

dr MAŁGORZATA SZEWCZYŃSKA
mgr ANNA OSYTEK
dr MAŁGORZATA POŚNIAK
dr inż. MAGDALENA GALWAS-
GRZESZKIEWICZ
Centralny Instytut Ochrony Pracy –
Państwowy Instytut Badawczy
00-701 Warszawa
ul. Czerniakowska 16

Sulpiryd

– metoda oznaczania

Słowa kluczowe: sulpiryd, analiza powietrza, stanowisko pracy, substancje farmaceutyczne, wysokosprawna chromatografia cieczowa.

Keywords: sulphyrine, air analysis, workplace, pharmaceutical substances, high performance liquid chromatography.

Metodę stosuje się do oznaczania stężeń sulpirydu w powietrzu na stanowiskach pracy podczas przeprowadzania kontroli warunków sanitarnohigienicznych.

Metoda polega na zatrzymaniu sulpirydu na filtrze z włókna szklanego, wymyciu go metanolem i analizie chromatograficznej otrzymanego roztworu.

Oznaczość metody wynosi 0,01 mg/m³.

UWAGI WSTĘPNE

Sulpiryd jest lekiem o działaniu neuroleptycznym z grupy pochodnych benzamidu, wykazującym działanie zarówno przeciwpsychotyczne, jak i przeciwdepresyjne. W przeciwieństwie do większości neuroleptyków, które blokują obydwa receptory dopaminowe D₁ i D₂, sulpiryd działa bardziej selektywnie i blokuje początkowo tylko receptor D₂. Sulpiryd prawdopodobnie nie działa na receptory norepinefrynowe, acetylocholinowe, serotoninowe, histaminowe i receptor GABA. Do zablokowania receptorów D₁ dochodzi po zastosowaniu dużych dawek sulpirydu. W małych dawkach (50 ÷ 150 mg na dobę) sulpiryd działa przeciwdepresyjnie, natomiast w większych (800 ÷ 1000 mg na dobę) jest skuteczny w leczeniu pozytywnych objawów schizofrenii. Efekt terapeutyczny sulpirydu w leczeniu schizofrenii obserwuje się po 8 ÷ 12 tygodniach stosowania. Sulpiryd stymuluje wydzielanie prolaktyny, poprawia przepływ krwi i wydzielanie śluzu w błonie śluzowej żołądka i dwunastnicy, a także działa przeciwwymiotnie. Klasyfikację sulpirydu podano w tabeli 1.

Tabela 1.**Klasyfikacja sulpirydu**

Symbol grupy	Nazwa grupy
N	ośrodkowy układ nerwowy
N 05	leki psycholeptyczne
N 05 A	leki przeciwpsychotyczne
N 05 AL	benzamidy
N 05 AL 01	sulpiryd

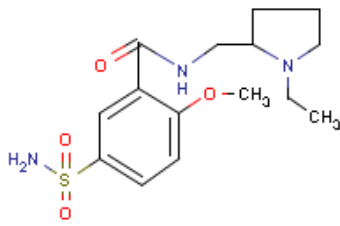
Sulpiryd powoli wchłania się z przewodu pokarmowego. Obecność pokarmu zmniejsza absorpcję o około 30%. Biodostępność leku jest mała ($27 \div 34\%$) i zależy od różnic międzyosobniczych. Lek jest szybko rozmieszczany w tkankach, natomiast w niewielkim stopniu przenika przez barierę krew-mózg. Maksymalne stężenie we krwi osiąga po $3 \div 6$ h po podaniu. Wiąże się z białkami osocza w około 40%, $T_{0,5}$ we krwi wynosi $8 \div 9$ h, a u pacjentów z ciężką niewydolnością nerek jest wydłużony do $20 \div 26$ h po podaniu dożylnym. Lek jest wydalany z moczem i kałem, głównie w postaci niezmienionej.

Wskazania do przyjmowania sulpirydu to ostre i przewlekłe psychozy schizofreniczne, zwłaszcza z objawami upośledzonej aktywności, a także stany depresyjne w przebiegu schizofrenii, zespoły urojeniowo-depresyjne, przewlekłe psychozy paranoidalne (bez pobudzenia), przewlekłe psychozy alkoholowe oraz zaburzenia psychosomatyczne. Sulpiryd bywa również lekiem pomocniczym w terapii uzależnienia alkoholowego. Rzadziej stosuje się go w: zaburzeniach żołądkowo-jelitowych (choroba wrzodowa żołądka i dwunastnicy oraz wrzodziejące zapalenie jelit), w migrenie i zawrotach głowy o różnej etiologii (m.in. choroba Meniera).

