



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) UA

(11) 107780

(13) U

(51) МПК

G01N 33/493 (2006.01)

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2015 11789**

(22) Дата подання заявки: **30.11.2015**

(24) Дата, з якої є чинними  
права на корисну  
модель: **24.06.2016**

(46) Публікація відомостей  
про видачу патенту: **24.06.2016, Бюл.№ 12**

(72) Винахідник(и):

**Петюнін Геннадій Павлович (UA),  
Баюрко Сергій Васильович (UA),  
Карпушина Світлана Анатоліївна (UA),  
Чубенко Олександр Владкович (UA)**

(73) Власник(и):

**ХАРКІВСЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ  
ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ,  
вул. Корчагінців, 58, м. Харків, 61176 (UA)**

## (54) СПОСІБ ВИЯВЛЕННЯ ДЕЯКИХ ПОХІДНИХ ТЕТРАЦИКЛІЧНИХ АНТИДЕПРЕСАНТІВ У БІОЛОГІЧНОМУ МАТЕРІАЛІ

(57) Реферат:

Спосіб виявлення деяких похідних тетрациклічних антидепресантів (міасерину) у біологічному матеріалі здійснюють шляхом піддавання відповідного біологічного матеріалу рідинно-рідинній екстракції з наступним дослідженням методом хроматографії в тонких шарах сорбенту. Після нанесення на лінію старту трьох плям досліджуваного екстракту та стандартної речовини амітриптиліну, їх хроматографування проводять в відомих системах розчинників. Пластинку висушують до повного видалення запаху розчинників. Одну зону пластинки проявляють реактивом Драгендорфа по Муньє та розраховують R (відносн.), потім другу і третю плями проявляють двома модифікаціями реактиву Манделіна. Поява фіолетового забарвлення другої плями та помаранчевої третьої свідчить про наявність в екстракті міансерину.

UA 107780 U



Корисна модель належить до медицини, зокрема до визначення лікарських засобів у біологічному матеріалі.

Сильнодіючі препарати антидепресивної дії представляють зацікавленість в хіміко-токсикологічному відношенні. Передозування цими препаратами, вживання їх з метою суїциду як індивідуальних препаратів, так і в суміші з іншими препаратами, невпинно зростає.

Одним з таких препаратів є міансерин - сполука з групи тетрациклічних антидепресантів, до якої належать також міртазапін та макротилін. Міансерин це 1, 2, 3, 4, 10, 14, в-гексагідро-2-метилдibenзо-[с, f]-піразіно-[1-а]азепіну гідрохлорид. Методів виявлення цієї групи антидепресантів, які б могли вірогідно виявляти їх в скринінгу, який здійснюється методом хроматографії в тонких шарах сорбенту, не існує. Реактиви візуалізатори, які застосовуються в скринінгу, не дають змоги вірогідно виявити цю групу лікарських засобів. Див. табл. 1.

Таблиця 1

Препарат	Забарвлення з реактивами		
	Драгендорфа по Муньє	1 % розчин нігідрину у ацетоні	Маркі
Міасерин	помаранчеве	-	фіолетове
Міртазапін	помаранчеве	-	буре
Мапротилін	помаранчеве	рожеве	-

Хроматографічна рухливість препаратів цієї групи теж не дає підстав для їх виявлення. Див. табл. 2.

Таблиця 2

Препарат	Величина hRm в системах			
	1	2	3	4
Міасерин	74	85	47	62
Міртазапін	65	85	40	55
Мапротилін	25	24	25	31

Системи: 1. Метанол - 25 % розчин амоніаку (100:1,5),  
 2. Етилацетат - метанол - 25 % розчин амоніаку (85:10:5),  
 3. Циклогексан - толуол - діетиламін (75:15:10),  
 4. Толуол - ацетон - етанол - 25 % розчин амоніаку (45:45:7,5:2,5).

Відомим є спосіб виявлення і визначення макротиліну методами газорідинної хроматографії та в тонких шарах сорбенту, де для виявлення антидепресантів використовують реактив Драгендорфа та пари йоду, що не дає змоги для їх вірогідного виявлення (П.М. Суханов, С.А. Шкляєв, В.В. Болотов. Применение тонкослойной и газожидкостной хроматографии для обнаружения и количественного определения макротилина // Фізіологічно активні речовини №2. - 2002. - С.34-37).

