

Ю. А. ГОНЧИКОВА<sup>1</sup>, Н. В. ЧМЕЛЕВСКАЯ<sup>2</sup>, Е. А. ИЛЛАРИОНОВА<sup>1</sup>

# АНАЛИЗ КОМБИНИРОВАННЫХ СОЧЕТАНИЙ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА ОСНОВЕ АБАКАВИРА, ЛАМИВУДИНА, ЗИДОВУДИНА МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО Иркутский государственный медицинский университет,  
ул. Красного восстания 1, г. Иркутск, Россия, 664003.

<sup>2</sup>ГБУЗ Иркутское областное бюро судебно-медицинской экспертизы,  
Бульвар Гагарина 4, г. Иркутск, Россия, 664022.

## АННОТАЦИЯ

**Цель.** Разработка методики обнаружения и разделения *абакавира, ламивудина, зидовудина* как индивидуально, так и в комбинациях с *адаптолом, азалептином, анальгином, амитриптилином, галоперидолом, мелипрамином, неулептилом, фенотарбиталом, флуоксетином и хлорпрохлоридом* с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

**Материалы и методы.** Использовалась колонка, заполненная ProntoSIL-120-5-C18 AQ, при элюировании в системе элюент А – [0,2 М лития перхлорат – 0,005 М хлорная кислота] – вода (5: 95); элюент Б – ацетонитрил. Условия хроматографирования: линейный градиент растворителя – 3700 мкл от 5 до 70% при скорости потока 100 мкл/мин. Температура колонки 40°C. Результаты обрабатывали с помощью компьютерной программы МультиХром (ЗАО Амперсэнд, г. Москва).

**Результаты.** Разработана методика, разделения и обнаружения комбинаций *абакавира, ламивудина, зидовудина* с *адаптолом, азалептином, анальгином, амитриптилином, галоперидолом, мелипрамином, неулептилом, фенотарбиталом, флуоксетином и хлорпрохлоридом* методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии.

**Заключение.** Разработанная методика позволяет обнаруживать *абакавир, зидовудин, ламивудин* методом ВЭЖХ после изолирования из мочи как отдельно, так и при комбинированных отравлениях с *адаптолом, азалептином, анальгином, амитриптилином, галоперидолом, мелипрамином, неулептилом, фенотарбиталом, флуоксетином и хлорпрохлоридом*.

**Ключевые слова.** абакавир, ламивудин, зидовудин, высокоэффективная жидкостная хроматография

**Для цитирования:** Гончикова Ю.А., Чмелевская Н.В., Илларионова Е.А. Анализ комбинированных сочетаний лекарственных средств на основе абакавира, ламивудина, зидовудина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2018; 25(3): 46-50. DOI: 10.25207 / 1608-6228-2018-25-3-46-50

**For citation:** Gonchikova Yu.A., Chmelevskaya N.V., Illarionova E.A. Analysis of mixed combinations of drugs based on abacavir, lamivudine, zidovudine by high-performance liquid chromatography. *Kubanskij nauchnyj medicinskij vestnik*. 2018; 25(3): 46-50. DOI: 10.25207 / 1608-6228-2018-25-3-46-50

YU. A. GONCHIKOVA<sup>1</sup>, N. V. CHMELEVSKAYA<sup>2</sup>, E. A. ILLARIONOVA<sup>2</sup>

ANALYSIS OF MIXED COMBINATIONS OF MEDICINAL PRODUCTS BASED ON ABAKAVIR, LAMIVUDIN, ZIDOVUDIN USING THE METHOD OF MICROCOLONIES LIQUID CHROMATOGRAPHY

<sup>1</sup>Federal State Budgetary Educational Institution 'Irkutsk State Medical University',  
Krasnogo Vosstaniya st, 1, Irkutsk, Russia, 664003.

<sup>2</sup>State Budgetary Healthcare Institution 'Irkutsk Regional Agency of Forensic Medical Examination,  
Gagarina Boulevard, 4, Irkutsk, Russia, 664022

## ABSTRACT

**Aim.** To develop a technique for the detection and separation of *abacavir, lamivudine, zidovudine*, both individually and combined with *adaptole, azaleptin, analgin, amitriptyline, haloperidol, melipramine, neuleptil, phenobarbital, fluoxetine, and chlorprothixen* using high performance liquid chromatography (HPLC).

