



Л.Р. Гегедиш¹, Ю.І. Бідниченко², Н.К. Федущак²

Застосування хромато-мас-спектроскопії для виявлення амітриптиліну в біологічному матеріалі

¹Бюро судово-медичної експертизи ГУОЗ Львівської ОДА,

²Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

Ключові слова: амітриптилін, отруєння, внутрішні органи, судово-хімічний аналіз, хромато-мас-спектроскопія.

Наведено умови хромато-мас-спектроскопичного виявлення амітриптиліну у витяжках з внутрішніх органів при проведенні судово-хімічного дослідження отруєння цим препаратом.

Использование хромато-масс-спектрографии для определения амитриптилина в биологическом материале

Л.Р. Гегедиш, Ю.И. Бидниченко, Н.К. Федущак

Приведены условия хромато-масс-спектрографического обнаружения амитриптилина в вытяжках из внутренних органов при проведении судебно-химического исследования отравления этим препаратом.

Ключевые слова: амитриптилин, отравление, внутренние органы, судебно-химический анализ, хромато-масс-спектрография.

Using gas chromatography-mass spectrometry for the determination of amitriptyline in biological material

L.R. Ggedish, Y.I. Bidnichenko, N.K. Feduschak

Conditions of chromato-mass-spectroscopic detection of amitriptyline in extracts from internal organs during forensic-chemical examination of this preparation poisoning are presented in the article.

Key words: amitriptyline, poisoning, internal organs, forensic-chemical examination, chromato-mass-spectroscopy.

Амітриптилін належить до трициклічних антидепресантів і є чи не найпоширенішим антидепресантом, який призначається у всьому світі. Застосовують його також у комбінації з іншими лікарськими засобами як знеболююче [1] і для запобігання нападам мігрені [2]. На жаль, цей препарат часто є причиною гострих серцевих розладів, інколи смертельних, і невмотивованих самогубств [3]. Нині в Україні хіміко-токсикологічний аналіз отруєнь цим препаратом здійснюється згідно з відповідними методичними вказівками, розробленими ще у 1970-х роках [4]. За час, що минув, у практику судово-хімічного аналізу впроваджено нові методи дослідження біологічного матеріалу на наявність трициклічних антидепресантів.

Завдяки універсальності у виборі сорбентів і проведенню розділення речовин за кімнатної температури широкого застосування у хіміко-токсикологічному аналізі амітриптиліну та його метаболітів здобув метод високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) [5–8]. З іншого боку, лічені лабораторії судово-медичної експертизи мають відповідну апаратуру для ВЕРХ. Тому газова хроматографія залишається основним інструментальним методом дослідження отруєнь. Нині газо-рідинну хроматографію застосовано для виявлення та визначення амітриптиліну після попередньої дериватизації його з трифтороцтовим ангідридом [9] чи з оцтовим ангідридом за наявності безводного піридину [10].

Мета роботи

Розробка умов хромато-мас-спектроскопичного виявлення амітриптиліну в об'єктах судово-хімічного аналізу без попередньої обробки проби будь-яким хімічним агентом.

Матеріали і методи дослідження

Об'єкти виконаних досліджень – внутрішні органи (нирка, печінка, шлунок, тонкий кишечник і головний мозок) особи, яка загинула за нестановлених обставин.

Ізолювання амітриптиліну із зазначених об'єктів судово-хімічного аналізу проводили шляхом настоювання їх з водою, підкисленою щавлевою кислотою (за методом О.О. Васильєвої) [11]. Лужні хлороформно-ефірні екстракти упарювали до об'єму 2 мл і досліджували на наявність отруйних речовин за допомогою ТШХ-скринінгу. Хроматографування проб отриманих витяжок разом з речовинами-стандартами виконували на пластинках «Sorbfil» у системі розчинників ацетон-хлороформ-діоксан-аміак (5:45:47,5:2,5). Для візуалізації плям досліджуваних речовин використали УФ-випромінювання і реактив Драгендорфа. На проявлених хроматографічних пластинках спостерігали флуоресценцію плям голубого кольору; ці ж плями забарвлювались в оранжевий колір після обприскування пластинки реактивом Драгендорфа. Величини R_f плям досліджуваної речовини та стандарту амітриптиліну збігались (0,75).

Для підтвердження наявності амітриптиліну в отриманих витяжках з біоматеріалу застосовано хромато-мас-спектрометричний метод аналізу.

Хромато-мас-спектроскопичне дослідження виконано за допомогою газо-рідинного хроматографа Agilent 6890 з мас-селективним детектором Agilent MSD 597B. Використовували капілярну колонку HP-1 довжиною 30 м і внутрішнім діаметром 0,25 мм з нанесеною на внутрішню стінку неполярною нерухою рідкою фазою метилсилоксаном 0,25 мкм завтовшки. Газ-носієй гелій подавався з постійною швидкістю 1 мл/хв. Температура

термостату колонок змінювалась за наступною програмою: початкова температура – 50°C протягом 0,5 хв, потім збільшувалась зі швидкістю 20°C/хв до 280°C, а після – ізотермічний режим протягом 3 хв при 280°C.

Умови роботи мас-детектора: температура квадруполя – 180°C, температура джерела електронів – 250°C, напруга – 70 В. Мас-спектроскопію виконували в режимі позитивної іонізації. Утворені іони сканували в діапазоні 30–550 m/z.

Результати та їх обговорення

Ідентифікацію амітриптиліну виконували як за бібліотеками мас-спектрів NIST і Wiley, так і за часом утримування досліджуваної речовини і стандарту. Встановлено, що час утримування амітриптиліну у зазначених умовах

аналізу становить 11,9 хв.

На отриманих мас-спектрах досліджуваної речовини і стандарту спостерігається збіг піків утворених іонів.

Експериментальні дані підтвердились даними з використаних бібліотек мас-спектрів.

Кількісне визначення амітриптиліну у внутрішніх органах не виконували.

Висновки

Розроблена методика хромато-мас-спектроскопічного визначення амітриптиліну є придатною для судово-хімічного аналізу і дозволяє надійно виявляти та ідентифікувати цю речовину у витяжках з біологічного матеріалу.

Список літератури

1. Dharmshaktu P. Efficacy of antidepressants as analgesics: a review / Dharmshaktu P., Tayal V., Kalra B.S. // *Journal of Clinical Pharmacology*. – 2012. – Vol. 52. – №1. – P. 6–17.
2. Supiot F. La migraine en 2009 : de la crise au traitement / Supiot F. // *Revue médicale de Bruxelles*. – 2009. – Vol. 30. – №4. – P. 399–403.
3. Toxicity of antidepressants: rates of suicide relative to prescribing and non-fatal overdose / K. Hawton, H. Bergen, S. Simkin et al. // *The British Journal of Psychiatry*. – 2010. – Vol. 196. – P. 354–358.
4. Методические указания об определении амитриптилина при химико-токсикологическом исследовании биологического материала. – М: Минздрав СССР, 1979. – 14 с.
5. Кокорина Н.О. Определение лекарственных препаратов в биожидкостях методом высокоэффективной жидкостной хроматографии / Кокорина Н.О., Новоселов В.П., Ханина М.А. // *Сибирский медицинский журнал*. – 2008. – Т. 23, №4, Вып. 2. – С. 51–53.
6. Linden R. Determination of Amitriptyline and its Main Metabolites in Human Plasma Samples using HPLC-DAD: Application to the Determination of Metabolic Ratios after Single Oral Dose of Amitriptyline / Linden R., Antunes M.V., Ziulkoski A.L., Wingert M. et al. // *Journal of Brazilian Chemical Society*. – 2008. – Vol. 19. – №1. – P. 35–41.
7. Jung-woo Chae Quantitative Determination of Amitriptyline and Its Metabolite in Rat Plasma by Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry / Jung-woo Chae, In-hwan Baek, Jung-hwa An, Eun-jung Kim, and Kwang-il Kwon // *Bulletin of Korean Chemical Society*. – 2012. – Vol. 33, №7. – P. 2163–2167.
8. Fernández-Navarro J.J. Reversed-phase liquid chromatography without organic solvent for determination of tricyclic antidepressants / Fernández-Navarro J.J., Ruiz-Ángel M.J., García-Álvarez-Coque M.C. // *Journal of Separation Science*. – 2012. – Vol. 35, Is. 10–11. – P. 1303–1309.
9. Мелентьев А.Б. Определение амитриптилина и нортриптилина в крови методом газовой хроматографии с масс-селективным детектором / Мелентьев А.Б., Катаев С.С., Иванова Е.П. // *Судебно-медицинская экспертиза*. – 2007. – Т. 50, №1. – С. 31–34.
10. Скорнякова А.Б. Химико-токсикологическое исследование галоперидола при комбинированных отравлениях: автореф. дис. ... канд. фарм. наук: 15.00.02 / Скорнякова А.Б. – Пятигорск, 2008. – 24 с.
11. Крамаренко В.П. Токсикологічна хімія / Крамаренко В.П. – К.: Вища школа, 1995. – С. 179–180.

Відомості про авторів:

Гегедиш Л.Р., хімік-експерт Бюро судово-медичної експертизи ГУОЗ Львівської ОДА.

Бідниченко Ю.І., к. фарм. н., доцент каф. токсикологічної та аналітичної хімії ЛНМУ ім. Д. Галицького.

Федущак Н.К., к. фарм. н., доцент каф. токсикологічної та аналітичної хімії ЛНМУ ім. Д. Галицького.

Надійшла в редакцію 30.04.2013 р.