МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ЗАТВЕРДЖЕНО
Вченою Радою ХНМУ
Протокол № 3 від 26 березня 2026 р.

ПОГОДЖЕНО
Начальник Управління медичних
кадрів, освіти і науки МОЗ України

Сергій УБОГОВ
10 липня 2026 р.

ВИЯВЛЕННЯ ТА ВИЗНАЧЕННЯ АНТИДЕПРЕСАНТІВ В МЕДИЧНИХ ЛАБОРАТОРІЯХ ПСИХОНЕВРОЛОГІЧНИХ ТА НАРКОЛОГІЧНИХ УСТАНОВ І ІНШИХ ЗАКЛАДІВ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я

(Керівні вказівки щодо виконання токсикологічних досліджень в біологічному матеріалі людини)

Харків – 2026

Витяг
з протоколу № 3 засідання Вченої ради
Харківського національного медичного університету
від 26 березень 2026 року

Головує: проректор з наукової роботи, д. мед. н., професор Наконечна О.А., заступник голови Вченої ради.

Секретар Вченої ради: к. мед. н., доц. Перцев Д.П.

Присутні на засіданні: 93 зі 112 членів Вченої ради.

СЛУХАЛИ:

Про затвердження видання «Керівні вказівки щодо виконання токсикологічних досліджень в біологічному матеріалі людини «Виявлення та визначення антидепресантів в медичних лабораторіях психоневрологічних та наркологічних установ і інших закладів охорони здоров'я»». – Баюрка С.В., Карпушина С.А., Чубенко О.В., Гузенко Н.В. (кафедра клінічної лабораторної діагностики та судово-медичної токсикології). – Обсяг – 1,6 друк. арк.

УХВАЛИЛИ:

Затвердити видання «Керівні вказівки щодо виконання токсикологічних досліджень в біологічному матеріалі людини «Виявлення та визначення антидепресантів в медичних лабораторіях психоневрологічних та наркологічних установ і інших закладів охорони здоров'я»». – Баюрка С.В., Карпушина С.А., Чубенко О.В., Гузенко Н.В. (кафедра клінічної лабораторної діагностики та судово-медичної токсикології). – Обсяг – 1,6 друк. арк.

Головуючий на засіданні,
заступник голови Вченої ради — Оксана НАКОНЕЧНА

Секретар Вченої ради — Дмитро ПЕРЦЕВ

Згідно з оригіналом
Секретар Вченої ради — Дмитро ПЕРЦЕВ

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
№01896850

Установи – розробники:

Харківський національний медичний університет МОЗ України

Кафедра клінічної лабораторної діагностики та судово-медичної токсикології ННІ ПО ХНМУ

Укладачі:

д. фарм. н. професор Баюрка С. В.

к. фарм. н., доцент Карпушина С. А.

к. фарм. н., доцент Чубенко О. В.

к. фарм. н., доцент Гузенко Н. В

Рецензенти:

Гончарова Олена Юріївна – кандидат медичних наук, доцент, завідувач кафедри психіатрії та наркології ННІПО Харківського національного медичного університету

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ..... 4
ЗМІСТ 3
ВСТУП..... 4
Загальні положення..... 6
1. Загальна характеристика та класифікації антидепресантів. 6
2. Фізико-хімічні властивості антидепресантів..... 8
3. Токсикологічне дослідження сечі на вміст антидепресантів 18
4. Виявлення антидепресантів за допомогою розрахункових параметрів відносної хроматографічної рухливості 27
ВИСНОВКИ..... 33
ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ..... 34

ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ

ХТШ – хроматографія в тонких шарах сорбенту

Rf – частка довжини хроматографічного шляху речовини до довжини фронту системи розчинників

УФ – ультрафіолетове випромінювання

ГХ-МС – газова хроматографія з мас спектрометричним детектором

ВЕРХ-МС – високоефективна рідинна хроматографія з мас спектрометричним детектором

ВСТУП

Лікарські препарати антидепресивної дії посідають провідну позицію у світі серед отруєнь наркотичними та психотропними речовинами, що обумовлено, насамперед, поширеністю депресивних розладів. За даними ВООЗ, захворювання на депресію посядуть одне з перших місць у світі.

Серед психотропних лікарських препаратів, що використовуються в сучасній фармакотерапії депресій, токсикологічне значення мають як трициклічні антидепресанти, так і анксиолітики останніх генерацій.

Антидепресанти (АД), згідно з результатами епідеміологічних досліджень, наряду з опіатами, бензодіазепінами, кокаїном та етанолом за кількістю смертельних отруєнь посідають одне з перших місць серед загальної кількості летальних отруєнь психоактивними та наркотичними речовинами.

Головною причиною розповсюдженості отруєнь АД є поширеність захворювань на депресію. Згідно з результатами останніх епідеміологічних досліджень, специфічна фармакотерапія, пов’язана з депресивними станами, необхідна кожному восьмому мешканцю планети.