Działanie niepożądane są zwykle łagodne i dotyczą głównie ośrodkowego układu nerwowego. Najczęściej występującym (u około 25% leczonych) działaniem niepożądanym jest nadmierne uspokojenie. Rzadziej obserwowano: senność, zawroty głowy, bezsenność i inne zaburzenia snu, bóle głowy, drażliwość, zaburzenia koncentracji i depresję. W pojedynczych przypadkach mogą wystąpić: objawy pozapiramidowe z niepokojem ruchowym i drżeniami mięśniowymi, późne dyskinezy i ataksje, a także późne dystonie. Donoszono o występowaniu drgawek, czasami u pacjentów bez wcześniejszych napadów w wywiadzie. Podobnie jak w przypadku innych leków neuroleptycznych może wystąpić tzw. złośliwy zespół neuroleptyczny (podwyższona temperatura, zmiany psychiczne, zaburzenia czynności układu autonomicznego i wzmożone napięcie mięśniowe). Po dużych dawkach leku może dochodzić do zwiększenia stężenia prolaktyny we krwi, co może być związane z wystąpieniem mlekotoku i zaburzeń cyklu miesięczkowego, bardzo rzadko ginekomastii. Może także wystąpić zwiększenie masy ciała. Ze strony układu krążenia obserwowano kołatanie serca i hipotonię ortostatyczną. Rzadko występują objawy ze strony przewodu pokarmowego: suchość błon śluzowych jamy ustnej, nudności, wymioty, zaparcie czy jadłowstręt. Notowano pojedyncze przypadki leukocytozy. Rzadko obserwowano żółtaczkę cholestatyczną i marskość żółciową pierwotną. Lek może wpływać na sprawność psychofizyczną w stopniu uniemożliwiającym prowadzenie pojazdów i obsługę urządzeń mechanicznych w ruchu. W czasie leczenia preparatem nie należy spożywać alkoholu. Substancja czynna została sklasyfikowana jako substancje drażniące (X_n), działająca drażniąco na oczy, układ oddechowy i skórę (R36/37/38), (MSDS 73304, Fisherei 2004). Właściwości fizykochemiczne i toksykologiczne substancji zostały przedstawione w tabeli 2.

Tabela 2.

Właściwości sulpirydu (EP V 2005; ChemIDplus)

Nazwa	Sulpiryd
Wzór sumaryczny	C ₁₅ H ₂₃ N ₃ O ₄ S
Numer CAS	15676-16-1
Synonimy	(RS)- <i>N</i> -[(1- etylopirolidyn-2-ylo)-metylo]-2-metoksy-5-sulfamoilo-benzamid; 5-(aminosulfonyl)- <i>N</i> -((1-ethyl-2-pyrrolidiny)methyl)-2-methoxy-benzamid <i>N</i> -(1-ethyl-2-pyrrolidiny)methyl)-5-sulfamoyl-o-anisamid
Wzór strukturalny	
Kolor	biały
Kształt	kryształiczny proszek, dwie formy kryształków
Temperatura wrzenia	brak danych
Temperatura topnienia	178 °C
Masa molowa	341,43
logK _{ow}	1,337
Rozpuszczalność	rozpuszczalny w wodzie (2280 mg/l w temp. 25 °C), słabo rozpuszczalny w alkoholu i chlorku metylenu
Prężność par	3,3 · 10 ⁻¹¹ mmHg w temp. 25 °C
Inne właściwości	labilna wilgotność stała prawa Henry`ego = 1,53 · 10 ⁻¹⁷ atm m ³ mol ⁻¹ w temp. 25 °C, stała reakcji rodnikowania hydroksylowego = 1,16 · 10 ⁻¹⁰ cm ³ mol ⁻¹ s ⁻¹ w temp. 25 °C; stała dysocjacji pKa = 9,12
Toksyčność	człowiek: domięśniowo TDL ₀ 1,429 mg/kg drogą pokarmową TDL ₀ 2,143 mg/kg pies: dootrzewnowo LD ₅₀ 350 mg/kg drogą pokarmową LD ₅₀ 2000 mg/kg dożylnie LD ₅₀ 137 mg/kg mysz: dootrzewnowo LD ₅₀ 170 mg/kg podskórnice LD ₁₀ 290 mg/kg dożylnie LD ₅₀ 48 mg/kg drogą pokarmową LD ₅₀ 1700 mg/kg królik: drogą pokarmową LD ₅₀ 4000 mg/kg dożylnie LD ₅₀ 63 mg/kg podskórnice LD ₅₀ 2000 mg/kg

cd. tab. 2.