**Materials and methods.** A column filled with ProntoSIL-120-5-C18 AQ was used, eluting with A [0.2 M lithium perchlorate – 0.005 M perchloric acid] – water (5: 95); eluent B is acetonitrile. Chromatography conditions: a lin-

ear gradient of the solvent is 3700 µl from 5 to 70% at a flow rate of 100 µl / min. The temperature of the column was 40°C. The results were processed with the help of the computer program MultiChrome (ZAO Ampersend, Moscow).

**Results.** The method of separation and detection of combinations of abacavir, lamivudine, zidovudine with adaptol, azaleptin, analgin, amitriptyline, haloperidol, melipramine, neuleptil, phenobarbital, fluoxetine and chlorprotixene by reversed-phase high-performance liquid chromatography was developed.

**Conclusion.** The developed technique allows detecting abacavir, zidovudine, lamivudine with the help of the HPLC method after isolation from urine separately or at combined poisonings with adaptolom, azaleptinom, dipyrone, amitriptilinom, galoperidolom, melipraminom, neuleptilom, phenobarbital, fluoxetine and hlorprotiksenom.

**Keywords:** abacavir, lamivudine, zidovudine, high-performance liquid chromatography

## Введение

Пожизненная терапия антиретровирусными препаратами предполагает их совместное применение с препаратами из других фармакологических групп. Эти комбинации используются для лечения заболеваний, обусловленных либо самим вирусом, либо заболеваний, с которыми так или иначе встречается каждый человек в процессе жизни [1]. Также нельзя не рассматривать вариант применения этих препаратов с целью получения наркотического опьянения. Все лекарственные средства имеют побочные эффекты, а при сочетанном употреблении, увеличении дозировок, необоснованном их применении эти эффекты могут усиливаться в огромное количество раз и как следствие возрастает риск отравления [2, 3].

Тщательный анализ литературных источников показал, что литература не располагает сведениями по химико-токсикологическому анализу препаратов данной группы как при индивидуальном их применении, так и в комбинациях с другими часто используемыми лекарственными средствами. Поэтому разработка методик, с помощью которых можно обнаружить и разделить абакавир, зидовудин, ламивудин с адаптолом, азалептином, анальгином, амитриптилином, галоперидолом, мелипрамином, неулептилом, фенотарбиталом, флуоксетином и хлорпротиксеном является актуальной проблемой.

**Цель работы.** Разработать методику обнаружения и разделения абакавира, ламивудина, зидовудина как индивидуально, так и в комбинациях с адаптолом, азалептином, анальгином, амитриптилином, галоперидолом, мелипрамином, неулептилом, фенотарбиталом, флуоксетином и хлорпротиксеном с использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Указанный метод дает возможность определять одновременно несколько соединений, отличается высокой точностью и воспроизводимостью полученных результатов [4]. Но использование ВЭЖХ в практике химико-токсикологического анализа для определения комбинаций лекарственных средств достаточно затруднительно в связи с отсутствием унифицированных методик.

## Материалы и методы

Использовалась колонка, заполненная ProntoSIL-120-5-C18 AQ, при элюировании в системе элюент А – [0,2 М лития перхлорат – 0,005 М хлорная кислота] – вода (5: 95); элюент Б – ацетонитрил. Условия хроматографирования: линейный градиент растворителя – 3700 мкл от 5 до 70% при скорости потока 100 мкл/мин, температура колонки 40° С. Результаты обрабатывали с помощью компьютерной программы МультиХром (ЗАО Амперсенд, г. Москва). Статистическую обработку результатов исследования проводили в соответствии с требованиями ГФ XIII издания, том 1, ОФС 1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента» [5].

## Результаты и обсуждение

В качестве сорбента была выбрана колонка ProntoSIL-120-5-C18 AQ с обращенной фазой. Было установлено, что используемая колонка обеспечивает симметричные пики на хроматограмме в системе при pH 2,8, содержащей элюент А – [0,2 М лития перхлорат – 0,005 М хлорная кислота].

