

ВИЯВЛЕННЯ ПРОДУКТІВ БІОТРАНСФОРМАЦІЇ АМІТРИПТИЛІНУ В УМОВАХ ТОКСИКОЛОГІЧНОГО СКРИНІНГА

Баярка С.В., Карпушина С.А.

Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна

Кафедра лікарської та аналітичної токсикології

svitkrp@gmail.com

Амітриптилін – лікарський препарат антидепресивної дії, який неодноразово був причиною летальних отруєнь [2]. В організмі амітриптилін інтенсивно метаболізує, менш ніж 5 % препарату виводиться в нативному вигляді та у вигляді нортриптиліну [1]. При токсикологічних дослідженнях біологічних об'єктів на присутність лікарської речовини актуальним стає наявність даних з умов виявлення продуктів її біотрансформації. В основу одного з найбільш розвинених скринінгових підходів, що використовуються в судовій токсикології, покладено метод тонкошарової хроматографії [1]. Міжнародною асоціацією судових токсикологів (ТІАФТ) запропоновані уніфіковані скринінгові ТШХ-системи, для яких створена база даних з параметрів хроматографічної рухливості [1].

Мета дослідження. Встановлення параметрів хроматографічної рухливості метаболітів амітриптиліну, екстрагованих з сечі, в скринінгових ТШХ-системах, а також забарвлень продуктів їх взаємодії з хромогенними реактивами, які рекомендовані ТІАФТ.

Матеріали та методи. Амітриптилін приймав чоловік віком 46 років, здоровий, всередину 2 таблетки препарату «Амітриптилін» (25 мг) після їжі, що відповідало разовій терапевтичній дозі. Сечу збирали протягом 24 год порціями по 50 мл, починаючи з четвертої години після прийому препарату. Сечу піддавали кислотному гідролізу, проводили екстракційну очистку кислого гідролізату діетиловим етером та екстрагували амітриптилін та його метаболіти хлороформом (рН 8 – 9). Хроматографічні дослідження проводили на пластинках Merck. Хроматограми розвивали в хлороформі, а потім в одній з рухомих фаз: етилацетат – метанол – 25 % розчин гідроксиду амонію (85:10:5) (1); метанол – 25 % розчин гідроксиду амонію (100:1,5) (2); циклогексан – толуен – діетиламін (75:15:10) (3). Хроматограми проявляли реактивом Драгендорфа за Муньє. Амітриптилін та його метаболіти елюювали метанолом. Елюати використовували для проведення кольорових реакцій з реактивами, що наведені у табл. Структуру метаболітів встановлювали методом мас-спектрометрії: мас-спектрометр Varian 1200 L (Нідерланди) з подвійним квадрупольним мас-аналізатором, іонізація електронним ударом ($E_i = 70$ eV), пряме введення проби в іонну камеру, дослідження проводили в режимі повного сканування.

Результати та їх обговорення. На хроматограмах детектувати нативну речовину і три продукти біотрансформації амітриптиліну (табл.). Як основний метаболіт (М 1) (за розміром плями на хроматограмі) було ідентифіковано *N, N*-дідезметиламітриптилін (основні іони m/z 44, 55, 40, 79, 60, 95, 45, 77, 122, 152, 247) (рис. 1).