Nazwa	Sulpiryd
	szczur: dootrzewnowo LD ₅₀ 210 mg/kg drogą pokarmową LD ₅₀ 9800 mg/kg dożylnie LD ₅₀ 40 mg/kg odskórnice LD ₅₀ 360 mg/kg

PROCEDURA ANALITYCZNA

1. Zakres metody

W niniejszej procedurze podano metodę oznaczania zawartości sulpirydu w powietrzu na stanowiskach pracy z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją spektrofotometryczną.

Najmniejsze stężenie sulpirydu, jakie można oznaczyć w warunkach pobierania próbek powietrza i wykonania oznaczania opisanych w procedurze, wynosi 0,01 mg/m³.

2. Norma powołana

PN-Z-04008-7:2002/Az1:2004 „Ochrona czystości powietrza – Pobieranie próbek – Zasady pobierania próbek powietrza w środowisku pracy i interpretacji wyników”.

3. Zasada metody

Metoda polega na zatrzymaniu aerozolu sulpirydu na filtrze z włókna szklanego, wmywaniu analitu metanolem i analizie chromatograficznej otrzymanego roztworu.

4. Wytyczne ogólne

4.1. Czystość odczynników

Podczas analizy, jeżeli nie zaznaczono inaczej, należy stosować odczynniki o stopniu czystości co najmniej cz.d.a.

4.2. Dokładność ważenia

Substancje stosowane w analizie należy ważyć z dokładnością do 0,0002 g.

4.3. Postępowanie z substancjami niebezpiecznymi

Czynności związane z sulpirydem należy wykonywać pod sprawnie działającym wyciągiem. Zużyte roztwory i odczynniki należy gromadzić w przeznaczonych do tego celu pojemnikach i przekazywać do utylizacji uprawnionym instytucjom.

5. Odczynniki, roztwory i materiały

5.1. Sulpiryd

Stosować sulpiryd o czystości według punktu 4.1.

5.2. Acetonitryl

Stosować acetonitryl o czystości według punktu 4.1.

5.3. Metanol

Stosować metanol o czystości według punktu 4.1.

5.4. Woda destylowana

Stosować wodę destylowaną o czystości do HPLC.

5.5. Bufor fosforanowy

Stosować bufor fosforanowy o $\text{pH} = 3$.

5.6. Roztwór wzorcowy podstawowy

Do zważonej kolby pomiarowej o pojemności 100 ml należy odważyć około 16 mg sulpirydu według punktu 5.1., kolbę zważyć, uzupełnić do kreski metanolem według punktu 5.3. i dokładnie wymieszać. Stężenie sulpirydu w tak przygotowanym roztworze wynosi około 0,16 mg/ml. Obliczyć dokładną zawartość tego związku w 1 ml roztworu.

5.7. Roztwory wzorcowe robocze

Do sześciu kolb pomiarowych o pojemności 10 ml odmierzyć kolejno: 0,1; 0,25; 0,5; 1 i 2 ml roztworu wzorcowego podstawowego według punktu 5.6., uzupełnić do kreski metanolem według punktu 5.3. i wymieszać. Obliczyć zawartość sulpirydu w 1 ml tak przygotowanych roztworów.

5.8. Roztwór do wyznaczenia współczynnika odzysku

Do zważonej kolby pomiarowej o pojemności 10 ml odmierzyć 4,5 ml roztworu podstawowego według punktu 5.5., uzupełnić do kreski metanolem według punktu 5.3. i dokładnie wymieszać. Stężenie sulpirydu w tak przygotowanym roztworze wynosi około 72 $\mu\text{g/ml}$.

Roztwory przygotowane według punktów 5.6., 5.7. i 5.8. przechowywane w chłodziarce są trwałe przez 30 dni.