Таблица 1 / Table 1

### Коэффициенты асимметрии определяемых соединений (Растворитель: MeCN - 0,2 М LiClO<sub>4</sub> (pH 2.8))

Coefficients of asymmetry of defined compounds

(Solvent: MeCN - 0.2 M LiClO<sub>4</sub> (pH 2.8))

Соединение	A10%
Абакавир	1,06
Адаптол	1,10
Азалептин	1,21
Амитриптилин	1,39
Анальгин	1,23
Галоперидол	1,25
Зидовудин	1,08
Ламивудин	0,92
Мелипрамин	1,42
Неулептил	1,21
Фенотарбитал	1,04
Флуоксетин	1,41
Хлорпротиксен	1,50

## Длины волн максимального и минимального поглощения соединений

The wavelengths of maximum and minimum absorption of the compounds

Определяемое соединение	$\lambda$	min, нм
Абакавир	258, 296 (210-230 плато)	242, 272
Адаптол	Не выражены	Не выражены
Азалептин	202, 242	228, плато 286
Амитриптилин	206, 240	230
Анальгин	260 (242, 246 плато)	230
Галоперидол	246	плато 218, 232
Зидовудин	214, 272	236
Ламивудин	212, 280	242
Мелипрамин	252	плато 210, 232
Неулептил	232, 270	216, 248
Фенобарбитал	Не выражены	Не выражены
Флуоксетин	228, 264	218, 248
Хлорпротиксен	206, 230, 270, 330	218, 254, 310

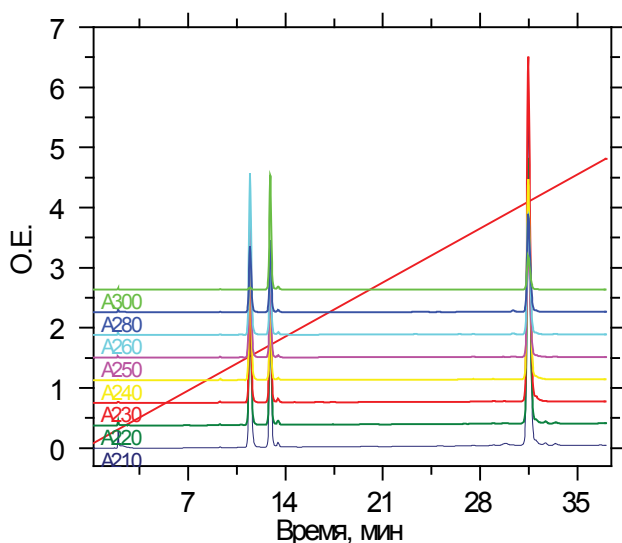


Рис. 1. Хроматограмма стандартного раствора в метаноле.

Пики: 1 – аналгин; 2 – абакавир; 3 – хлорпротиксен.

Fig. 1. Chromatogram of a standard solution in methanol.

Peaks: 1 – analgin; 2 – abacavir; 3 – chlorprothixene.

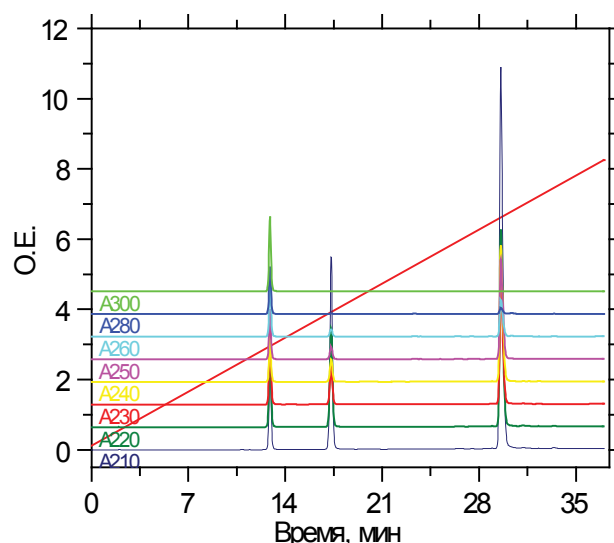


Рис. 2. Хроматограмма стандартного раствора в метаноле.

Пики: 1 – абакавир; 2 – фенобарбитал; 3 – амитриптилин.

Fig. 2. Chromatogram of a standard solution in methanol.

Peaks: 1 – abacavir; 2 – phenobarbital; 3 – amitriptyline.

