

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА ГХ/МС ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ КЛОЗАПИНА И ОЛАНЗАПИНА В ВЕЩЕСТВЕННЫХ ДОКАЗАТЕЛЬСТВАХ

*И. П. Ремезова¹, Д. С. Лазарян¹, М. В. Сварыч¹,
Л. С. Зарбежан², Н. Н. Самарскова²*

¹Пятигорский медико-фармацевтический институт — филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России

²ГБУ РО «Наркологический диспансер»

Разработана методика экспресс-диагностики отравлений клозапином и оланзапином с помощью ГХ/МС. Определены времена удерживания, масс-спектральные характеристики изучаемых веществ, которые позволяют с надежной достоверностью их идентифицировать в вещественных доказательствах.

Ключевые слова: клозапин, оланзапин, отравления, диагностика.

APPLICATION OF THE METHOD OF GC/MS DETECTION OF CLOZAPINE AND OLANZAPINE IN THE PHYSICAL EVIDENCE

*I. P. Remezova¹, D. S. Lazarjan¹, M. V. Svarich¹,
L. S. Zarbezhan², N. N. Samarskova²*

¹Pyatigorsk Medical Pharmaceutical Institute, the branch of VolgSMU
of the Ministry of Public Health of the Russian Federation

We developed a method of instant diagnosis of poisoning with clozapine and olanzapine using GC/MS. We defined retention times, mass spectral characteristics of the studied substances, which makes it possible to reliably identify them in the physical evidence.

Key words: clozapine, olanzapine, poisoning, diagnosis.

Клозапин и оланзапин — атипичные нейролептики, которые широко используются как в России, так и за рубежом. Известны случаи отравлений этими препаратами. За последние годы летальность от клозапина и оланзапина как индивидуально, так и в смеси с этанолом составила 65—69% [2, 5]. Разработка методики для обнаружения клозапина и оланзапина позволит с надежной достоверностью и точностью диагностировать отравления.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Разработка экспресс-методики обнаружения клозапина и оланзапина в вещественных доказательствах небиологического и биологического происхождения с целью установления факта отравления.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе использовались субстанции: клозапин (производства ОАО «Органика», соответствующий требованиям ФСП 42-0008-4739-03) и оланзапин («Sigma» каталожный номер O1141-10MG, соответствующий требованиям НД 000661, 2013-07-30). Приготовление модельных смесей плазмы, мочи и слюны: к 10 мл плазмы, к 25 мл мочи, к 5 мл слюны добавляли раствор клозапина или оланзапина в токсической концентрации [6]. Полученные смеси оставляли на 24 часа при комнатной температуре. Для извлечения клозапина и оланзапина из биологических жидкостей использовали жидкость-жидкостную экстракцию хлороформом при оптимальных условиях [3, 4]. Хлороформ испаряли, сухой

остаток растворяли в 96%-м этаноле и исследовали методом ГХ/МС.

Для исследований использовали хромато-масс-спектрометр Maestro 7820/5975 (США-Россия) с автоинжектором с масс-спектрометрическим детектором MSD, снабженным библиотекой масс-спектров NIST05a.L. 1 мкл спиртового извлечения хроматографировали на газовом хроматографе, оснащенный капиллярной колонкой HP-5-1-MS длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм, с толщиной пленки фазы 0,25 мкм. Температуру колонки программировали от 70 до 290 °С. Ввод автоматический. ГХ/МС анализ проводили в режиме SCAN. Диапазон масс-сканируемых ионов 20—430 а.е.м. Время включения катода и масс-анализатора — 2 мин после ввода пробы. Режим хроматографирования: скорость газа-носителя 0,8 мл/мин, деление потока 1 : 10, с задержкой включения 3 мин после ввода пробы, температура инжектора 250 °С, интерфейс детектора 280 °С. Условия детектирования: энергия электронов ионизации 70 эВ, регистрация масс-спектров в режиме полного сканирования в интервале масс 30550 а.е.м. Управление прибором и сбор данных проводился с помощью программного обеспечения MSD Chemstation vers. D.03.00.611. Обработка результатов и анализ данных — в Data Analysis и AMDIS.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Хроматограммы растворов субстанций клозапина и оланзапина представлены на рис. 1, 2.

