

## ИЗУЧЕНИЕ ДИНАМИКИ СОДЕРЖАНИЯ ГЛИКЛАЗИДА В БИОЛОГИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ ПРИ ХРАНЕНИИ

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:** гликлазид, биологический материал, хранение.

**Резюме:** В статье освещены результаты по изучению динамики содержания гликлазида в образцах свиной печени, подвергшихся гнилостным изменениям. Установлено, что методом ВЭЖХ в исследуемых объектах гликлазид обнаруживается в течение 11 дней при их хранении в нормальных условиях. Полученные результаты могут быть использованы для обнаружения гликлазида в биологических объектах при проведении судебно-токсикологического исследования.

**Resume:** Stability of gliclazide in the pig liver samples and exposed putrefactive changes have been established in this paper. It was determined that gliclazide in the analyzed object using the HPLC method has been detected during 11 days of storage at normal conditions. Obtained results can be applied for gliclazide detection in biological objects for forensic-toxicological studies.

**Актуальность.** В настоящее время отравление химического происхождения является глобальной проблемой здравоохранения в мире. В европейских странах в среднем 1 человек на 1000 жителей госпитализируется по поводу отравления химическим веществом, в том числе лекарственным. Токсикологическая ситуация в Украине соответствует общему мировому и европейскому трендам распространенности и летальности вследствие острых интоксикаций, которые часто связаны с использованием лекарственных веществ при самолечении и с суицидальной целью.

Гликлазид – один из распространенных антидиабетических средств для лечения сахарного диабета 2 типа [2, 6]. Известны случаи летальных отравлений гликлазидом, преимущественно при суицидальной передозировке, которые в соответствии с действующим законодательством должны быть подвергнуты судебно-токсикологическим исследованиям [1, 3].

Известно, что при хранении биологического материала органические вещества, содержащиеся в нем, подвергаются химическим превращениям и, лишь незначительная их часть остается без изменений в течение длительного времени [5]. В источниках литературы приведены данные о хранении исследуемого токсиканта в биологическом материале в условиях бюро судебно-медицинской экспертизы [4]. Вместе с тем, отсутствуют результаты по изучению динамики содержания гликлазида в объектах биологической природы, подвергшихся гнилостным изменениям.

**Целью** работы было изучение динамики содержания гликлазида в объектах биологической природы при гниении.

**Задачи:** Изучить особенности динамики содержания гликлазида в объектах биологической природы, подвергшихся гнилостным изменениям.

**Материалы и методы.** К 700,0 г измельченной свиной печени добавляли метанол-метиленхлоридный (1: 1) раствор гликлазида, из расчета 20 мг вещества на 50 г биологического материала, перемешивали и оставляли при комнатной температуре в течение двух недель. Начиная со вторых суток эксперимента, ежедневно отбирали 50 г печени и проводили изолирование токсиканта подкисленным ацетонитрилом с последующим экстрагированием хлороформом.

Полученный хлороформный экстракт исследовали методами ТСХ и ВЭЖХ.

Исследование методом ТСХ проводили на хроматографических пластинках Merck silica gel 60 F<sub>254</sub> (Германия) размером 10 · 10 см с использованием систем растворителей: этилацетат и метиленхлорид-этилацетат-кислота уксусная ледяная (50: 50: 1). Для визуализации зон адсорбции использовали наиболее чувствительные реагенты: железойодидный комплекс и «хлорцинкйод», а в качестве подтверждающих реагентов - специфические: 1% раствор ванилина и 5% раствор хлоралгидрата.

Исследование методом ВЭЖХ проводили с использованием жидкостного хроматографа «Милихром-А-02» с УФ-детектированием (ЗАО «Еконова», Новосибирск). Для разделения веществ использовали обратно-фазовую колонку Prontosil-120-5-C18-AQ размером Ø2 × 75 мм, зернение 5 мкм ( «Bischoff Analysetechnik und Geräte GmbH», Германия). Градиентное элюирование выполняли путем смешивания двух элюент: элюент А - [0,2М LiClO<sub>4</sub> - 0,005М HClO<sub>4</sub>] и элюент Б - ацетонитрил квалификации «для ВЭЖХ». Скорость подвижной фазы - 100 мкл / мин. Температура термостата колонки - 35 °С. Спектрофотометрическое детектирование проводили одновременно при 8 длинах волн: 210, 220, 230, 240, 250, 260, 280 и 300 нм. Анализ и обработку хроматограмм осуществляли с помощью программы «Аналитика-Chrom».

**Результаты и их обсуждение.** В соответствии с методологией химико-токсикологического анализа, полученный в результате изолирования хлороформный экстракт гликлазида, сначала исследовали методом ТСХ.

Установлено, что при обработке хроматографических зон чувствительными и специфическими реагентами на пластинке визуализировались индивидуальные пятна гликлазида. При этом, «хлорцинкйод» и железойодидный комплекс с исследуемым веществом давали коричневую, с 1% раствором ванилина - темно-синюю и 5% раствором хлоралгидрата - темно-коричневую окраску со значениями R<sub>f</sub> - 0,48 для системы растворителей этилацетат и 0,66 - для системы растворителей метиленхлорид-этилацетат-кислота уксусная ледяная соответственно.

С целью получения более чистых извлечений, с необработанной проявителем хроматографической зоны, в области соответствующего гликлазиду значение R<sub>f</sub> с пластинки скальпелем снимали слой сорбента, с которого токсикант элюировали метанолом.

Идентификацию и определение количественного содержания гликлазида в метанольных элюатах проводили методом ВЭЖХ. Установлено, что пики вещества на соответствующих хроматограммах метанольного раствора стандартного образца

гликлазида и элюатов были относительными по времени удерживания ( $t_R = 7,80$  мин).

Количественное определение гликлазида проводили при длине волны 230 нм по зависимости площади пика метанольного раствора стандартного образца гликлазида от концентрации. В результате проведенных исследований установлено, что в анализируемой пробе печени, взятой на 2 день эксперимента, содержание гликлазида составило - 450 мкг (рис. 1).

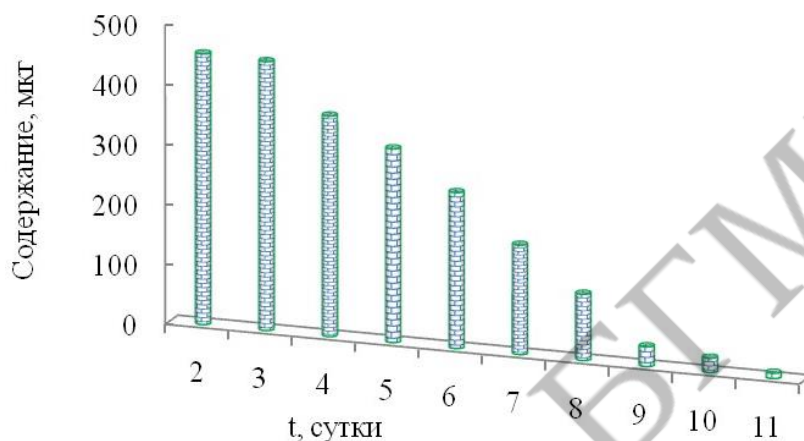


Рис. 1 - Динамика содержания гликлазида в образцах печени при гниении

На 4 день исследования содержание токсиканта снизилось до 369 мкг. Тенденция к снижению концентрации наблюдалась и в течение следующих дней: 183, 33 и 9 мкг на 7, 9 и 11 дни соответственно. На 12 день эксперимента в исследуемой пробе биологического объекта гликлазид не обнаружен.

**Выводы:** 1. Изучена динамика содержания гликлазида в образцах печени, подвергшихся гнилостным изменениям.

2. Установлено, что методом ВЭЖХ в исследуемых объектах гликлазид идентифицируется в течение 11 дней при хранении в нормальных условиях. Полученные результаты могут быть использованы для обнаружения гликлазида в биологических объектах при проведении судебно-токсикологических исследований.

#### Литература

1. Kucher T. V. The information analysis of gliclazide poisoning / T. V. Kucher, S. I. Merzlikin // Actual questions of development of new drugs. Abstracts of XXI international scientific and practical conference of young scientists and students. – X.: НФаУ, 2015. – С. 133.
2. Pharmacological and pharmaceutical profile of Gliclazide: A Review / A. Sarkar, T. Tiwari, P. Bhasin, M. Mitra // J. Applied Pharmaceutical Science. – 2011. – Vol. 01 (09). – P. 11–19.
3. Suicide by combined insulin and gliclazide overdose in a non-insulin dependent diabetes mellitus physician: a case report / N. G. Rao, R. G. Menezes, K. R. Nagesh, G. S. Kamath // Med. Sci. Law. – 2006. – Vol. 46, № 3. – P. 263–269.
4. Ибрагимова М. М. К вопросу химико-токсикологического анализа гликлазида и метформина при их совместном применении // Астана медициналық журналы. – 2014. – № 2. – С. 152-158.
5. Карташов В. А. Химико-токсикологический анализ. Выделение токсических веществ из биологических объектов. – Майкоп: ООО «Качество», 2008. – 188 с.
6. Пекарева Е. В. Положительные эффекты гликлазида МВ в терапии сахарного диабета 2 типа // Эндокринология. – 2012. – № 5. – С. 48–52.