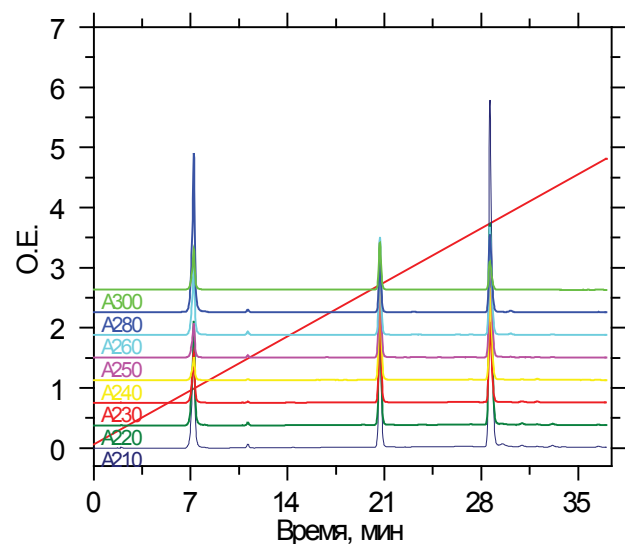
лота] – вода (5: 95); элюент Б – ацетонитрил. Исследуемые вещества в выбранной системе элюентов хроматографируются в виде симметричных пиков, что доказано рассчитанными значениями коэффициентов асимметрии, которые для определяемых соединений не превышают 1,5 (табл. 1), что свидетельствует об отсутствии ионообменных взаимодействий в используемой системе.

В связи с тем, что исследуемые нами лекарственные вещества могут применяться комплексно, а также они достаточно сильно различаются между собой по физико-химическим свойствам, то изократическое элюирование становится для них нецелесообразным. При анализе применяли градиентный режим элюирования 3700 мкл от 5% до 70% ацетонитрила (0-35 мин), условия которого подобраны экспериментально.

Для регистрации УФ-спектров использовали

стандартные растворы в метаноле с концентрацией 1 мг/мл. Спектры регистрировали в ходе хроматографического анализа после остановки потока вблизи максимума пика в интервале длин волн 190–360 нм с шагом 2 нм (табл. 2).

В качестве длин волн для определения выбраны длины волн максимального поглощения или близкие к ней (210, 220, 230, 240, 250, 260, 280 и 300 нм). Для удобства использовали нормирование УФ-спектров, так как нормированный УФ-спектр не зависит от концентрации соединения. В качестве базовой (для нормирования УФ-спектров) выбрана длина волны 210 нм. Дополнительные длины волн (220, 230, 240, 250, 260, 280 и 300 нм) используются для расчета спектральных отношений, применение которых для идентификации пиков существенно повышает надежность

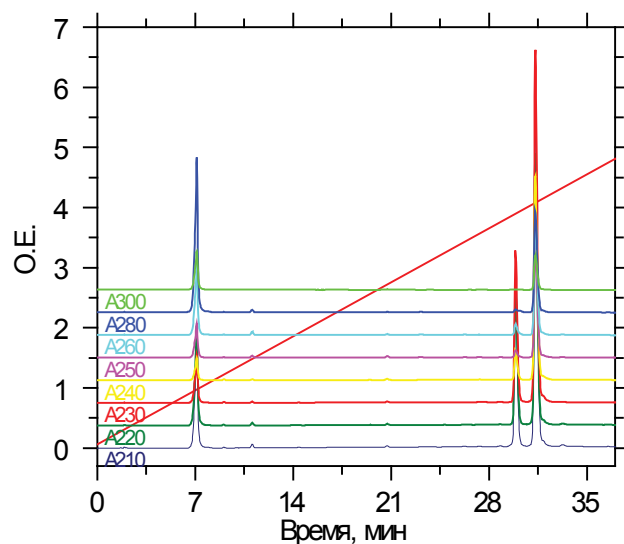


**Рис. 3.** Хроматограмма стандартного раствора в метаноле.

Пики: 1 – ламивудин; 2 – азалептин; 3 – мелипрамин.

**Fig. 3.** Chromatogram of a standard solution in methanol.

Peaks: 1 – lamivudine; 2 – azaleptinum; 3 – melipraminum.

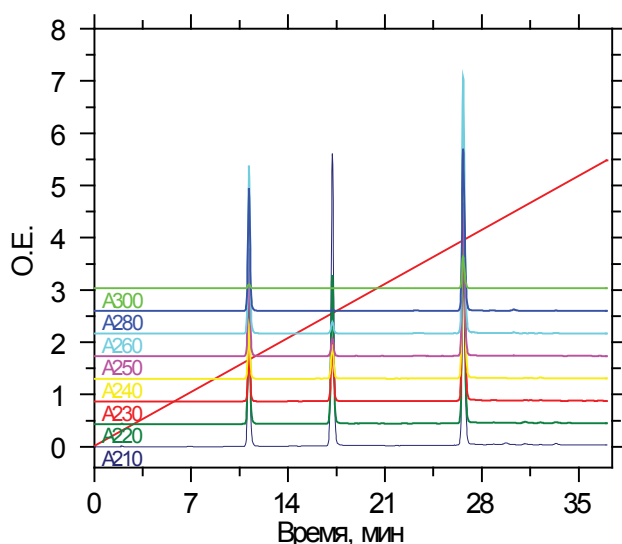


**Рис. 4.** Хроматограмма стандартного раствора в метаноле.

Пики: 1 – ламивудин; 2 – флуоксетин; 3 – хлорпротексен.

**Fig. 4.** Chromatogram of a standard solution in methanol.

Peaks: 1 – lamivudine; 2 – fluoxetine; 3 – chlorprothixen.

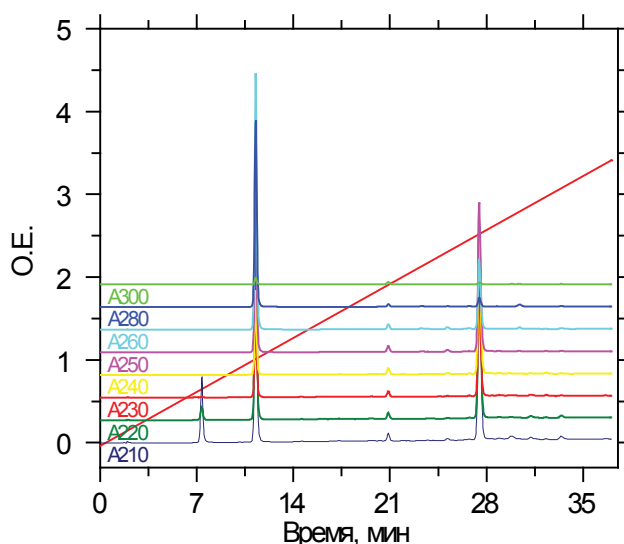


**Рис. 5.** Хроматограмма стандартного раствора в метаноле.

Пики: 1 – зидовудин; 2 – фенобарбитал; 3 – неуплептил.

**Fig. 5.** Chromatogram of a standard solution in methanol.

Peaks: 1 – zidovudine; 2 – phenobarbital; 3 – neuleptil.



**Рис. 6.** Хроматограмма стандартного раствора в метаноле.

Пики: 1 – адаптол; 2 – зидовудин; 3 – галоперидол.

**Fig. 6.** Chromatogram of a standard solution in methanol.

Peaks: 1 – adaptol; 2 – zidovudine; 3 – haloperidol.

определения этих компонентов в реальных пробах.

Проведена апробация выбранных условий хроматографического анализа модельных смесей абакавира, зидовудина, ламивудина с адаптолом, азалептином, анальгином, амитриптилином, галоперидолом, мелипрамином, неуплептилом, фенобарбиталом, флуоксетином и хлорпротиксеном. Хроматограммы растворов модельных смесей представлены на рисунках 1-6.

Из рисунков 1-6 видно, что предложенные условия позволяют определять исследуемые лекарственные соединения при их совместном присутствии.

Результаты хроматографического анализа ис-

следуемых соединений в предложенных условиях после извлечения их из мочи статистически обработаны и представлены в таблице 3.

### Заключение

Проанализировав полученные результаты, можно сделать вывод, что разработанная методика отличается хорошей воспроизводимостью. Относительная ошибка определения не превышает 0,15%.

Разработанная методика позволяет обнаруживать абакавир, зидовудин, ламивудин методом ВЭЖХ после изолирования из мочи как отдельно, так и при комбинированных отравлениях с

# Результаты хроматографического анализа исследуемых соединений в предложенных условиях

The results of chromatographic analysis of the compounds under study in the proposed terms

Соединение	Время удерживания, мин	Метрологические характеристики (n=6)
Абакавир	12,90; 12,91; 12,89 12,91; 12,90; 12,90	X = 12,90; S <sub>x</sub> = 0,003; ΔX = 0,008; E = 0,06%
Ламивудин	7,15; 7,15; 7,16 7,16; 7,15; 7,17	X = 7,16; S <sub>x</sub> = 0,003; ΔX = 0,009; E = 0,13%
Зидовудин	11,25; 11,24; 11,24 11,26; 11,24; 11,25	X = 11,25; S <sub>x</sub> = 0,004; ΔX = 0,01; E = 0,09%
Адаптол	7,12; 7,11; 7,13 7,11; 7,13; 7,13	X = 7,12; S <sub>x</sub> = 0,0041; ΔX = 0,011; E = 0,15%
Азалептин	20,90; 20,90; 20,89 20,91; 20,90; 20,89	X = 20,90; S <sub>x</sub> = 0,003; ΔX = 0,0077; E = 0,037%
Амитриптилин	29,76; 29,77; 29,76 29,77; 29,76; 29,77	X = 29,77; S <sub>x</sub> = 0,003; ΔX = 0,0081; E = 0,027%
Анальгин	11,46; 11,47; 11,46 11,46; 11,46; 11,47	X = 11,46; S <sub>x</sub> = 0,0025; ΔX = 0,0064; E = 0,056%
Галоперидол	27,72; 27,72; 27,73 27,72; 27,71; 27,72	X = 27,72; S <sub>x</sub> = 0,0026; ΔX = 0,0067; E = 0,0024%
Мелипрамин	29,07; 29,07; 29,06 29,07; 29,08; 29,07	X = 29,07; S <sub>x</sub> = 0,0026; ΔX = 0,0066; E = 0,023%
Неулетил	26,40; 26,41; 26,40; 26,40; 26,41; 26,41;	X = 26,41; S <sub>x</sub> = 0,0032; ΔX = 0,008; E = 0,030%
Фенобарбитал	17,19; 17,19; 17,18; 17,17; 17,18; 17,19;	X = 17,18; S <sub>x</sub> = 0,0037; ΔX = 0,010 E = 0,0058%
Флуоксетин	30,24; 30,23; 30,24; 30,25; 30,23; 30,25;	X = 30,24; S <sub>x</sub> = 0,0036; ΔX = 0,0094; E = 0,031%
Хлорпротиксен	31,33; 31,33; 31,33; 31,32; 31,33; 31,33;	X = 31,33; S <sub>x</sub> = 0,0018; ΔX = 0,005; E = 0,015%

адаптолом, азалептином, анальгином, амитриптилином, галоперидолом, мелипрамином, неулетилом, фенобарбиталом, флуоксетином и хлорпротиксеном.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Аронин С.И. ВИЧ-инфекция: вопросы терапии. Казанский медицинский журнал. 2005; 86(6): 433-450. [Aronin S.I. HIV-infection: therapeutic questions. Kazanskij medicinskij zhurnal. 2005; 86(6): 433-450. (In Russ.)].
2. Степанова Е.В., Захарова Н.Г., Торопов С.Э., Минин П.В. Побочные эффекты и оптимизация высокоактивной антиретровирусной терапии по материалам Санкт-Петербургского Центра СПИД. ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2010; 2(3): 101-108. [Stepanova E.V., Zakharova N.G., Toropov S.E., Minin P.V. Side effects and optimization of highly active antiretroviral therapy according to the experience of Saint-Peterburg aids centre. HIV-infection and immunosuppression. 2010; 2(3): 101-108.

(In Russ., English abstract)].

3. Доценко М., Карпов И., Ильенкова В., Жильцов И. Антиретровирусная терапия: наиболее частые побочные эффекты. Рецепт. 2007; 4: 104-110. [Dotsenko M., Karpov I., Ilienkov V., Zhiltsov I. Antiretroviral therapy: most common side effects. Recepte. 2007; 4: 104-110. (In Russ.)].

4. Хацаюк А.С., Павлова О.Е., Эхова М.Э. Роль и значение высокоэффективной жидкостной хроматографии в практике высокотехнологических лабораторных исследований. Здоровье. Медицинская экология. Наука. 2016; 66(3): 215-219. [Khatsayuk A.S., Pavlova O.E., Ekhoval M.E. Role and importance of high performance liquid chromatography in the practice of high-tech laboratory. Health. Medical Ecology. Science. 2016; 66(3): 215-219. (In Russ., English abstract)].

5. Государственная Фармакопея, 13-е изд. 2015; 1: 1470 с. [State Pharmacopeya, 13<sup>th</sup> edition. 2015; 1: 1470 p.]

Поступила / Received 20.03.2018

Принята в печать / Accepted 14.05.2018

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflict of interest

Контактная информация: Гончикова Юлия Анатольевна; тел. +79500705842, 89148760923; e-mail: Gonchikova1984@mail.ru; Россия, 664003, г. Иркутск, ул. Красного восстания, д. 1.

Corresponding author: Yuliya A. Gonchikova, tel.: +79500705842, 89148760923; e-mail: Gonchikova1984@mail.ru; 1, Krasny Vosstaniya str., Irkutsk, Russia, 664003.