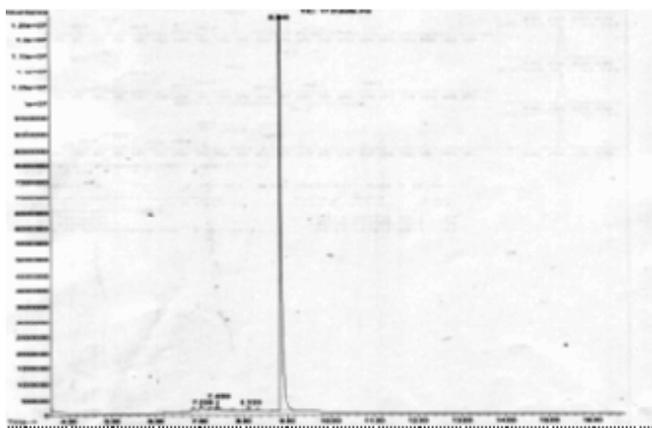


Рис. 1. Хроматограмма раствора клозапина

Масс-спектральные характеристики растворов субстанций клозапина и оланзапина представлены в табл. 1 (ионы расположены по убыванию интенсивности в масс-спектре). Из полученных масс-спектров были выбраны пять ионов с m/z не менее 150, которые имеют наибольшие отношения интенсивности — характеристические ионы. Особенностью масс-спектров кло-

запина и оланзапина является наличие достаточно выраженных молекулярных ионов (рис. 3, 4).

Для анализа ГХ/МС в режиме SIM из представленного перечня характеристических ионов выбирали три иона: базовый и подтверждающие, которые имели высокие интенсивности и не присутствовали в масс-спектрах других веществ с одинаковым значением m/z (табл. 2).

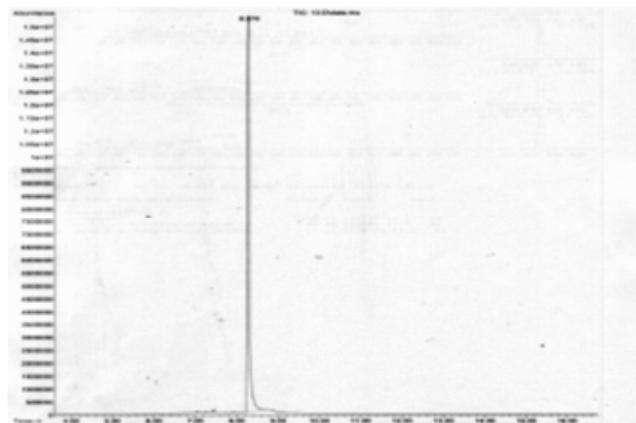


Рис. 2. Хроматограмма раствора оланзапина

Таблица 1

Масс-спектральные характеристики клозапина и оланзапина

№ п/п	Название вещества	Молекулярная масса, а.е.м.	Характеристические ионы, m/z				
1	Клозапин	326	243	256	192	221	326
2	Оланзапин	312	242	229	213	312	268