Для суспільства сучасної України, яке знаходиться в умовах війни, характерним є надзвичайно високий рівень психоемоційних навантажень, що призводить до суттєвого погіршення рівня психічного здоров'я населення. Великий відсоток дорослого населення України потерпає від депресії та тривоги, що несприятливо впливає на соціальний, фізичний та емоційний стан людини.

У 80 % летальних отруєнь АД причиною є суїцидальна поведінка, при цьому летальні отруєння АД найчастіше діагностували у наркозалежних пацієнтів, фатальними є сполучення АД з алкоголем та опіатами, а також у хворих, які зловживають психоактивними препаратами.

Загальні положення

Керівні вказівки містять методику здійснення токсикологічних досліджень згідно із Наказом Міністерства внутрішніх справ та Міністерства охорони здоров'я України «Про затвердження Інструкції про порядок виявлення у водіїв транспортних засобів ознак алкогольного, наркотичного чи іншого сп'яніння або перебування під впливом лікарських препаратів, що знижують увагу та швидкість реакції» від 09.11.2015 р. № 1452/735 та «Порядку направлення військовозобов'язаних та резервістів під час проходження зборів, а також військовослужбовців Збройних Сил для огляду на стан алкогольного, наркотичного чи іншого сп'яніння, або щодо перебування під впливом лікарських препаратів, що знижують їх увагу та швидкість реакції, та проведення такого огляду» Затверджено постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2024 р. № 32.

Преаналітичний етап здійснюють згідно вимог «Настанови щодо проведення токсикологічних досліджень в медичних лабораторіях психоневрологічних та наркологічних установах і інших закладах охорони здоров'я. Видання друге, перероблене».

Попередні дослідження здійснюють методом імунохроматографічного аналізу наявними в лабораторії тестами та відповідно до вимог методичних рекомендацій «Методи виявлення наркотичних засобів та психотропних речовин у біологічних рідинах людини. Методи попередньої експрес-діагностики / Петюнін Г.П., Дмитрієвська Ж.В., Чубенко О.В. – К.: УкрЦНМІ. – 2006.»

1. Загальна характеристика та класифікації антидепресантів.

У теперішній час існує близько 50 діючих речовин, що відносяться до АД, та декілька сотень препаратів на їх основі. В Україні зареєстровано близько 40 торгових назв лікарських засобів зазначеної групи.

В основі сучасних поглядів на механізм виникнення депресії лежить гіпотеза про роль порушень нейрохімічних механізмів. Антидепресанти

відрізняються за особливостями терапевтичної дії, але загальним для лікарських речовин цієї групи є тимолептичний ефект.

Різноманітність антидепресантів за хімічною структурою, різний вплив на нейрохімічні процеси, відмінність в терапевтичній ефективності та тяжкості побічних ефектів ускладнює створення універсальної класифікації. Всі запропоновані до теперішнього часу класифікації не є досконалими.

Виходячи з того, що згідно сучасних даних, первинним є нейрохімічний механізм дії антидепресантів, найбільш обгрунтованим принципом класифікації є їх вплив на моноамінергічні процеси мозку – фармакодинамічний принцип.

Таким чином, виділяють наступні групи АД: інгібітори моноамінооксидази (МАО), інгібітори зворотнього захвату норадреналіну (ІЗЗН), селективні інгібітори зворотнього захвату серотоніну (СІЗЗС), вибіркові інгібітори зворотнього захвату серотоніну та норадреналіну (ІЗЗСН), селективні стимулятори зворотнього захвату серотоніну, норадренергічні селективні серотонінергічні АД.

Інгібітори МАО поділяються на неселективні незворотні інгібітори МАО та селективні зворотні інгібітори МАО типу А (ЗІМАО-А).

До інгібіторів зворотнього захвату норадреналіну, які переважно пригнічують зворотній захват вказаного моноаміну, відносяться ТЦА та АД наступного покоління, які селективно інгібують зворотній захват норадреналіну (СІЗЗН).

СІЗЗС вибірково блокують зворотній захват серотоніну.

До ІЗЗСН (АД комбінованої дії) відносяться препарати, що пригнічують зворотній захват як серотоніну, так і норадреналіну (деякі ТЦА та АД нової генерації ІЗЗСН).

До норадренергічних селективних серотонінергічних АД (НаССА), які характеризуються змішаним механізмом дії, належить міртазапін.

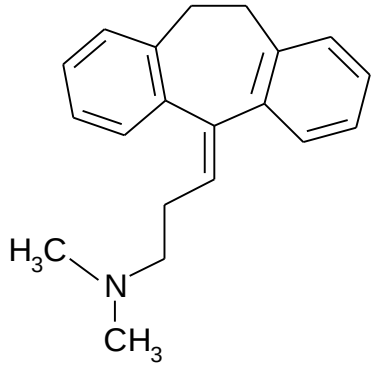
Відсутність у ряду АД помітного впливу на зворотній захват моноамінів та здатність блокувати α_2–адренорецептори та серотонінові рецептори, дає підставу виділити АД з рецепторним механізмом дії (міансерин, міртазапін).

