

**Количественное определение амитриптилина в сыворотке крови  
методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии**

Гофенберг М.А.<sup>1</sup>, Масалимова А.Р.\*, Уразаев Т.Х.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ГОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия»

*Росздрава, г. Екатеринбург.*

**Введение.** Амитриптилин – наиболее распространенный в нашей стране антидепрессант группы трициклических антидепрессантов, который применяется в клинической практике для лечения различного рода депрессий. Так как амитриптилин показан в основном людям с неустойчивой психикой, нередко наблюдаются случаи отравления, как при суициде, так и при случайной передозировке. Для адекватной постановки диагноза и своевременного и полного оказания медицинской помощи необходимо знать концентрацию препарата в биологическом материале, то есть провести лабораторное экспресс-определение содержания амитриптилина.

**Цель работы** – разработать указания для количественного анализа амитриптилина в сыворотке крови методом газо-жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией в диапазоне концентраций от 0,01 мкг/мл до 0,5 мкг/мл.

**Материалы и методы.** *Оборудование:* газовый хроматограф Agilent Technologies 6890 N с масс-селективным детектором 5973 MSD (США), оснащенный капиллярной колонкой DB-5 ms EVDX 25,0 м с внутренним диаметром 200 мкм, толщиной пленки 0,33 мкм.

В качестве стандартов для построения калибровочного графика использовали раствор амитриптилина для инъекций 10мг/мл (ZENTIVA a.s., Чешская Республика). Имипрамин, взятый в качестве внутреннего стандарта, извлекали из драже «Мелипрамин» (Egis, Венгрия) и готовили раствор в 1 N кислоте хлористоводородной с концентрацией 100 мг/л.

Белок сыворотки осаждали 3% сульфосалициловой кислотой (добавляли к 0,1 мг/л раствору амитриптилина в сыворотке в соотношении 1:1); 4 N хлористоводородной кислотой (2:1); ацетонитрилом (2:1). Сравнивали эффективность осаждения белка данными реагентами. Критерий выбора

осадителя – масса осадка после центрифугирования и удаления супернатанта. Пробы очищали от липидов экстракцией гептаном.

Условия хроматографического анализа: температура испарителя 300°C, ввод без деления потока под давлением 20 psi в течение 0,5 минуты, начальная температура колонки 70°C, максимальная температура колонки 285°C, скорость подъема температуры 7°C/мин. Газ-носитель – гелий. Режим постоянного потока, линейная скорость 21 см/сек. Объем вводимой пробы 2 мкл.

Сходимость результатов проверяли в серии проб с одной концентрацией, а погрешность прибора — по сходимости результатов при анализе одной пробы. Для построения калибровочной зависимости готовили растворы амитриптилина в сыворотке крови с концентрациями 0,01 мкг/мл, 0,1 мкг/мл и 0,25 мкг/мл. Калибровочный график строили при помощи пакета Enhanced Chemstation (MSD Chemstation D.03.00.611, Agilent Technologies, США).

#### **Результаты исследования и их обсуждение.**

При сравнении различных осаждающих реагентов была выявлена наибольшая эффективность 3% сульфосалицилсвой кислоты — масса осадка составила 0,1184 г. При осаждении хлористоводородной кислотой и ацетонитрилом — 0,0895 г. и 0,0771 г. соответственно. При хроматографическом анализе было установлено, что использование данных осадителей не влияет на концентрацию амитриптилина и внутреннего стандарта в анализируемых пробах.

Для подбора параметров ГХ-МС-анализа записывали хроматограмму экстракта из сыворотки крови при различных температурных условиях в режиме полного ионного тока. Выбирали условия анализа и характеристические ионы амитриптилина и имипрамина таким образом, чтобы не было влияния эндогенных фоновых соединений.

Времена удерживания амитриптилина и имипрамина составили 27,19 и 27,57 минут соответственно. Для регистрации пика амитриптилина был выбран ион с  $m/z$  58, для имипрамина —  $m/z$  235 и 234.

Построение градуировочного графика проводили по трем точкам в трех параллелях для каждой концентрации определяемого вещества. Полученный калибровочный график представлен на рисунке 1.

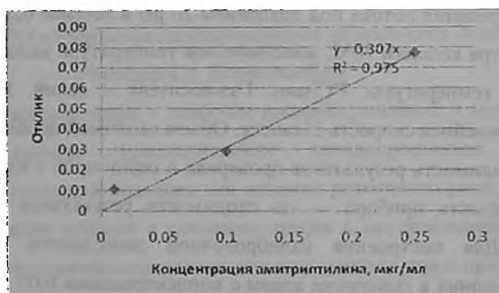


Рис. 1. Зависимость концентрации амитриптилина от величины аналитического сигнала (сыворотка крови).

При анализе 6 проб с известной концентрацией 0,1 мкг/мл было получено среднее значение концентрации ( $M \pm SD$ ) —  $0,097 \pm 0,004$  мкг/мл. Отклонение от целевого значения составило 0,003 мкг/мл. Сходимость результатов составила 4,27%. Погрешность прибора по сходимости результатов анализа одной пробы — 3,55%.

**Выводы.** Таким образом, предложенный метод позволяет определять концентрацию амитриптилина в небольшом объеме биоматериала (1 мл сыворотки) в диапазоне от 0,01 мкг/мл до 0,5 мкг/мл на приемлемом уровне достоверности и может быть использован в клинической практике.

#### Валидация методики определения содержания фенольных соединений в препарате на основе шалфея и эхинацеи

Гусева С.И.<sup>1\*</sup>, Косман В.М.<sup>2</sup>, Буркина П.Н.<sup>1</sup>, Дьячук Г.И.<sup>1</sup>, Макаров В.Г.<sup>1,2</sup>

Шиков А.Н.<sup>1,2</sup>

1. Санкт-Петербургская Государственная Медицинская Академия им. И.И.

Мечникова 2. ЗАО «Межрегиональный Центр «Адаптоген»