5.9. Filtry z włókna szklanego

Do pobierania próbek powietrza stosować filtry włókna szklanego o średnicy 37 mm lub inne filtry równoważne.

Czystość stosowanych filtrów należy zbadać chromatograficznie oraz wyznaczyć współczynnik odzysku sulpirydu według punktu 11.

5.10. Nasadka filtracyjna

Do filtrowania analizowanych roztworów stosować nasadkę filtracyjną z filtrem z włókna szklanego o wielkości porów 0,45 μm .

6. Przyrządy pomiarowe i sprzęt pomocniczy

6.1. Chromatograf cieczowy

Stosować chromatograf cieczowy z detektorem spektrofotometrycznym UV/VIS lub detektorem fluorescencyjnym i pętlą dozowniczą o pojemności 50 μl oraz elektronicznym integratorem.

6.2. Kolumna chromatograficzna

Stosować kolumnę chromatograficzną umożliwiającą rozdział sulpirydu od innych substancji występujących jednocześnie w badanym powietrzu, np.: kolumnę stalową Partisil 10 ODS o długości 25 cm i średnicy wewnętrznej 4,6 mm oraz uziarnieniu 5 μm .

6.3. Mikrostrzykawki

Stosować mikrostrzykawki do cieczy o pojemności: 100; 500 i 1000 μl .

6.4. Kolby Erlenmayera

Stosować kolby Erlenmayera o pojemności około 25 ml wyposażone w korki zapewniające szczelne zamknięcie kolb.

6.5. Pompa ssąca

Stosować pompę ssącą umożliwiającą pobieranie próbek powietrza ze stałym strumieniem objętości według punktu 7.

6.6. Kolby pomiarowe

Stosować kolby szklane o pojemności: 10; 25 i 100 ml.

6.7. Pipeta szklana

Stosować pipetę do cieczy o pojemności 5 ml.

7. Pobieranie próbek powietrza

Próbki powietrza należy pobierać zgodnie z zasadami podanymi w normie PN-Z-04008-7:2002/Az1:2004. W miejscu pobierania próbek przez filtr szklany według punktu 5.9. przepuścić 480 l badanego powietrza ze stałym strumieniem objętości nie większym niż 2 l/min. Pobrane próbki przechowywane w lodówce są trwałe przez 30 dni.

8. Warunki pracy chromatografu

Należy tak dobrać warunki pracy chromatografu, aby uzyskać rozdział sulpirydu od substancji współwystępujących. W przypadku stosowania kolumny o parametrach według punktu 6.2. oznaczenie można wykonać w następujących warunkach:

- faza ruchoma: bufor fosforanowy 0,01 mol/l o pH 3/acetonitryl 85: 15 (v/v)
- przepływ fazy ruchomej 1 ml/min
- temperatura kolumny pokojowa
- długość fali analitycznej detektora DAD 240 nm
- długość fali analitycznej detektora fluorescencyjnego: wzbudzenia 300 nm
emisji 365 nm
- pętla dozownicza 50 μ l.

9. Sporządzanie krzywej wzorcowej

Do chromatografu wprowadzić za pomocą pętli dozowniczej po 50 μ l roztworów wzorcowych roboczych według punktu 5.7. Z każdego roztworu wzorcowego należy wykonać dwukrotny pomiar. Odczytać powierzchnie pików według wskazań integratora i obliczyć średnią arytmetyczną. Różnica między wynikami nie powinna być większa niż $\pm 5\%$ tej wartości. Następnie wykreślić krzywą wzorcową, odkładając na osi odciętych zawartość sulpirydu w 1 ml roztworów wzorcowych w mikrogramach, a na osi rzędnych – odpowiadające im średnie powierzchnie pików.

Dopuszcza się automatyczne integrowanie danych i sporządzanie krzywej wzorcowej.

10. Wykonanie oznaczania

Po pobraniu próbki powietrza przenieść filtr z włókna szklanego do kolb Erlenmayera według punktu 6.4. Następnie dodać po 3 ml metanolu według punktu 5.3., kolby szczelnie zamknąć i pozostawić na 30 min, energicznie wstrząsając co pewien czas ich zawartość. Następnie wykonać oznaczenie chromatograficzne roztworu znad filtra w warunkach określonych według punktu 8.