З урахуванням безпеки лікування та переносимості АД поділяють на 2 групи: препарати першого ряду (характеризуються високим ступенем вибіркової нейрохімічної дії, мінімальними побічними ефектами (СІЗЗС, ЗІМАО-А, ІЗЗСН)) та препарати другого ряду (характеризуються високою ефективністю, але мають серйозні побічні ефекти (ТЦА, СІЗЗН)).

За хімічною структурою виділяють наступні групи АД: трициклічні, тетрациклічні, біциклічні, моноциклічні.

2. Фізико-хімічні властивості антидепресантів

Трициклічні антидепресанти. *Амітриптилін* – 3-(10,11-Дигідро-5*H*-дибензо[*a*,*d*]циклогептен-5-іліден)-*N*,*N*-диметил-1-пропанамін.

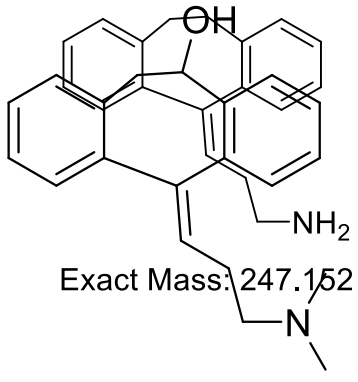


В медичній практиці використовується амітриптиліну гідрохлорид.

$C_{20}H_{23}N$, *HCl*; М. м = 313,9 (температура плавлення 196 – 197 ºС).

$C_{20}H_{23}NH$; М. м = 277,4

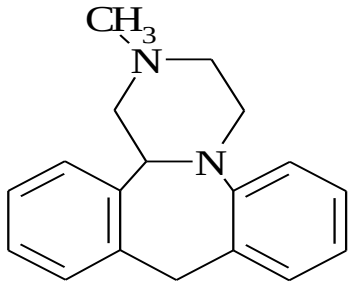
Амітриптиліну гідрохлорид розчинюється у воді (1:1), етанолі (1:1,5), ацетоні (1:56), хлороформі (1:1,2) та метанолі (1:1), практично не розчинюється в діетиловому етері; pK_a = 9,4 (25 ºС); Log P (октанол / вода) = 2,18 (амітриптиліну гідрохлорид), Log P (октанол / вода) = 4,92 (основа амітриптиліну).



Метаболіт амітриптілину – *N*,*N*-дидезметиламітриптилін

Exact Mass: 293.178

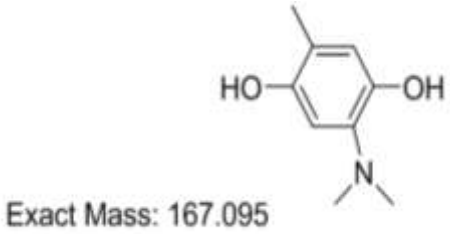
Тетрациклічні антидепресанти. *Міансерин* – 1,2,3,4,10,14*b*-Гексагідро-2-метилдібензо[*c*,*f*]-піразино[1,2-*a*]-азепін.



$C_{18}H_{20}N_2$, *HCl*; М. м. = 300,8 (температура плавлення 282 – 284 ºС). Сполука є рацематом, *S*-енантіомер проявляє більшу фармакологічну активність. В медичній практиці використовується міансерину гідрохлорид (*Лерівон*, *Норвал*).

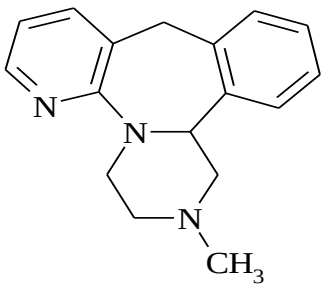
$C_{18}H_{20}N_2$; М. м. = 264,4

Міансерину гідрохлорид розчинюється у воді (1:50), етанолі (1:100) та хлороформі (1:20); pK_a = 7,1 .



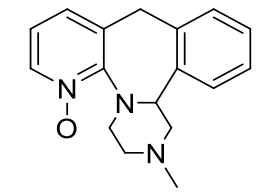
Метаболит міансерину – 2-*N*,*N*-диметил-аміно-1,4-дигідрокси-5-метилбензен

Міртазапін (*Ремерон*) – 1,2,3,4,10,14*b*–Гексагідро-2-метилпіразино[2,1-*a*]піридо[2,3-*c*] [2]-бензазепін.



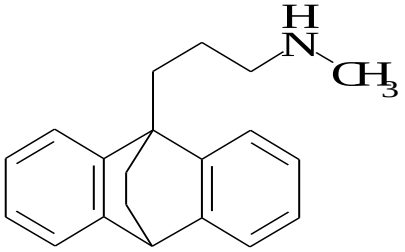
Сполука є рацематом, *S*(+)- та *R*(–)-енантіомери є фармакологічно активними (температура плавлення 114 – 116 ºС). Міртазапін слабко розчинюється в воді, розчинюється в метанолі та хлороформі; pK_α = 7,1 Log P (октанол/вода) = 3,3 .