Найбільш близьким та вибраним за прототип є спосіб проведення дослідження по розробці фізико-хімічних методів аналізу міансерину, в тому числі і методом хроматографії в тонких шарах сорбенту (Н.В. Гончарук, І.Й. Галькевич. Розробка методів міансерину // Фармацевтичний журнал №2. - 2008. - С. 58-61). Як реактиви-візуалізатори автори наводять реактиви Драгендорфа по Муньє та реактив Манделіна, який приготовлено згідно з джерелом (В.Ф. Крамаренко. Хіміко-токсикологічний аналіз. Практикум. - Киев: "Вища школа", 1982. - 272 с).

Недоліком цього способу є те, що виявлення стосується тільки міансерину та не беруться до уваги найближчі структурні аналоги з групи тетрациклічних антидепресантів. Крім цього, в теперішній час, реактив Манделіна може бути використано в модифікації, приведений в джерелі (Clarke's Analysis of Drugs and Poisons in Pharmaceuticals, body fluids and postmortem material / Fourth Editions. Consulting Editions Anthony C Moffat, M. David Osselton, Brian Widdop / © Pharmaceutical Press. - 2011). Результати застосування цієї модифікації реактиву наведені в роботі (Петюнин Г.П., Чубенко А.В., Гузенко Н.В. Исследование некоторых лекарственных и наркотических препаратов - аналогов по структуре и действию методом хроматографии в тонких слоях сорбента // Теорія та практика судової експертизи і криміналістики: зб. наукових праць. - 2011. - Вип. 11. - С. 378-384). Для виявлення деяких препаратів, які наведені в таблиці

2, застосовують реактив Манделіна, в якому хроматографічну платівку перед нанесенням реактиву вносять в пари формальдегіду.

В основу корисної моделі поставлена задача розробки способу виявлення деяких похідних тетрациклічних антидепресантів у біологічному матеріалі, в якому за рахунок введення паралельного застосування двох модифікацій реактиву Манделіна, досягається отримання різнокольорових забарвлень міансерину та його структурних аналогів.

Поставлена задача вирішується в способі виявлення деяких похідних тетрациклічних антидепресантів у біологічному матеріалі, який здійснюють шляхом піддавання відповідного біологічного матеріалу рідинно-рідинній екстракції з наступним дослідженням методом хроматографії в тонких шарах сорбенту, згідно з корисною моделлю, після нанесення на лінію старту трьох плям досліджуваного екстракту та стандартної речовини амітриптиліну, їх хроматографування проводять в відомих системах розчинників, пластинку висушують до повного видалення запаху розчинників, одну зону пластинки проявляють реактивом Драгендорфа по Муньє та розраховують R (відносна), потім другу і третю плями проявляють двома модифікаціями реактиву Манделіна, поява фіолетового забарвлення другої плями та помаранчевої третьої, свідчить про наявність в екстракті міансерину.

Крім цього, проведені дослідження по візуалізації вищенаведених препаратів з концентрованою сірчаною кислотою. Див табл. 3.

Таблиця 3

Препарат	Забарвлення з реактивами		
	Манделіна варіант 1	Манделіна варіант 2	Конц. сірчана кислота
Міасерин	фіолетове	помаранчеве	фіолетове
Міртазапін	помаранчеве	помаранчеве	буре
Мапротилін	зелено-синє	зелено-синє	-

3 метою підвищення селективності виявлення міансерину були приведені відносні параметри хроматографічної рухливості з використанням зовнішнього стандарту - амітриптиліну, вони розраховувалися як частка R (відносна) діленого  $hR_f$  (x) на дільник  $hR_f$  (з.стандарт). Результати наведені в таблиці 4.

Таблиця 4

Препарат	Величина $hR_m$ та R(відносна) в системах							
	1		2		3		4	
Амітриптилін	51	0	91	0	88	0	670	0
Міасерин	74	1,45	85	0,93	47	0,53	62	0,92
Міртазапін	65	1,27	85	0,93	40	0,45	55	0,52
Мапротилін	25	0,49	24	0,26	25	0,28	31	0,46

Системи: 1. Метанол - 25 % амонію гідроксид (100:1,5),

2. Етилацетат - метанол - 25 % амонію гідроксид (85:10:5),

3. Циклогексан - толуол - діетиламін (75:15:10),

4. Толуол - ацетон - етанол - 25 % амонію гідроксид (45:45:7,5:2,5).

Спосіб, що заявляється, проводиться таким чином.

20 мл сечі пацієнта підкислюють хлороводневою кислотою до pH=1-2 і проводять екстракцію 20 мл діетилового ефіру. Верхній ефірний шар відокремлюють і використовують для визначення речовин кислої природи. Водну фазу підлучують 25 % розчином амоніаку до pH=9-10 і екстрагують двічі з 20 мл суміші хлороформ - 2-пропанол (9:1). Отриманий екстракт випарюють на повітрі і сухий залишок розчиняють у 0,5 мл хлороформу, 50 мкл наносять на лінію старту хроматографічної платівки "Сорбфіл". Після закінчення хроматографування в одній з систем 1-4 платівку проявляють реактивом Драгендорфа по Муньє та визначають величину  $hR_f$  (відношення відстані, яка пройдена центром плями речовини до відстані, яка пройдена системою розчинників та помножена на 100). Якщо величини  $hR_f$  речовин які досліджуються співпадають з табличними, а також відповідного забарвлення з реактивом (див. табл. 2) роблять попередній висновок про наявність лікарського засобу.

Далі 50 мкл розчину екстракту та розчин внутрішнього стандарту амітриптиліну наносять на лінію старту 2 хроматографічних пластинок "Сорбфіл". Після закінчення хроматографування в

одній з систем розчинників 1-4, пластинку витягають, висушують та проявляють 1 пластинку реактивом Манделіна, фіксуючи забарвлення та величини  $R_f$ . Другу пластинку після висушування розміщують в парах формальдегіду в герметично зачиненій камері протягом 15 хвилин. В подальшому проявляють реактивом Манделіна. Отримані результати візуалізації порівнюють з кольором плями на першій платівці. Розраховують  $R$ (відносна) для плями невідомої речовини та внутрішнього стандарту, по яких здійснюють виявлення.

Результати хроматографічної рухливості речовини, яку виявляють, та стандартної речовини повинні співпадати в межах 2 %.

Приклад 1. Хворий X; 1986 р.н., токсикоман приймає за немедичним призначенням лікарські засоби різних фармакологічних груп. Проведення аналізу сечі дало можливість виявити присутність міансерину та макротиліну по значеннях  $R$ (відносна) та забарвленню з реактивом Манделіна в двох модифікаціях та реакцією з 1 % розчином нінгідрину у ацетоні.

Приклад 2. Хворий Z; 1964 р.н., помер вдома від прийому невідомого антидепресанту. Дослідження сечі трупу дозволило ідентифікувати макротилін по значеннях  $R$  (відносна) та забарвленню з реактивом Манделіна в двох модифікаціях та реакцією з 1 % розчином нінгідрину у ацетоні.

Таким чином, запропонований спосіб визначення міансерину дозволяє його надійно ідентифікувати серед інших тетрациклічних антидепресантів та невідомих лікарських сполук.

## ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб виявлення деяких похідних тетрациклічних антидепресантів (міансерину) у біологічному матеріалі, який здійснюють шляхом піддавання відповідного біологічного матеріалу рідинно-рідинній екстракції з наступним дослідженням методом хроматографії в тонких шарах сорбенту, який **відрізняється** тим, що після нанесення на лінію старту трьох плям досліджуваного екстракту та стандартної речовини амітриптиліну, їх хроматографування проводять в відомих системах розчинників, пластинку висушують до повного видалення запаху розчинників, одну зону пластинки проявляють реактивом Драгендорфа по Муньє та розраховують  $R$  (відносна), потім другу і третю плями проявляють двома модифікаціями реактиву Манделіна, поява фіолетового забарвлення другої плями та помаранчевої третьої свідчить про наявність в екстракті міансерину.

---

Комп'ютерна верстка А. Крулевський

---

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

---

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601