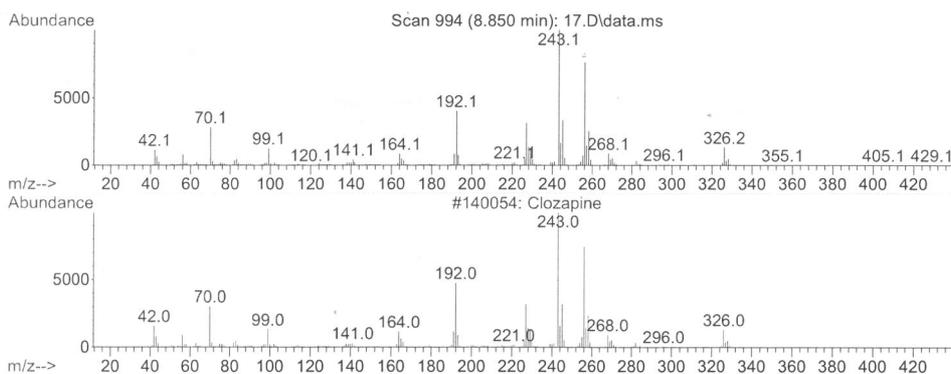


Рис. 3. Масс-спектр субстанции и библиотечный масс-спектр клозапина

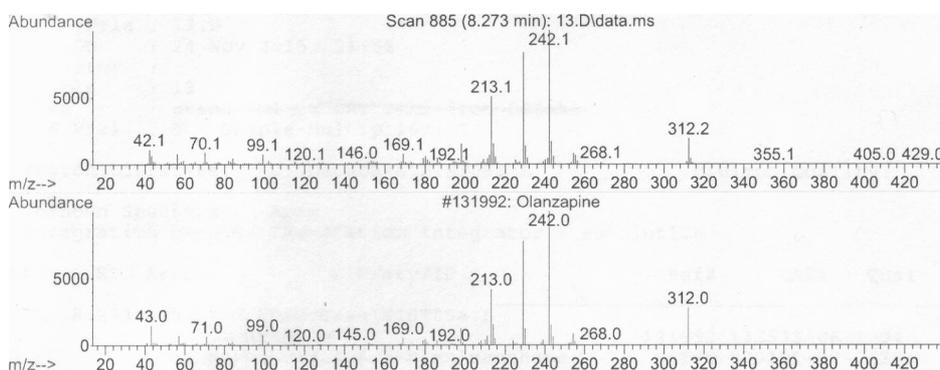


Рис. 4. Масс-спектр субстанции и библиотечный масс-спектр оланзапина

Отношения ионов в масс-спектрах изучаемых веществ

№ п/п	Название вещества	m/z ионов	Величина ионного соотношения, %
1	Клозапин	243/326	76,24
		192/221	40,32
2	Оланзапин	242/229	83,51
		213/312	50,95

Таким образом, разработанные методики ГХ/МС анализа позволяют с надежной достоверностью идентифицировать клозапин и оланзапин в вещественных доказательствах небиологического происхождения (порошках, растворах), что поможет в кратчайшие сроки диагностировать отравления.

Исследована возможность обнаружения клозапина и оланзапина в извлечениях из модельных смесей плазмы и крови методом ГХ/МС в разработанных усло-

виях. Также использовали извлечения из модельных смесей слюны для рассмотрения возможности ее использования как объекта химико-токсикологического анализа, альтернативному плазме крови. Масс-спектры извлечений из модельных смесей плазмы, мочи и слюны, а также библиотечные масс-спектры клозапина и оланзапина для исключения влияния различных артефактов при интерпретации результатов [1] представлены на рис. 5—10.