$C_{17}H_{19}N_3$; М. м. = 265,4



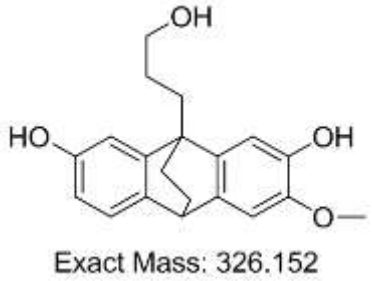
Метаболіт мітразапіну – *N*-оксид міртазапіну

Мапротилін – *N*-Метил-9,10-етанантрацен-9(10*H*)-пропанамін. Температура плавлення основи 92 – 94 ºС. В медичній практиці використовується мапротиліну гідрохлорид (*Людиоміл*). $C_{20}H_{23}N$, *HCl*; М. м. = 313,9 (температура плавлення 230 – 232 ºС).



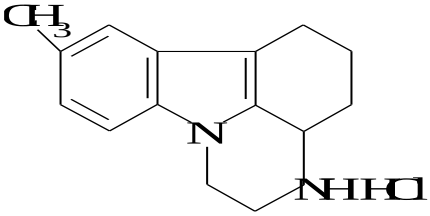
$C_{20}H_{23}N$; М. м. = 277,4

Мапротиліну гідрохлорид слабко розчинюється у воді, легко розчинюється в метанолі та хлороформі pK_a = 10,5 Log P (октанол / вода) = 4,5.



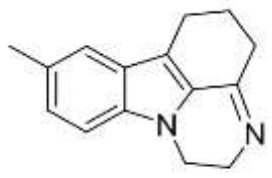
Метаболіт мапротиліну – дезамінотетрагідроксипохідне мапротиліну, яке у подальшому піддалося *O*-метилюванню

Піразидол (*Пірліндол*) – 1,10-Триметилен-8-метил-1,2,3,4-тетрагідропіразино[1,2-*a*]індолу гідрохлорид.



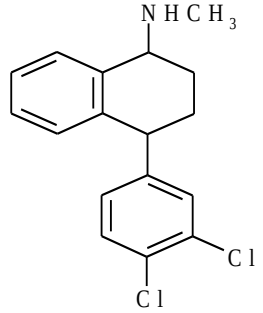
Піразидолу гідрохлорид не розчинюється в хлороформі, практично не розчинюється в воді.

$C_{15}H_{18}N_2$, HCl; М. м. = 262



Метаболит піразидолу – дегідропіразидол

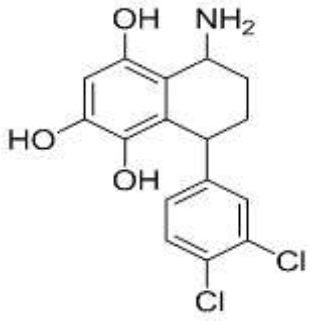
Біциклічні антидепресанти. *Сертралін* – (1*S*,4*S*)-4-(3,4-Дихлорфеніл)-1,2,3,4-тетрагідро-*N*-метил-1-нафталенамін.



$C_{17}H_{17}Cl_2N$; М. м. = 306,2

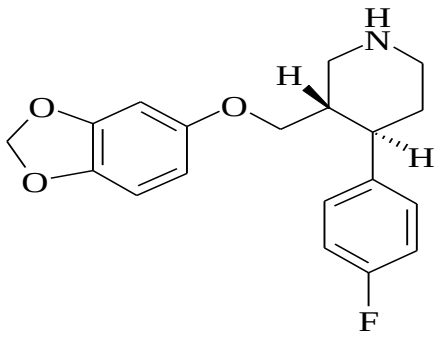
Сполука має два хіральних центри, найбільшу фармакологічну активність проявляє цис-1*S*, 4*S*-енантіомер. В медичній практиці використовується у вигляді сертраліну гідрохлориду (*Стимулотон*,*Золофт*).

$C_{17}H_{17}lC_2N$, *HCl*; М. м. = 342,7; температура плавлення: початок зміни 160 – 180 ºС, часткове плавлення 218 ºС, повністю плавиться при 243 – 245 ºС. Розчинність у воді сертраліну гідрохлориду залежить від pH середовища, при pH 5,3 вона становить 3,8 мг/мл; сертраліну гідрохлорид розчинюється у суміші хлороформ – метанол (1:1), метанольному 0,1 М розчині кислоти хлоридної, диметилсульфоксиді, етанолі та диметилформаміді, практично не розчинюється у 0,1 М водному розчині кислоти хлоридної, 0,1 М водному розчині натрій гідроксиду, *і*-пропанолі, ацетоні, етилацетаті та ацетонітрилі; значення pK_a становлять 9,48 ± 0,04 (вода), 8,5 (етанол – вода (1:1)), 8,6 (метанол – вода (40:60)); Log P (октанол/вода) = 5,29 .