Z każdego roztworu należy wykonać dwukrotny pomiar. Odczytać z uzyskanych chromatogramów powierzchnie pików sulpirydu według wskazań integratora i obliczyć średnią arytmetyczną. Różnica między wynikami nie powinna być większa niż $\pm 5\%$ tej wartości. Z krzywych wzorcowych odczytać zawartość oznaczanej substancji w 1 ml badanego roztworu.

11. Wyznaczanie współczynnika odzysku

W pięciu kolbach Erlenmayera według punktu 6.4. umieścić filtry z włókna szklanego i następnie dodać po 100 μl roztworu do wyznaczania współczynnika odzysku według punktu 5.8. za pomocą mikrostrzykawki o pojemności 100 μl według punktu 6.3. W szóstej kolbie przygotować próbkę kontrolną zawierającą czysty filtr. Kolby szczelnie zamknąć i pozostawić do następnego dnia. Następnie dodać po 2 ml wody destylowanej według punktu 5.4. i energicznie wstrząsać zawartością naczynek przez 30 min.

Jednocześnie wykonać oznaczenie badanej substancji co najmniej w trzech roztworach porównawczych, przygotowanych przez dodanie do 3 ml metanolu według punktu 5.3. po 50 μl roztworu do wyznaczania współczynnika odzysku według punktu 5.8. Oznaczenie badanej substancji wykonać według punktu 10.

Współczynnik odzysku sulpirydu (d) obliczyć na podstawie wzoru:

$$d = \frac{P_d - P_o}{P_p},$$

w którym:

- P_d – średnia powierzchnia pików sulpirydu na chromatogramach roztworów po wymywaniu,
- P_o – średnia powierzchnia pików o czasie retencji sulpirydu na chromatogramach roztworu kontrolnego,
- P_p – średnia powierzchnia pików sulpirydu na chromatogramach roztworów porównawczych.

Następnie obliczyć średnią wartość współczynników odzysku sulpirydu (\bar{d}) jako średnią arytmetyczną otrzymanych wartości (d).

Współczynnik odzysku należy zawsze oznaczać dla każdej nowej partii stosowanych do pochłaniania filtrów z włókna szklanego.

12. Obliczanie wyniku oznaczenia

Stężenia sulpirydu (X) w badanym powietrzu obliczyć w miligramach na metr sześcienny na podstawie wzoru:

$$X = \frac{C_1}{V \cdot \bar{d}} \cdot 3,$$

w którym:

- C_1 – stężenie sulpirydu w roztworze znad filtra odczytane z krzywej wzorcowej, w miligramach na mililitr,
- V – objętość przepuszczonego powietrza przez filtr, w metrach sześciennych,
- \bar{d} – średnia wartość współczynnika odzysku wyznaczonego według punktu 11.,
- 3 – objętość rozpuszczalnika do wymywania sulpirydu z filtra, w mililitrach.

INFORMACJE DODATKOWE

Badania wykonano, stosując chromatograf ciekowy z detektorem UV/VIS DAD i detektor fluorescencyjny firmy Elite LaChrom firmy Merck-Hitachi, wyposażony w kolumnę Partisil 10 ODS o długości 25 cm i średnicy wewnętrznej 4 mm.

Na podstawie wyników przeprowadzanych badań otrzymano następujące dane walidacyjne:

– zakres pomiarowy	1,6 ÷ 30,0 µg/ml (0,01 ÷ 0,18 mg/m ³ dla próbki powietrza 480 l)
– granica wykrywalności, x_{gw}	0,003 µg/l
– granica oznaczania ilościowego, x_{ozn}	0,01 µg/l
– współczynnik korelacji, R	0,9999
– całkowita precyzja badania, V_c	1,40 ÷ 2,19%
– niepewność całkowita metody	5,4%.

PIŚMIENNICTWO

MSDS 73304, Fisherei (2004).

MAŁGORZATA SZEWCZYŃSKA, ANNA OSYTEK, MAŁGORZATA POŚNIAK,
MAGDALENA GALWAS-GRZESZKIEWICZ

Sulphyryde – determination method

A b s t r a c t

This method is based on deposition of sulphyryde on glass fiber filters, desorption with distilled water and chromatographic (HPLC) analysis of the resulting solution.

The determination limit of this method is 0.01 mg/m³.