

РАЗРАБОТКА ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ МЕТОДИКИ ИДЕНТИФИКАЦИИ САКСАГЛИПТИНА ДЛЯ СУДЕБНО- ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Кучер Т. В., Мерзликин С. И. *

*ГВУУ «Тернопольский государственный медицинский университет имени И.
Я. Горбачевского МЗ Украины»,
кафедра фармацевтической химии, г. Тернополь, Украина
* Национальный фармацевтический университет,
кафедра лекарственной и аналитической токсикологии,
г. Харьков, Украина*

Ключевые слова: ингибиторы ДПП 4-го типа, саксаглиптин, отравления, ТСХ.

Резюме: В статье освещены результаты по разработке методики идентификации саксаглиптина с применением метода ТСХ. Предложены системы растворителей: метанол и метанол- 25 % раствор аммиака (100:1,5) в качестве наиболее приемлемых для идентификации саксаглиптина в тонком слое сорбента. Полученные результаты могут быть использованы для обнаружения саксаглиптина в биологических объектах при проведении судебно-токсикологических исследований.

Resume: The article highlights the results of the development of conditions for saxagliptin identification by TLC. Methanol and methanol-25% of ammonia (100: 1.5) has been proposed as the most acceptable mobile systems for the identification of saxagliptin by TLC. Obtained results can be applied for saxagliptine detection in biological objects for forensic-toxicological studies.

Актуальность. В современном обществе число людей, страдающих сахарных диабетом (СД) 2 типа, неуклонно возрастает. В связи с этим проблема повышения эффективности лечения данного заболевания, в том числе за счет разработки новых низкотоксичных средств становится все более актуальной [3]. Именно к таким относится новый класс пероральных антидиабетических препаратов – ингибиторы дипептидилпептидазы 4-го типа (ДПП-4). Данные лекарственные средства не являются препаратами первой линии для пациентов с СД 2 типа, но они приобрели определенный авторитет в качестве препаратов второго уровня для подавляющего числа пациентов с недостаточным контролем уровня глюкозы или при ограничениях препаратов первой линии из-за побочных эффектов. К этой группе препаратов относятся: алоглиптин (несина), линаглиптин (тражента), саксаглиптин (онглиза) и ситаглиптин (янувия) [2, 4]. Саксаглиптин – современный мощный и эффективный ингибитор ДПП-4, используемый в качестве монотерапии или в двойной, или тройной комбинации с другими пероральными сахароснижающими препаратами в терапии СД 2 типа [1, 6].

Однако уже сегодня известно, что ингибиторы ДПП-4 имеют ряд принципиальных недостатков, которые заставляют относиться к ним с осторожностью. Согласно данным сайтов FDA и patientsville.com в период 2010-2017 гг. во многих мировых странах зарегистрирован ряд случаев отравлений ингибиторами ДПП-4, в том числе и саксаглиптином [5]. Среди основных причин острых отравлений отмечают побочные действия саксаглиптина при лечении в

терапевтических дозах. Летальные отравления прежде всего обусловлены случайной или суицидальной передозировкой в комбинации с другими пероральными сахароснижающими препаратами.

В связи с изложенным, является актуальной разработка методик аналитической диагностики летальных отравлений саксаглиптином, основанных на применении современных хроматографических методов.

Целью работы была разработка методики идентификации саксаглиптина в тонком слое сорбента, приемлемой для судебно-токсикологических исследований.

Задачи: 1. Изучить особенности хроматографического поведения саксаглиптина в тонких слоях сорбента в условиях общих систем растворителей, применяемых в химико-токсикологическом анализе при отравлении неизвестным веществом. 2. Предложить наиболее приемлемые хроматографические условия для идентификации саксаглиптина в тонком слое сорбента при проведении судебно-токсикологических исследований.

Материалы и методы. Исследование проводили на хроматографических пластинках Merck silica gel 60 F₂₅₄ (Германия), которые для этих целей рекомендованы Международной ассоциацией судебных токсикологов ТИАФТ, и пластинках Sorbfil ПТСХ-II-B (РФ), которые обычно применяют в подобных случаях в странах СНГ, размером 10x10 см. Перед элюированием образцов хроматографические пластинки предварительно отмывали метанолом и активировали в сушильном шкафу при температуре 110-120 °С в течение 0,5 часа.

В качестве подвижных фаз использовали системы растворителей: 1) метанол-25 % раствор аммиака (100:1,5); 2) хлороформ-метанол (90:10); 3) ацетон; 4) метанол; 5) метанол-н-бутанол (60 : 40); 6) хлороформ-этанол (90:10); 7) хлороформ-циклогексан-уксусная кислота (40:40:20); 8) этилацетат-метанол-25% раствор аммиака (85: 10: 5); 9) хлороформ-ацетон (80: 20); 10) этилацетат. Данные системы растворителей являются общими, которые рекомендованы ТИАФТ для ТСХ-скрининга лекарственных веществ кислотного, нейтрального и основного характера при отравлении неизвестным веществом [7,8].

Для подтверждения пригодности используемых хроматографических систем исследования проводили в присутствии кофеина.

Для визуализации зон адсорбции саксаглиптина использовали реактив Драгендорфа в модификации Мунье, а для идентификации кофеина – последовательную обработку тонкого слоя реактивом Драгендорфа и серной кислотой.

Стандартную хроматографическую камеру предварительно насыщали парами соответствующих элюентов в течение 1 часа. На линию старта предварительно активированной хроматографической пластинки стеклянным капилляром наносили по 5 мкл (5 мкг) исследуемых растворов саксаглиптина и кофеина. Пластинку помещали в камеру с соответствующей смесью растворителей и элюировали. Когда фронт растворителей проходил 10 см от линии старта, пластинку вынимали из камеры, высушивали на воздухе, просматривают в УФ-свете при длине волны 254 нм и обрабатывали соответствующими реагентами.

Результаты и их обсуждение.

В результате проведенных исследований установлено, что саксаглиптин проявляет удовлетворительную хроматографическую подвижность в системах растворителей 1-6, 8, 9, 11-13 (таблица). Вместе с тем, при хроматографировании токсиканта в системах 2, 3, 5-10 его адсорбция в тонком слое происходит во второй, четвертой и пятой хроматографических зонах, где в соответствии с данными источника [8] локализуются токсикологически значимые лекарственные средства: производные барбитуровой и салициловой кислот, 1,4-бензодиазепина и пиразолона-5.

Таблица 1. Параметры хроматографической подвижности исследуемых веществ

Система растворителей № *	Значения Rf исследуемых веществ			
	Саксаглиптин		Кофеин	
	Sorbfil	Merck	Sorbfil	Merck
1.	0,48	0,47	0,57	0,60
2.	0,17	0,13	0,54	0,57
3.	0,20	0,13	0,3	0,36
4.	0,44	0,40	0,59	0,56
5.	0,35	0,37	0,47	0,49
6.	0,05	0,06	0,54	0,56
7.	0	0	0,26	0,22
8.	0,30	0,32	0,52	0,57
9.	0,02	0	0,23	0,20
10.	0	0	0,13	0,15
11.	0,85	0,83	0,76	0,78
12.	0,25	0,24	0,50	0,52
13.	0,53	0,50	0,80	0,84

Примечание: * - нумерация систем согласно перечню, приведенного в «материалах и методах».

В связи с вышеизложенным наиболее приемлемыми для ТСХ-скрининга на саксаглиптин при судебно-токсикологических исследованиях являются системы 1 и 4. Адсорбция исследуемых образцов саксаглиптина в данных условиях происходит в свободной от перечисленных выше токсикантов хроматографической зоне (между четвертой и пятой) со значения Rf для Merck 0,40-0,47 и Sorbfil 0,44-0,48 соответственно.

Следует отметить, что пластинки Sorbfil также определены пригодными для элюирования саксаглиптина при проведении ТСХ-исследований.

Выводы:

1. Изучены особенности хроматографического поведения саксаглиптина в тонком слое сорбента.

2. Установлено, что саксаглиптин проявляет удовлетворительную хроматографическую подвижность в системах растворителей 1-6, 8, 9, 11-13. Предложены системы растворителей: метанол и метанол- 25 % р-р аммиака (100:1,5) в качестве наиболее приемлемых для идентификации саксаглиптина в тонком слое.

3. Предложенные ТСХ-условия могут быть использованы для судебно-токсикологического исследования биологических объектов и вещественных доказательств при летальном отравлении саксаглиптином.

Литература

1. Aschner, P.J. The role for saxagliptin within the management of type 2 diabetes mellitus: an update from the 2010 European Association for the Study of Diabetes (EASD) 46th annual meeting and the American Diabetes Association (ADA) 70th scientific session [Text] / P.J. Aschner // *Diabetol. Metab. Syndr.* – 2010. – Vol. 2. – P. 69.
2. Barnett, A.H. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in triple oral therapy regimens in patients with type 2 diabetes mellitus [Text] / A.H. Barnett, B. Charbonnel, R.G. Moses, S. Kalra // *Curr. Med. Res. Opin.* – 2015. – Vol. 31, N 10. – P. 1919-1931.
3. Chen, X. W. Clinical pharmacology of dipeptidyl peptidase 4 inhibitors indicated for the treatment of type 2 diabetes mellitus [Text] / X. W. Chen, Z. X. He, Z. W. Zhou // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* – 2015. – Vol. 42, N 10. – P. 999-1024.
4. Craddy, P. Comparative Effectiveness of Dipeptidylpeptidase-4 Inhibitors in Type 2 Diabetes: A Systematic Review and Mixed Treatment Comparison. [Text] / P. Craddy, H.-J. Palin, K. I. Johnson // *Diabetes Ther.* – 2014. – Vol. 5(1). – P. 1-41.
5. Side_effects – [Electronic resource]. – 2017. – Access: http://patientsville.com/medication/saxagliptin_side_effects.htm
6. Sheen, A. J. Efficacy and safety of saxagliptin in combination with metformin compared with sitagliptin in combination with metformin in adult patients with type 2 diabetes mellitus [Text] / A. J. Sheen, C.J. Charpentier, A.H. Ostgren, I. Gause-Nilsson // *Diab. Metab. Res. Rev.* — 2010. — 26 (7). – 540-549.
7. Карташов, В.А. Химико-токсикологический анализ. Выделение токсических веществ из биологических объектов. – Майкоп: ООО «Качество», 2008. – 188 с.
8. ТСХ-скрининг токсикологически значимых соединений, изолируемых экстракцией и сорбцией / Г. В. Раменская, Г.М. Родионова, Н.И. Кузнецова [и др.]; под ред. А. П. Арзамасцева. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 240 с.