Метаболіт сертраліну – *N*-дезметилтригідроксисертралін

Пароксетин – (3*S*-*транс*)-3-[(1,3-Бензодіоксол-5-ілокси)метил]-4-(4-флуорфеніл)-піперидин.

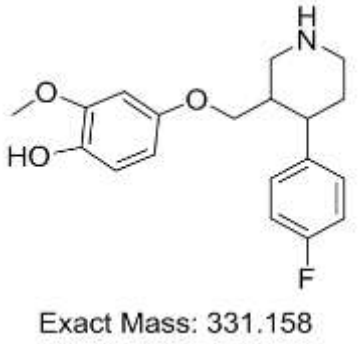


Сполука має два центри хіральності, в медичній практиці використовується 3*S*, 4*R*-ізомер у вигляді гідрохлориду гемігідрату (*Паксил*);

$C_{19}H_{20}FNO_3$, HCl $^1/_2H_2O$; М. м. = 374,8 (темп. плавлення 129 – 131 ºС) .

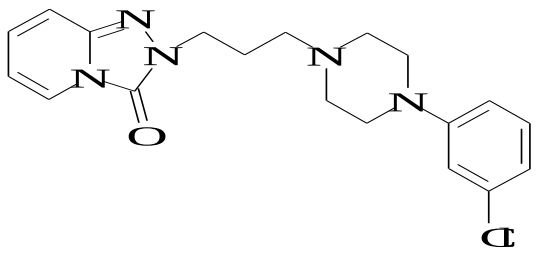
$C_{19}H_{20}FNO_3$; М. м. = 329,4

Пароксетину гідрохлориду гемігідрат мало розчинюється у воді, вільно розчинюється у метанолі, обмежено розчинюється у безводному етанолі та метиленхлориді [268]; pK_a = 9,9; Log P (октанол / вода) = 3,95 .



Метаболіт пароксетину – 3-(4′- гідрокси -3′-метоксифеноксиметил)-4-(4″-флуорофеніл)-піперидин, що утворився в результаті розкриття 1,3-діоксоланового гетероциклу молекули препарату

Тразодон – 2-[3-[4-(3-Хлорфеніл)-1-піперазиніл]пропіл]-1,2,4-триазоло[4,3-*a*]-піридин-3(2*H*)-он.

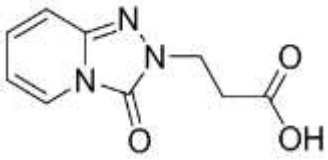


Температура плавлення основи 86–87 ºС, 96 ºС. В медичній практиці використовується тразодону гідрохлорид (*Тріттіко*).

$C_{19}H_{22}ClN_5O$; М. м. = 371,9

$C_{19}H_{22}ClN_5O$, HCl; М. м. = 408,3 (температура плавлення 223 ºС).

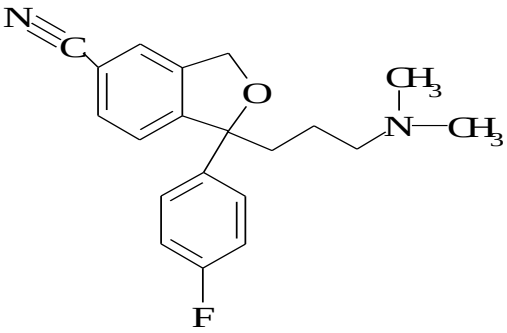
Тразодон-основа розчинний у етанолі (1:50), легко розчинюється в ацетоні та бензені . Тразодону гідрохлорид обмежено розчинюється у воді, етанолі та метанолі, розчинюється у хлороформі, практично не розчинюється у звичайних органічних розчинниках; pK_a = 6,1; Log P (октанол/вода) = 3,2 .



Exact Mass: 207.064

Метаболіт тразодону – 3-оксо-1,2,4-триазоло[4,3-а]піридин-2-пропіонова кислота

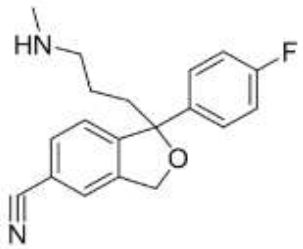
Циталопрам – 1-[3-(Диметиламіно)пропіл]-1-(4-фторфеніл)-1,3-дигідро-5-ізобензофуранкарбонітрил.



Циталопрам є рацемічною сумішшю (*S*/*R*=1), в медичній практиці використовується циталопраму гідробромід (*Ципраміл*); $C_{20}H_{21}FN_2O$, *HBr*; М. м. = 405,3 (температура плавлення 186 ºС).

