим элюированием системой несмешивающихся с нанесенным слоем растворителей. Из-за увеличенной площади соприкосновения между матрицей и растворителем перераспределение аналита происходит эффективно, а нанесение сорбирующей жидкости на твердый носитель препятствует образованию стойких эмульсий, что также положительно сказывается на экстракции.

Т а б л и ц а 3

Условия разделения и детекции АН

Препарат	Колонка	Мобильная фаза	Детектор	Лит. источник
Амисульприд	Hypersil C18	10 мМ ФБ и MeCN 85:15 (об. %)	УФД (237 нм)	[10]
	Phenomenex Synergi Polar-RP	5 мМ ФА, MeCN 30:70 (об. %)	МСД (370,1 → 241,9)	[11]
	Waters symmetry C18	10 мМ ФА с МК (рН = 3), MeCN 35:65 (об. %)	МСД (370 → 242)	[12]
Азенапин	Discovery C8	Градиент (H ₂ O → MeCN + 0,2 % МК)	МСД (272,1 → 229,1)	[13]
	Discovery C8 Supelco	Градиент 0,01 М ФАБ (рН = 4,2) → MeCN	МСД (286,1 → 229,0)	[14]
Арипипразол	Luna C18	Градиент 0,1 % МК → MeCN	МСД (448,1 → 285,1)	[15]
	C-8	0,025 М триметиламмонийный буфер, MeCN, 62:38 (об. %)	УФД (214 нм)	[16]
	Zorbax Eclipse XDB-C18	Градиент, 0,2 % МК в H ₂ O, 0,2 % МК в MeOH	МСД (448,2 → 285,2)	[17]
Зипразидон	Luna-C-18	АА (0,65 мМ), MeOH, MeCN, 10:45:45 (об. %)	МСД (413 → 194)	[18]
	Phenomenex Kinetex C18	50 мМ ФБ (рН = 2,5) в триэтиламин, MeCN, 30:70 (об. %)	ФД	[19]
Илоперидон	C18	ФАБ (рН = 2,5), MeCN и MeOH, 56:25:19 (об. %)	УФД (230 нм)	[20]
	Capcell Pak C18 MG	5 мМ ФА + МК (рН = 4,8), MeCN 75:25 (об. %)	МСД (427,2 → 261,2)	[21]
Кветиапин	Kromasil C18	0,25 М ФБ (рН = 4), MeCN и MeOH, 56:25:19 (об. %)	ДМД	[22]
	Chromolith-RP18	MeCN, EtOH, H ₂ O, 30:20:50 (об. %) + 20 мМ УК	МСД (272,1 → 229,1)	[23]
	Sunfire C18	10 мМ ФАБ (рН = 3), MeOH, 55:45 (об. %)	МСД (384,3 → 253,2)	[24]
Клозапин	Zorbax SB-C18	0,2 % МК в H ₂ O, 0,2 % МК в смеси MeOH/MeCN, 1:1 по объему, 80:20 (об. %)	МСД (327,2 → 270,0)	[25]
	Стационарная фаза C8	MeCN, MeOH, 10 мМ ФБ, 30:2:100 (об. %)	ДМД	[26]
Луразидон	Gemini C18	Градиент 0,1 % МК в H ₂ O → 0,1 % МК в MeCN	МСД (493,2 → 166,3)	[27]
Оланзапин	Inertsil ODS C18	10 мМ ААБ, MeCN, 10:90 (об. %)	МСД (313 → 256)	[28]
	Hypersil Gold C18	MeCN: 2 % МК в H ₂ O, 70:30, (об. %)	МСД (313,15 → 256,14)	[29]
Рисперидон	Zorbax Eclipse XDB-C18	Градиент, 0,2 % МК в H ₂ O, 0,2 % МК в MeOH	МСД (411,3 → 191,1)	[17]
	Chromsep C8	Градиент MeCN, ФБ (рН = 3) + триэтиламин 0,27 %	УФ (238 нм)	[30]
Сульпирид	Hypersil C18	20 мМ дигидроортофосфат аммония, ортофосфорная кислота (рН 3,9) — MeCN 86:14, (об. %)	ФД ($\lambda_{эм} = 360$ нм, $\lambda_{пог} = 300$ нм)	[31]
	Waters C18	MeCN, ФБ (рН = 4), 45:55(об. %)	ФД ($\lambda_{эм} = 360$ нм, $\lambda_{пог} = 300$ нм)	[32]