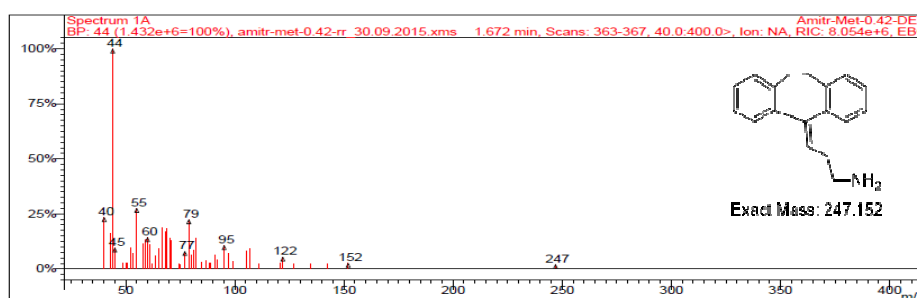


Рис. 1. Мас-спектр *N, N*-дідезметиламітриптиліну

Один з мінорних метаболітів (М 2) відповідав 10-гідрокси-амітриптиліну (основні іони m/z 43, 60, 73, 42, 45, 72, 74, 105, 55, 129, 223, 167, 256, 79, 149, 199, 277, 292) (рис. 2). Структуру другого мінорного метаболіту (М 3) не встановлено.

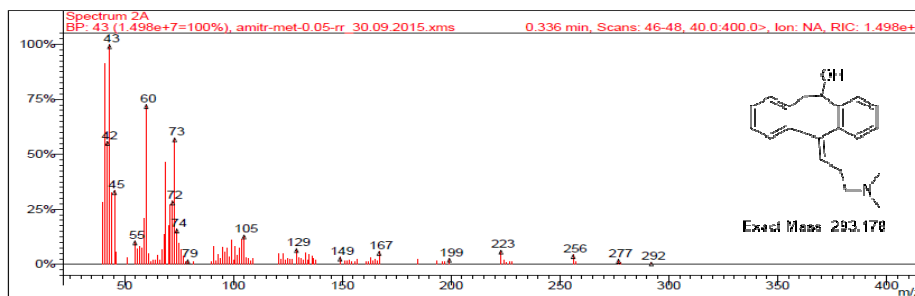


Рис. 2. Мас-спектр 10-гідрокси-амітриптиліну

Таблиця

Хроматографічна рухливість та результати візуалізації амітриптиліну та його метаболітів

Рухома фаза	Значення R_f ($n = 5$; $P = 0,95$)			
	Амітриптилін	М 1	М 2	М 3
1	$0,91 \pm 0,04$	$0,32 \pm 0,04$	$0,07 \pm 0,03$	$0,67 \pm 0,04$
2	$0,51 \pm 0,02$	$0,37 \pm 0,02$	$0,08 \pm 0,02$	$0,70 \pm 0,02$
3	$0,88 \pm 0,03$	$0,55 \pm 0,03$	$0,03 \pm 0,02$	$0,07 \pm 0,02$
Результати візуалізації				
Реактив	Амітриптилін	М 1	М 2	М 3
Драгендорфа	оранжеве	оранжеве	оранжеве	оранжеве
Нінгідрин	нема забарвлення	фіолетове	жовте	фіолетове
Манделіна	коричневе	оранжево-коричневе	жовто-коричневе	оранжево-жовте
Манделіна модифік.	коричневе	оранжево-коричневе	жовто-коричневе	оранжево-жовте
Фреде	цегляно-червоне → зелене	буре	оранжеве	зелене
Лібермана	жовтувато-коричневе	коричневе	жовте	коричневе
Маркі	коричневе → оранжеве	коричнево-буре	коричневе	коричнево-буре

Висновки. Розроблено умови виявлення амітриптиліну і його метаболітів в сечі методом ТШХ після прийому разової терапевтичної дози антидепресанту. Встановлено параметри хроматографічної рухливості основного – *N*, *N*-дідезметиламітриптиліну, і мінорного – 10-гідрокси-амітриптиліну, метаболітів амітриптиліна в скринінгових ТШХ-системах, а також результати реакцій їх візуалізації з хромогенними реактивами.

Література

1. Clarke's analysis of drugs and poisons in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material: 4-th edition / A. C. Moffat; M. D. Osselton; B. Widdop [et al.]. – London, Chicago: Pharmaceutical Press, 2011. – 2736 p.
2. Disputed case of homicide by smothering due to severe amitriptyline intoxication of the victim / I. Stiakakis, S. D. Belivanis, M. N. Tzatzarakis [et al.] // J. Forensic Leg. Med. – 2009. – V. 16 (5). – P. 280–283.