$C_{20}H_{21}FN_2O$; М. м. = 324,4

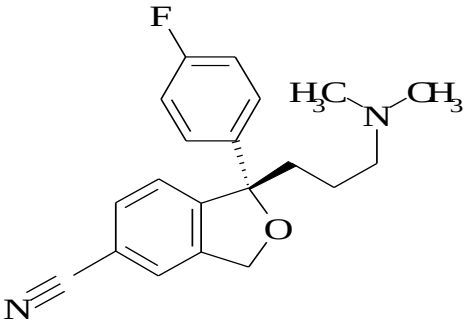
Циталопраму гідробромід обмежено розчинюється у воді, розчинюється в етанолі (96 %), легко розчинюється у хлороформі; практично не розчинюється у діетиловому етері; pK_a = 9,5; Log P (октанол / фосфатний буфер pH 7,4) = 1,57; log P (октанол/вода) = 3,74).



Exact Mass: 310.148

Метаболіт циталопраму – *N*-дезметилциталопрам

Есциталопрам – (1*S*)-1-(3-(Диметиламінопропіл)-1-(4-фторфеніл)-3*H*-2-бензофуран-5-карбонітрил.



Есциталопрам є *S*-енантіомером циталопраму, в медичній практиці використовується есциталопраму оксалат (*Ципралекс*); $C_{20}H_{21}OFN_2$, $C_2O_4H_2$; М. м. = 414,40

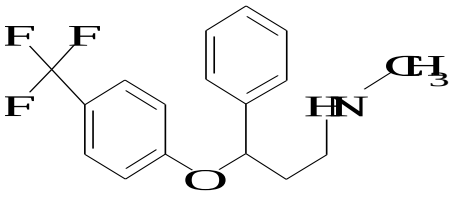
$C_{20}H_{21}FN_2O$; М. м. = 324,4

Есциталопраму оксалат легко розчинюється у метанолі та диметилсульфоксиді, обмежено розчинюється у воді та етанолі, злегка розчинюється в етилацетаті, не розчинюється у *н*-гептані; Log P (октанол / вода) = 4,22 .



Метаболіт есциталопраму – *N*-дезметилесциталопрам

Моноциклічні антидепресанти. *Флуоксетин* – *N*-Метил-*γ*-[4-(трифлуорметил)феноксі]бензенпропанамін.

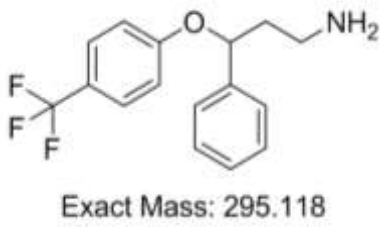


Флуоксетин є рацемічним препаратом (*S*/*R*=1), обидва енантіомери проявляють фармакологічну активність.

$C_{17}H_{18}F_3NO$; М. м. = 309,3

В медичній практиці використовується флуоксетину гідрохлорид (*Прозак*); $C_{17}H_{18}F_3NO$, *HCl*; М. м. = 345,8 (температура плавлення 138 ºС).

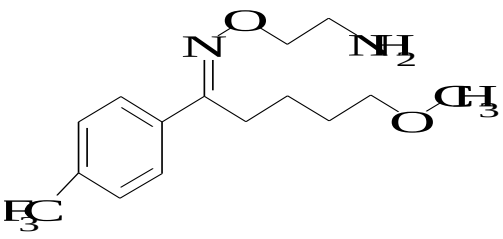
Розчинність флуоксетину-основи у воді становить 78,24 мг/л (25 ºС); Log P (октанол/вода) = 4,05; Log P (октанол/буф. розч. pH 7,4) = 1,82 . Флуоксетину гідрохлорид розчинюється у метанолі, етанолі, ацетонітрилі, хлороформі та ацетоні, слабко розчинюється в етилацетаті, хлористому метилені та воді, не розчинюється в толуені, циклогексані та гексані ; pK_a = 9,5 .



Exact Mass: 295.118

Метаболіт флуоксетину – *N*-дезметилфлуоксетин

Флувоксамін – (*E*)-5-Метокси-1-[4-(трифлуорметил)феніл]-1-пентанон-*O*-(2-аміноетил) оксим.

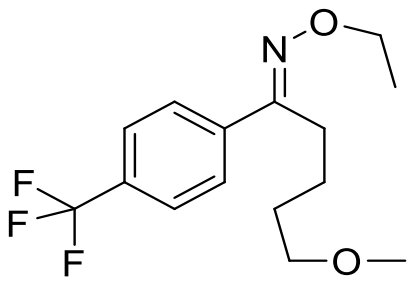


Сполука не містить хірального центру, наявність групи =*C*=*N*– передбачає існування *цис*- та *транс*-ізомерів.

$C_{15}H_{21}F_3N_2O_2$ = 318,3

В медичній практиці використовується флувоксаміну малеат (*Феварин*); $C_{15}H_{21}F_3N_2O_2$, $C_4H_4O_4$; М. м. = 434,4 (температура плавлення 120 – 121,5 ºС).

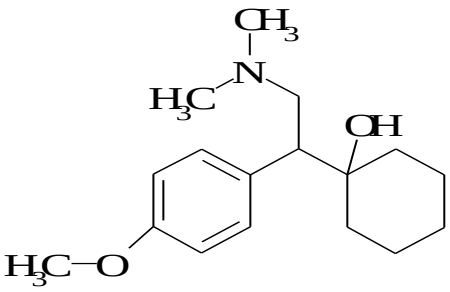
Флувоксаміну малеат обмежено розчинний у воді, легко розчинюється в етанолі, метанолі та хлороформі, практично не розчинюється у діетиловому етері; рK_a = 8,7; Log P (*н*-гептан/вода) = 0,04) .



Exact Mass: 303.145

Метаболіт флувоксаміну – дезамінофлувоксамін

Венлафаксин – 1-[2-(Диметиламіно)-1-(4-метоксифеніл)етил]циклогексанол.

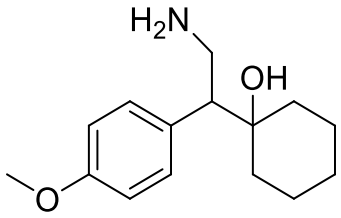


Температура плавлення 102–104 ºС. Препарат існує як рацемічний АД з обома активними *R*(+)- та *S*(–)-енантіомерами. В медичній практиці використовується венлафаксину гідрохлорид (*Ефексор*).

$C_{17}H_{27}NO_2$; М. м. = 277,4

$C_{17}H_{27}NO_2$, *HCl*; М. м. = 313,9 (температура плавлення 215–217 ºС).

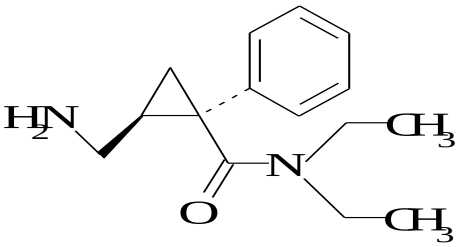
Значення Log P (октанол/вода) для основи становлять 3,28; 2,68; 2,9. Венлафаксину гідрохлорид розчинний у воді 572 г/л [170]; pK_a = 9,4, Log P (октанол / вода) = 0,43 .



Exact Mass: 247.173

Метаболіт венлафаксину – *N*,*N*-дидезметилвенлафаксин

Мілнаципран – (1*R*, 2*S*)-цис-2-(Амінометил)-*N*,*N*-діетил-1-феніл-циклопропанкарбоксамід.

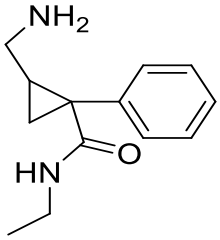


Препарат є сумішшю цис-1*R*- та 2*S*-енантіомерів. В медичній практиці використовується мілнаципрану гідрохлорид (*Іксел*).

$C_{15}H_{22}N_2O$; М. м. = 246,4

$C_{15}H_{22}N_2O$, *HCl*; М. м. = 282,8 (температура плавлення 180 ºС).

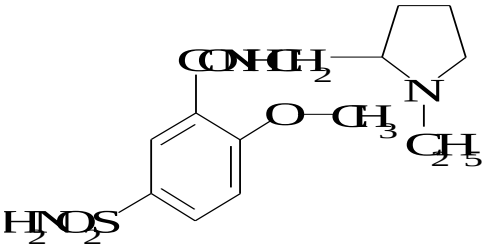
Мілнаципрану гідрохлорид добре розчинюється у воді, метанолі, етанолі, хлороформі та хлористому метилені; обмежено розчинюється у діетиловому етері.



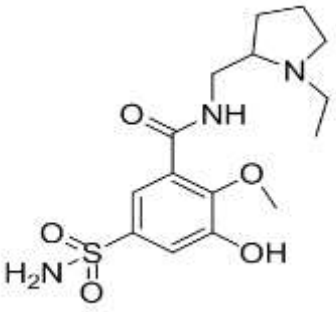
Exact Mass: 218.142

Метаболіт мілнаципрану – *N*-дезетилмілнаципран

Сульпірид – 5-(Аміносульфоніл)-*N*-[(1-етил-2-пірролідиніл)метил]-2-метоксибензамід.



Температура плавлення основи 178 – 180 ºС. Сульпірид розчинюється в воді (біля 1:2200), етанолі (1:100), хлороформі (1:220), діетиловому етері (біля 1:2600) та метанолі,(1:50), практично не розчинюється в бензені, розчинюється в розведених розчинах мінеральних кислот та лугів; pK_a = 8,9 ; Log P (октанол/вода) = 0,57 .



Exact Mass: 357.136

Метаболіт сульпіриду – гідроксисульпірид

3. Токсикологічне дослідження сечі на вміст антидепресантів

Методика 1.

Для токсикологічного дослідження сечі розроблено методику ХТШ-скринінгу нативних сполук антидепресантів у присутності продуктів їх біотрансформації (див. Схему 1). Пробопідготовку проб сечі здійснюють в оптимізованих умовах рідинно-рідинної екстракції після кислотного гідролізу. Кислотний гідроліз сечі (20 мл) проводять, додаючи до кожних 2,0 мл біологічної рідини 0,10 мл концентрованої кислоти хлоридної, та наступному нагріванні суміші протягом 30 хв. на киплячій водяній бані. Потім гідролізат охолоджують і двічі збовтувтують у ділильній лійці з 10 мл діетилового етеру по 5 хв кожного разу. Фазу органічного розчинника відокремлюють і відкидають, не досліджуючи у подальшому (за виключенням ізолювання тразодону та його метаболітів, які виявляли також в екстракті, отриманому з кислого середовища, адже деякі продукти біотрансформації зазначеного антидепресанту проявляють кислотні властивості та екстрагуються з підкислених водних розчинів, а кислий гідролізат, що залишився, підлуговують 20 % розчином натрій гідроксиду до pH 8 – 9 і тричі екстрагують хлороформом по 10 мл кожного разу. Органічні екстракти об'єднують, фільтрують через паперовий фільтр, який містить 0,5 г безводного натрій сульфату. Отримані органічні екстракти випаровують на водяній бані при температурі, не вищій, ніж 40 ºС, до видалення органічного розчинника. Сухий залишок розчиняють в хлороформі та наносять на лінію старту хроматографічної пластинки.

Проводять ХТШ-розділення в рухомій фазі етилацетат – метанол – 25 % розчин амоній гідроксиду (85 : 10 : 5) з використанням хроматографічних пластин Merk. Вибір рухомої фази обумовлений тим, що досліджувані АД, крім мапротиліну та мілнаципрану, мають значення Rf для нативних сполук вищі, ніж для основних метаболітів. Це робить можливим після проведення візуалізації визначення відносних параметрів хроматографічної рухливості нативних сполук, обравши як стандарт основний метаболіт. Спочатку

хроматограми проявляють за допомогою УФ-світла, при відсутності флюоресценції роблять висновок про невиявлення флуоксетину, піразидолу та тразодону. Далі хроматограму обробляють розчином нінгідрину. Спостерігають появу забарвлення, варіанти спостережень:

- забарвлення оранжеве з $R_f = 0,90 \pm 0,03$ (флуоксетин);
- фіолетове з R_f 0,82 ± 0,04 та 0,35 ± 0,02 (піразидол та дегідропіразидол); $R_f = 0,32 \pm 0,04$ (дідезметиламітриптилін);
- рожево-фіолетове з $R_f = 0,27 \pm 0,03$ (дезметилфлуоксетин); R_f 0,31 ± 0,02 та 0,90 ± 0,02 (мілнаципран та дезетилмілнаципран); $R_f = 0,44 \pm 0,04$ (дезметил(ес-)циталопрам); $R_f = 0,54 \pm 0,04$ (сульпірид та гідрокси-сульпірид);
- синьо-зелене з R_f 0,24 ± 0,04 та 0,40 ± 0,04 (мапротилін та його метаболіт); R_f 0,42 ± 0,02 та 0,32 ± 0,02 (пароксетин та його метаболіт); R_f 0,84 ± 0,03 та 0,65 ± 0,03 (венлафаксин та дідезметилвенлафаксин);
- червоне з $R_f = 0,51 \pm 0,02$ (флувоксамін).

Використання нінгідрину при проведенні попереднього етапу візуалізації дозволило поділити досліджувану групу антидепресантів на дві підгрупи:

- перша – препарати, нативні сполуки яких та (або) продукти їх метаболізму утворюють забарвлення із вказаним реактивом (амітриптилін, мапротилін, піразидол, (ес-)циталопрам, пароксетин, флуоксетин, венлафаксин, флувоксамін, мілнаципран, сульпірид),
- друга – препарати, нативні сполуки та метаболіти яких не утворюють забарвлення з нінгідрином (міансерин, міртазапін, тразодон, сертралін).

Подальший скринінг проводять за двома напрямами відносно до вказаних підгруп АД. Незалежно від позитивного чи негативного результату забарвлення з розчином нінгідрину, смугу, що була оброблена цим реактивом, обробляють модифікованим реактивом Драгендорфа за Мун'є або підкисленим розчином калій йодплатинату. Спостерігають появу оранжевого забарвлення. При відсутності забарвлених плям з розчином нінгідрину та реактивом Драгендорфа за Мун'є роблять висновок про невиявлення антидепресантів.

При скринінгу за першим напрямом після проявлення хроматограми реактивом Драгендорфа за Мун'є відмічають появу додаткових плям відносно до результатів візуалізаціїї з нінгідрином з R_f = 0,91 ± 0,04 (амітриптилін), R_f = 0,70 ± 0,04 ((ес-)циталопрам), R_f = 0,48 ± 0,02 (дезамінофлувоксамін). Встановлюють відносні параметри хроматографічної рухливості для нативної сполуки, обравши за стандарт пляму з меншим значенням величини R_f у всіх випадках, крім вказаних нижче. