

и гистиогенного происхождения (фибробластов и макрофагов), что соответствует нормальному строению пульпы;

д) мы отмечали увеличение слоев одонобластов обычного строения в данной группе и появление сосудов капиллярного типа вблизи нижнего слоя одонобластов.

4. Выраженное позитивное действие клеточной терапии у животных с пародонтозом на клинические и морфологические проявления заболевания зубов и околозубного пространства связано с длительными сроками сохранения жизнеспособности и функциональной активности донорских клеток костного мозга в организме реципиента после трансплантации.

Genetic model of periodontosis and correction of the main symptoms of a disease by stem and progenitor cells of a marrow

O.I. Stepanova, O.V. Baranova, H.H. Semenov, N.V. Kasinskaya,
L.Kh. Kazakova, V.N. Karkishchenko

The positive therapeutic effect of the cultivated cells of a marrow on correction of pathogenetic violations of periodontosis at genetic mice of the BRSUNT line is studied.

Key words: periodontosis, mice of BRSUNT, stem and progenitor cells of a marrow.

д) мы отмечали увеличение слоев одонобластов обычного строения в данной группе и появление сосудов капиллярного типа вблизи нижнего слоя одонобластов.

4. Выраженное позитивное действие клеточной терапии у животных с пародонтозом на клинические и морфологические проявления заболевания зубов и околозубного пространства связано с длительными сроками сохранения жизнеспособности и функциональной активности донорских клеток костного мозга в организме реципиента после трансплантации.

Идентификация нейрорептиков – производных бензамида в крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Р.А. Калёкин

ФГБУ Российский центр судебно-медицинской экспертизы Минздравсоцразвития РФ,
Москва

Контактная информация: к.ф.н. Калёкин Роман Анатольевич kalyokin@yandex.ru

В настоящей публикации предложен метод идентификации нейрорептиков – производных бензамида (амисульпида, сульпирида и тиаприда) в извлечениях из крови. Предложенная методика позволяет с высокой воспроизводимостью и достоверностью проводить идентификацию исследуемых веществ с соэкстрактивными веществами.

Ключевые слова: нейрорептики, амисульпид, сульпирид, тиаприд, кровь, ВЭЖХ.

Введение

В настоящее время в медицинской практике широко используются психотропные лекарственные средства – нейрорептики, к которым также относится группа замещенных бензамида. К представителям данной группы относятся: амисульпид, сульпирид, тиаприд, которые применяются для лечения различных форм шизофрении; при психомоторном возбуждении и агрессивных состояниях, особенно при хроническом алкоголизме или в пожилом возрасте; депрессиях различной этиологии; острых маниакальных и маниакально-бредовых состояниях. Достаточно часто встречаются случаи острого и хронического отравления, передозировки этими лекарственными препаратами, а также их немедикаментозное и бесконтрольное применение [1, 2].

Целью нашего исследования явилась разработка методики идентификации в извлечениях из крови наиболее современным и достоверным методом – вы-

сокоэффективной жидкостной хроматографии, поскольку в доступной научной литературе отсутствует информация по исследованию крови и идентификации в извлечениях нейрорептиков – производных бензамида и их дифференциальное разделение от сопутствующих веществ. Принципиальным преимуществом пробы крови является возможность более надежно обеспечить ее сохранность, поскольку эта процедура проводится, как правило, опытным врачом [3]. Кроме того, концентрации тех или иных лекарственных веществ в крови легче поддаются интерпретации, чем в моче.

Материалы и методы

Использованный вариант модельной смеси для проведения исследования позволяет максимально приблизить условия эксперимента к реальным и получить биологическую жидкость со связанным лекарственным веществом с форменными элементами крови. Изолирование

нейролептиков – производных бензамида сводилось к следующему: в пробу объёмом 5 мл вводили водный раствор производного бензамида (не более 1 мл) и оставляли для связывания исследуемого вещества с белками крови на сутки при температуре не более 10°C. Далее к модельной смеси крови прибавляли 8 мл 40% раствора натрия бисульфита и 24 мл 15% раствора кислоты хлористоводородной. Солянокислый гидролиз проводили на кипящей водяной бане в течение 30 мин с воздушным холодильником. Раствор после гидролиза оставляли для охлаждения до комнатной температуры, затем прибавляли 8 мл 50% раствора кислоты трихлоруксусной до 7% концентрации для осаждения белковых веществ. Центрифугирование проводили в течение 5 мин при 5000 об./мин, так как фильтрование может привести к ненужным потерям исследуемого вещества. Экстрагирование амисульприда, сульпирида и тиаприда из полученной водной фазы проводили при значении pH среды 12 путём доведения аммиаком водным и добавляли в качестве электролита аммония сульфат до насыщения. Значение pH среды контролировали с помощью универсальной индикаторной бумаги. Экстрагирование проводили трёхкратно, по 20 мл хлороформа в течение 5 мин. Полученные хлороформные извлечения объединяли в фарфоровой чашке и выпаривали в токе теплого воздуха. Полученный сухой остаток растворяли в воде и переносили в мерную колбу на 10 мл либо 25 мл, и доводили объём водой до метки. При проведении предложенной методики изолирования не происходит разрушения исследуемых лекарственных веществ. **Нейролептики – производные бензамида проявляют стойкость структуры молекулы, и предложенные усло-**

вия изолирования не разрушают амисульприд, сульпирид и тиаприд.

Предложенная методика идентификации нейролептиков – производных бензамида проводилась на микроколоночном жидкостном хроматографе «Милихром А-02» с УФ-детектором производства ЗАО «ЭкоНова» (Россия). Полностью автоматическое устройство позволяло в соответствии с заданной программой обеспечивать выполнение всех циклов: промывки колонки, набор и ввод пробы. Исследование осуществляли на хроматографической колонке размером 2x75 мм, заполненной обращенно-фазовым сорбентом «Силасорб С18». В качестве элюента применяли 0,1% раствор трифторуксусной кислоты (А), ацетонитрил (Б) в градиентном режиме от 10% элюента Б до 80% за 30 мин. Скорость подачи подвижной фазы составляла 100 мкл/мин. Время измерения – 0,18 сек, а температура термостата колонки была равна 35°C. Исследованию подвергали вышеописанные лекарственные вещества (амисульприд, сульпирид и тиаприд) в водном растворе. **Идентификация проводится по нативному соединению, поскольку исследуемые лекарственные средства в организме незначительно подвергаются метаболизму основным продуктом присутствия в крови и выводятся в виде определяемых веществ.**

Результаты и их обсуждение

Прецизионность (воспроизводимость) характеризует случайное рассеяние результатов относительно среднего значения. Для этого проводилась оценка метрологических характеристик. Результаты хроматографирования представлены в табл.

Особой проблемой при идентификации из биологических жидкостей явля-

Результаты хроматографирования амисульприда, сульпирида, тиаприда методом ВЭЖХ

Исследуемый лекарственный препарат	Время удерживания, мин (n=6)
Амисульприд	10,40±0,28
Сульпирид	7,59±0,21
Тиаприд	8,40±0,26

ется ложная положительная реакция, которую могут дать соэкстрактивные вещества. Особой ценностью разработанной методики идентификации ВЭЖХ является четкое разделение соэкстрак-

тивных веществ с исследуемыми веществами, причем выход соэкстрактивных веществ происходит вначале (рис.), а затем определяются нейролептики – производные бензамида.

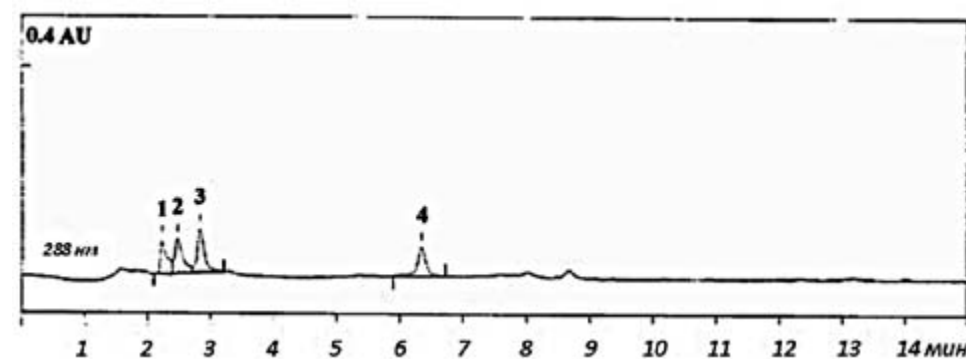


Рис. Хроматограмма извлечения из крови при ВЭЖХ анализе (1-4 – неидентифицированные пики соэкстрактивных веществ).

Выводы

По результатам проведенных исследований предложена методика идентификации нейролептиков – производных

бензамида (амисульприда, сульпирида и тиаприда) в извлечениях из крови, с высокой воспроизводимостью и достоверностью полученных данных.

Список литературы

1. **Калёкин Р.А.** Изучение особенностей использования в практической медицине нейролептиков производных бензамида для целей судебной медицины / Р.А. Калёкин // Экспертъ. 2012. № 2. С. 49-51.
2. **Калёкин Р.А.** Токсикологическая характеристика нейролептиков – замещенных бензамидов / Р.А. Калёкин, Е.М. Саломатин, В.А. Калёкина // Судеб.-мед. экспертиза. 2007. № 6. С. 31-34.
3. **Суворов А.В.** Справочник по клинической токсикологии / А.В. Суворов – Нижний Новгород: Изд-во НГМА. 1996. 180 с.

Identification of neuroleptics – derivatives benzamide in blood a method of a highly effective liquid chromatography

R.A. Kalyokin

In the present publication the method of identification neuroleptics – derivatives benzamide (amisulprid, sulpirid and tiaprid) in extraction from blood is offered. The offered technique allows with high reproducibility and reliability to carry out identification of studied substances with so-extractive substances.

Key words: neuroleptics, amisulprid, sulpirid, tiaprid, blood, HELC.