Примечания. Приняты следующие сокращения для растворителей: MeCN — ацетонитрил; MeOH — метанол; КБ — карбонатный буфер; ФБ — фосфатный буфер; ААБ — ацетатаммонийный буфер; ФА — формиат аммония, ФАБ — формиат-аммонийный буфер, АА — ацетат аммония, АЦБ — ацетат-аммонийный буфер, УК — уксусная кислота; МК — муравьиная кислота. В графе “детектор” в скобках указано: ультрафиолетовый (УФД) — длина волны поглощения, нм; флуоресцентный ФД — длина волны возбуждения и флуоресценции, нм; масс-спектрометрические (МСД) значения m/z MRM-реакции; диодноматричный детектор (ДМД).

Твердофазная экстракция на молекулярно-импринтированных сорбентах (англ. *Molecularly imprinted solid-phase extraction — MISPE*) [36]. Молекулярно-импринтированные полимеры являются синтетическими соединениями с высокой способностью молекулярного распознавания. Подготовка таких сорбентов обычно осуществляется полимеризацией мономера

вокруг шаблона с помощью сшивания в присутствии инициатора. Это — развивающееся направление концентрирования определяемого вещества из матрицы. Для клозапина был создан импринтированный сорбент на основе метакриловой кислоты и опробован для извлечения данного лекарственного вещества из сыворотки крови больного. Полимер был оценен в ка-

Т а б л и ц а 4

Экстракционные методы

Препарат	ЖЭ	ТФЭ	Преципитация	Лит. источник
Амисульприд	Дихлорметан. Дихлорметан с диизопропиловым эфиром 1:1 + 1 М K_2CO_3 . Диэтиловый эфир с дихлорметаном 70:30 (об. %) + 0,1 М NaOH	ТФЭ патроны Bond Elut LRC Certify, Certify II, ABS ElutNexus LRC, HF Bond Elut LRC C18 кондиционирование – MeOH, H_2O , промывка – H_2O , элюирование – смесью дихлорметан: изопропанол : гидроксид аммония (85:15:2 об. %). Oasis HLB, промывка – 30 % MeOH в H_2O , элюирование – MeOH	MeCN (300 мкл IS на 30 мкл плазмы), центрифугирование 13200 g	[10, 11, 12, 41, 42, 43]
Азенапин	1-хлорбутан + 20 % Na_2CO_3	Oasis HLB картридж для ТФЭ, промывка H_2O , элюирование MeCN – 0,01 М AA, pH 4,2 (70:30 об. %)	Преципитация MeCN (250 мкл плазмы + 50 мкл + 700 мкл MeCN), центрифугирование 16000 g	[6, 44, 45]
Арипипразол	1-хлорбутан после добавления 1 мл внутреннего стандарта в MeOH и Trizma buffer (2-амино-2-(гидроксиметил)-1,3-пропандиол)	Oasis HLB SPE картридж кондиционирование – MeOH, H_2O , промывка – H_2O , <i>n</i> -гексан, элюирование – MeOH, SOLA, с предварительной преципитацией 0,1 М $ZnSO_4$, промывка 5 % EtOH в воде, элюирование – MeOH	Раствор внутреннего стандарта в MeCN, центрифугирование 14000 g + разбавление 0,1 % МК. MeCN + трихлоруксусная и $HClO_4$	[46, 47, 17, 15, 40]
Зипразидон	20 % метилдихлорид в пентане, предварительное подщелачивание Na_2CO_3	Блок для твердофазной микроэкстракции, промывка H_2O , элюирование MeOH	MeCN + центрифугирование при 10000 g. MeCN + трихлоруксусная и $HClO_4$	[18, 32, 27, 40]
Илоперидон	Этилацетат	Waters Oasis HLB кондиционирование – MeOH, H_2O , промывка – 10 % MeOH в H_2O , элюирование – MeCN + 10 mM ФА с МК (pH = 3) (90:10 об. %)	Преципитация MeCN (250 мкл плазмы + 50 мкл + 700 мкл MeCN), центрифугирование 16000 g	[21, 9, 45]
Кветиапин	Метил-третбутиловый эфир + водный аммиак 0,4 mM	Hysphere HD C18 картриджи для ТФЭ. Элюирование MeOH	MeCN + трихлоруксусная и $HClO_4$	[24, 23, 40]
Клозапин	Диэтиловый эфир + NaOH	Bond-Elut C18 картриджи для ТФЭ	MeOH (1 мл на 0,1 мл плазмы) центрифугирование при 14000 g	[25, 26, 34]
Луразидон	Гексан, после предварительной преципитации раствором УК и $ZnSO_4$	SOLA, с предварительной преципитацией 0,1 М $ZnSO_4$, промывка 5 % EtOH в воде, элюирование – MeOH	MeCN + центрифугирование при 10000 g	[22, 27]
Оланзапин	Диэтиловый эфир + дихлорметан (7/3, об. %) + 0,1 М NaOH	Phenomenex Strata-X картридж для ТФЭ, с предварительным внесением в пробу 2 mM AA	MeCN + трихлоруксусная и $HClO_4$	[28, 29, 40]
Рisperидон	1-хлорбутан после добавления 1 мл IS в метаноле и Trizma buffer (2-амино-2-(гидроксиметил)-1,3-пропандиол)	SOLA картридж для ТФЭ с предварительной преципитацией 0,1 М $ZnSO_4$, промывка 5 % EtOH в воде, элюирование – MeOH	MeCN + трихлоруксусная и $HClO_4$. Преципитация MeCN (250 мкл плазмы + 50 мкл + 700 мкл MeCN), центрифугирование 16000 g	[46, 17, 40, 45]
Сульпирид	Диэтиловый эфир. 1-Хлорбутан после добавления 1 мл IS в метаноле и Trizma buffer (2-амино-2-(гидроксиметил)-1,3-пропандиол)	3M-Emproge картридж для ТФЭ. Элюирование – 2-пропанол : ФА : дихлорметан (20:2:78, об. %)	Смесь MeCN + MeOH (9 + 1 объемные части)	[31, 46, 48, 32]

Примечание. Сокращения для растворителей см. примечания в табл. 3.

честве селективного сорбента в MISPE клозапина из человеческой сыворотки. Для процедуры MISPE добились извлечения 88 – 102 % аналита из матрикса. Значения точности intra- и inter-дней были менее 1,36 и 2,5 %, соответственно, что говорит о возможности использования синтезированного импринтированного полимера для селективного извлечения и анализа клозапина в сыворотке крови человека [37].

Он-лайн твердофазная экстракция, автоматизированная пробоподготовка на экстракционных колонках (On-line solid-phase extraction, ASPEC — Automated Sample Preparation with Extraction Columns). Он-лайн твердофазная экстракция — способ пробоподготовки, являющийся, по сути, частью мультимодальной аналитической ЖХ-ЖХ системы [36]. Первая часть системы — твердофазная экстракция в классическом её понимании на препаративной колонке с автоматическим нанесением образца и элюированием интересующего компонента непосредственно уже на аналитическую колонку для дальнейшего анализа. ASPEC — это новый подход к подготовке образцов, который имеет сходство с он-лайн ТФЭ, но отличается устройством установки. В литературе описывается применение он-лайн ТФЭ-ЖХ-МС-МС метода для количественного определения азенапина и его метаболитов в моче, LOQ азенапина составил 0,5 нг/мл, для концентрирования и анализа была применена установка Symbiosis Pharma System с набором аналитических колонок и последующей МС-детекцией [14].

Микроэкстракция (твердофазная микроэкстракция – МТФЭ, жидкостно-жидкостная микроэкстракция, дисперсионная жидко-жидкостная микроэкстракция, мембранная микроэкстракция) [38].

МТФЭ обрела свою популярность в 90-х гг. прошлого века. Первоначально данный метод концентрирования был предложен для ГХ, позднее адаптирован и для ЖХ. Метод заключается в том, что образец адсорбируется из матрицы с помощью фибера (который, в данном случае, представлен нитями из пористого материала). На фибере происходит адсорбция аналита, при этом фибер выдерживался в пробе до установления термодинамического равновесия. Десорбция образца происходит термически при температурах ГХ, при этом игла шприца с убранным внутрь фибром может вводиться прямо в инжектор или под действием растворителей в условиях ЖХ. Существенными недостатками МТФЭ являются возможная неполная десорбция образца и высокая себестоимость анализа, так как волокна не регенерируются.

Жидкостно-жидкостная микроэкстракция (англ. DLLME) [38]. В основе жидкофазной микроэкстракции лежит использование малых количеств экстрагента. Можно концентрировать образец в капле, капля растворителя вводится во флакон с образцом, но удерживается на игле; флакон помещается на мешалку. Анализ концентрируют в капле, а затем вводят в хроматограф. Недостаток метода — во время данных манипуляций капля может срываться.

Жидкостно-жидкостная микроэкстракция с диспергированием экстрагента (англ. DLLME) [38]. Для увеличения поверхности массообмена предлагается предварительно растворять экстрагент в третьем растворителе, полностью смешивающемся с анализируемым раствором. Диспергирование приводит к увеличению поверхности массообмена в сотни раз, динамическое равновесие также устанавливается крайне быстро. После расслаивания эмульсии получаем сконцентрированный образец.

Мембранная микроэкстракция имеет несколько разновидностей в зависимости от техники концентрирования: двухфазная мембранная экстракция, трехфазная мембранная экстракция, экстракция во вращающуюся мембрану, парофазная мембранная экстракция, мембранная экстракция из капли в каплю. Двухфазная мембранная экстракция — более распространенный способ подготовки образцов. Техника метода заключается в помещении мембраны, представляющей собой полипропиленовый полый капилляр на конце иглы микрошприца. Этот капилляр опускают в рабочую пробу и выдавливают из микрошприца необходимый объем растворителя. После концентрирования экстракт затягивают в микрошприц и подвергают дальнейшему анализу.

Описанные выше методы микроэкстракции, являющиеся новыми при концентрировании образцов, для количественного определения АН применяются пока редко, но будущее, по всей видимости, за ними.

Безэкстракционные процедуры. Процедура осаждения белка в матрице — преципитация — также является актуальным и востребованным способом подготовки образцов для аналитического определения ЛС, прежде всего из-за своей простоты в использовании и нетрудоемкостью процедуры. В работе [39] для определения в сумме 48 антидепрессантов, типичных нейрореплетиков и АН в сыворотке крови методом жидкостной тандемной масс-спектрометрии использовали способ преципитации для подготовки проб, состав осаждающего реагента не указан, но для пробоподготовки потребовалось всего 100 мкл образца. Анализу подвергали надосадочную жидкость, предварительно её разбавляя. В случае количественного определения смеси 18 классических и атипичных нейрореплетиков методом ЖХ-МС-МС для пробоподготовки применили осаждение белка в плазме ацетонитрилом и раствором органической кислоты [40]. Для осаждения белка можно также использовать смесь ацетонитрила или метанола с кислотами (муравьиной и/или трифторуксусной), а также соли тяжелых металлов.

Валидация. Применяемые методики для количественного определения АН должны соответствовать требованиям качественной лабораторной практики. Для этого необходимо оценить такие показатели, как линейность, правильность, точность и LOQ аналитической процедуры метода. Особое внимание следует уделить оценке стабильности образцов в растворе и в матриксе. Информации по исследованию стабильности рассматриваемого класса препаратов в литературе

достаточно, за исключением некоторых недавно зарегистрированных средств. Тем не менее при наличии возможности и необходимости лабораторией может быть дополнительно проведено исследование по оценке стабильности препарата и прописаны условия хранения рабочих растворов в виде стандартных операционных процедур. Практически все маточные растворы АН устойчивы, при хранении до 6 мес при низких температурах (4 – 6 °С). Исключением является оланзапин, который нестабилен и значительно разлагается уже после 1 мес хранения при 4 – 6 °С [49].

При разработке и валидации методики количественного определения АН методом хромато-масс-спектрометрии необходимо также оценить матричный эффект — степень влияния матрицы на величину аналитического сигнала, который в идеале не должен превышать 15 %. В случае, когда он больше, данный факт следует учитывать и, возможно, при очень сильном влиянии поставить вопрос о смене типа ионизации. Величину матричного эффекта можно оценить, соотнеся площадь пика аналита, внесенного в матрицу после пробоподготовки (A), к площади аналита в чистом растворителе (B), вычислив по формуле:

$$M(\%) = [(A/B) - 1] \cdot 100 \%$$

На наш взгляд, интересным кажется подход по применению малоинвазивного метода проведения ТЛМ — на высушенных пятнах крови на целлюлозной бумаге [19] для определения зипразидона в крови больных шизофренией. Из сухого пятна вырезали фрагмент (5 мм в диаметре) и затем экстрагировали растворителем для последующего анализа методом ЖХ с нативной флуоресценцией.

Также появились сообщения, что компанией Шимадзу (Япония) созданы тест-бланки (картриджи) Noviplex card для получения сухих пятен плазмы (отделенной от эритроцитарной массы), которые можно использовать для клинической диагностики, ТЛМ и целей обнаружения лекарственных средств и других веществ. Эти подходы нам кажутся развивающимися и перспективными для решения аналитических задач определения концентрации лекарственных средств в крови с индивидуальным подходом для пациентов, в том числе детей.

ЛИТЕРАТУРА

- И. И. Мирошниченко, *Рациональное дозирование и мониторинг лекарственных средств. Практическое руководство*, Медицинское Информационное Агентство (МИА), Москва (2011).
- M. E. Burton, *Applied pharmacokinetics and pharmacodynamics: principles of therapeutic drug monitoring*, Lippincott Williams & Wilkins, New York (2006).
- Интернет-ресурс <http://www.drugbank.ca/drugs/>
- L. Kovatsi, K. Redifis, K. Mihailidou, et al., *Bioanalysis*, **4**(24), 2929 – 2938 (2012).
- M. L. Lu, C. H. Lin, Y. C. Chen, et al., *PLoS One.*, **8**(5), 1 – 7 (2013).
- C. Miller, O. Pleitez, Anderson D., et al., *J. Anal. Toxicol.*, **37**(8), 559 – 564 (2013).
- Z. A. El-Sherif, B. El-Zeany, O. M. El-Houssini, et al., *Biomed. Chromatogr.*, **18**(3), 143 – 149 (2004).
- M. Z. Bocato, R. A. Simões, L. A. Calixto, et al., *Anal. Chim. Acta*, **742**, 80 – 89 (2012).
- J. M. Parekh, M. Sanyal, M. Yadav, et al., *Bioanalysis*, **5**(6), 669 – 686 (2013).
- A. Das, U. Bhaumik, U. S. Chakrabarty, et al., *Arzneimittelforschung*, **59**(4), 166 – 170 (2009).
- M. H. Gschwend, P. Arnold, J. Ring, et al., *J. Chromatogr. B*, **831**, 132 – 139 (2006).
- R. Nirogi, G. Bhyrapuneni, V. Kandikere, et al., *Biomed. Chromatogr.*, **22**, 1424 – 1433 (2008).
- G. Mireille, F. Gerrits, R. D Greef, et al., *J. Clin. Pharmacol.*, **52**, 757 – 765 (2012).
- T. Boera, E. Meulmana, H. Meijeringa, et al., *Biomed. Chromatogr.*, **26**(12), 1461 – 1463 (2012).
- M. Caloroa, L. Lionetto, I. Cuomoa, et al., *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **62**, 135 – 139 (2012).
- A. Synowicz, E. Gomółka, T. Zyss, et al., *Przegl. Lek.*, **69**(10), 1004 – 1006 (2012).
- Н. В. Баймеева, Е. В. Бондаренко, С. С. Потанин и др., *Разработка и регистрация лек. средств*, **3**, 168 – 174 (2014).
- M. Aravagiri, R. M. Stephen, B. Pollock, *J. Chromatogr. B*, **847**, 237 – 244 (2007).
- L. Mercolini, R. Mandrioli, M. Protti, et al., *Bioanalysis*, **6**(11), 1487 – 1495 (2014).
- Y. J. Chae, T. S. Koo, K. R. Lee, *Chromatographia*, **75** (19 – 20), 1117 – 1128 (2012).
- M. Jia, J. Li, X. Hea, et al., *J. Chromatogr. B*, **928**, 52 – 57 (2013).
- K. R. Lee, Y. J. Chae, T. S. Koo, *Xenobiotica*, **41**(12), 1100 – 1107 (2011).
- E. A. Junior, L. F. Duarte, E. M. Suenaga, et al., *J. Bioequiv. Availab.*, **3**, 178 – 181 (2011).
- X. Xiong, L. Yang, J. Duan, *Clin. Chim. Acta*, **423**, 69 – 74 (2013).
- Л. М. Красных, А. И. Платова, Н. В. Баймеева, *Ведомости Научного центра экспертизы средств мед. применения*, **1**, 27 – 32 (2014).
- K. K. Akerman, *J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl.*, **696**(2), 253 – 259 (1997).
- T. S. Koo, S. J. Kim, J. Lee, et al., *Biomed. Chromatogr.*, **25**(12), 1389 – 1394 (2011).
- R. Nirogi, N. Vishwottam, M. S. Kandikere, et al., *J. Pharm. Biomed.*, **41**, 935 – 942 (2006).
- S. Gopinatha, R. S. Kumarb, A. Sekar, et al., *Biomed. Chromatogr.*, **26**(9), 1077 – 1082 (2012).
- R. Mandrioli, L. Mercolini, D. Lateana, et al., *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.*, **879**(2), 167 – 173 (2011).
- S. A. Helmy, *Biopharm. Drug Dispos.*, **34**, 288 – 301 (2013).
- J. Janiszewski, M. S. Mohie, M. Nahed, et al., *Chem. Central J.*, **6**, 13 – 26 (2012).
- D. Zhou, F. Li, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **35**(4), 879 – 885 (2004).
- E. Hammam, A. Tawfik, M. M. Ghoneim, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **36**(1), 149 – 156 (2004).
- M. Walash, F. Belal, N. Enany, *J. Fluoresc.*, **21**(4), 1659 – 1667 (2011).
- N. M. Cassiano, J. C. Barreiro, B. Quezia, *J. Braz. Chem. Soc.*, **25**(1), 9 – 19 (2014).
- S. A. Mohajeri, G. Karimi, M. R. Khansari, *Anal. Chim. Acta*, **683**(1), 143 – 148 (2010).
- R. J. Flanagan, P. E. Morgan, E. P. Spencer, et al., *Biomed. Chromatogr.*, **20**, 530 – 538 (2006).
- H. Kirchherr, W. N. Kuhn-Velten, *J. Chromatogr. B*, **843**, 100 – 113 (2006).
- G. Vecchionea, B. Casetta, A. Chiapparino, et al., *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **67** – **68**, 104 – 113 (2012).
- I. Papoutsis, A. Rizopoulou, P. Nikolaou P., et al., *J. Chromatogr. B.*, **111**(6), 947 – 948 (2014).

42. I. V. Kudris, N. N. Skakun, I. N. Orlova, et al., *Chromatographia*, **73**, 67 – 74 (2011).
43. K. Noh, Y. J. Jang, K. Kwon, et al., *Arch. Pharm. Res.*, **38**(1), 63 – 67 (2015).
44. V. Wetering-Krebbbers, P. L. Jacobs, G. J. Kemperman, et al., *Drug Metab. Disp.*, **39**(4), 580 – 590 (2011).
45. N. Ansermot, M. Brawand-Ameyra, A. Kottelat, et al., *J. Chromatogr. A*, **1292**, 160 – 172 (2013).
46. E. Saar, D. Gerostamoulos, O. H. Drummer, et al., *J. Mass Spectrometry*, **45**(8), 915 – 925 (2010).
47. S. Ravinder, A. T. Bapuji, K. Mukkanti, et al., *J. Chromatogr. Sci.*, **50**, 893 – 901 (2012).
48. C. Frahnert, M. R. Rao, K. Grasmader, *J. Chromatogr. B*, **794**(1), 35 – 47 (2003).
49. R. Karinen, E. L. Øiestad, W. Andresen, et al., *J. Anal. Toxicol.*, **35**(8), 583 – 590 (2011).

Поступила 12.02.15

ANALYTICAL METHODS FOR THE DETERMINATION OF ATYPICAL NEUROLEPTICS

N. V. Baimeeva and I. I. Miroshnichenko

Mental Health Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, 115522 Russia;

* e-mail: baymeeva n@mail.ru

General analytical trends and approaches to quantitative determination of atypical neuroleptics (antipsychotics) in biological media are presented. Various analytical methods and sample preparation procedures for quantitative chemical analysis of these compounds are described.

Keywords: atypical antipsychotics; determination methods; chromatography; mass spectrometry; extraction.