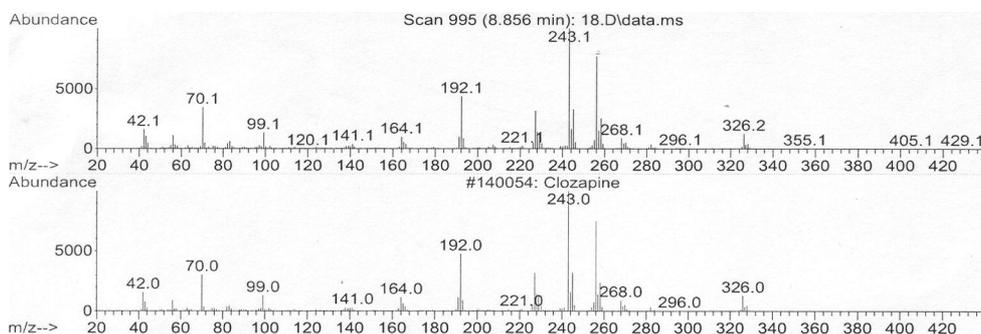


Рис. 5. Масс-спектр извлечения из слюны и библиотечный масс-спектр клозапина

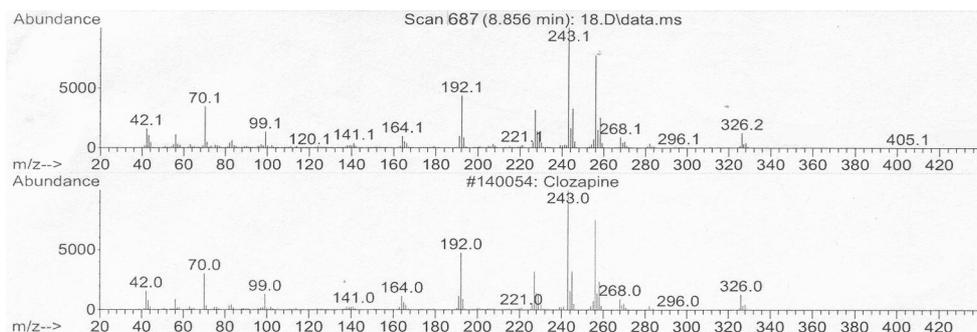


Рис. 6. Масс-спектр извлечения из плазмы и библиотечный масс-спектр клозапина

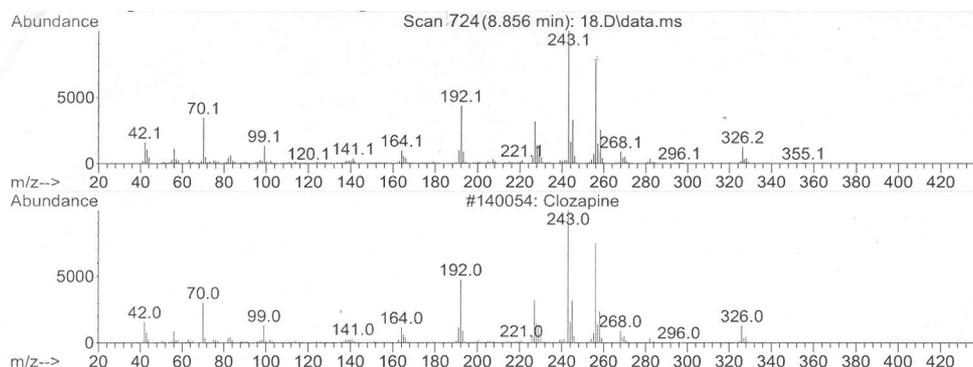


Рис. 7. Масс-спектр извлечения из мочи и библиотечный масс-спектр клозапина

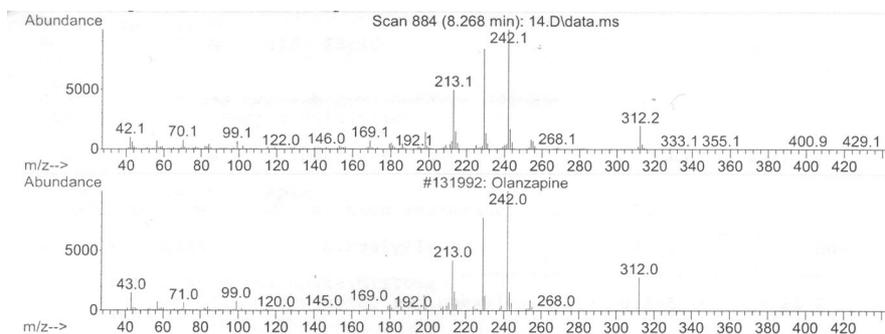


Рис. 8. Масс-спектр извлечения из слюны и библиотечный масс-спектр оланзапина

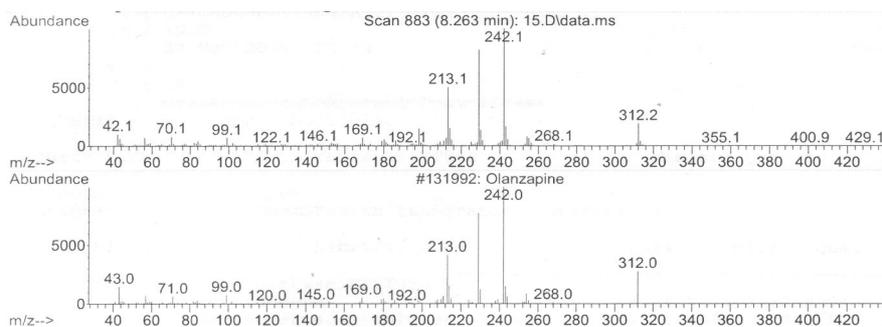


Рис. 9. Масс-спектр извлечения из плазмы и библиотечный масс-спектр оланзапина

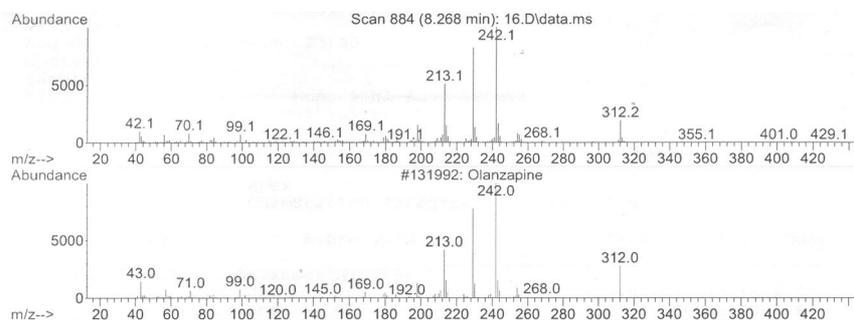


Рис. 10. Масс-спектр извлечения из мочи и библиотечный масс-спектр оланзапина

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, нами предлагается для экспресс-анализа плазмы крови, мочи и слюны на клозапин и оланзапин использовать метод ГХ/МС. Определены времена удерживания, масс-спектральные характеристики изучаемых веществ, которые позволяют с надежной достоверностью их идентифицировать в вещественных доказательствах небиологического и биологического происхождения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мелентьев А. Б. Образование артефактов при подготовке проб в процессе анализа при скрининге мочи методом ГХ/МС // Проблемы экспертизы в медицине. — 2008. — Т. 8, № 29—1. — С. 12—15.
2. Остапенко Ю. Н., Слюндин Д. Г., Ливанов А. С. [и др.] Криминальные отравления клозапином // Медицинская консультация. — 2004. — № 4. — С. 7—9.
3. Ремезова И. П., Лазарян Д. С., Воронков А. В. [и др.] Изолирование, обнаружение и количественное определение оланзапина в биологических объектах // Фундаментальные исследования. — 2015. — № 2 (24). — С. 5416—5420.

4. Ремезова И. П., Лазарян Д. С., Максименко Т. И. [и др.] Разработка методик изолирования и обнаружения клозапина и оксазепам в модельной смеси мочи // Современные проблемы науки и образования. — 2013. — № 4. — Режим доступа: <http://www.science-education.ru/110-9709>.

5. Nagasava S., Yagima D., Torimitsu S. [et al.] Fatal water intoxication during olanzapine treatment: a case report // Leg Med. — 2014. — № 16 (2). — Режим доступа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24388043>.

6. Schulz M., Iwersen-Bergmann S., Andresen H., Schmoltdt A. Therapeutic and toxic blood concentrations of nearly 1,000 drugs and their xenobiotics // Critical care. — 2012. — Vol. 16, № 4. — 136 p.

Контактная информация

Ремезова Ирина Петровна — к. фарм. н, доцент кафедры фармацевтической и токсикологической химии, Пятигорский медико-фармацевтический институт — филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России, e-mail: i.p.remezova@pmedpharm.ru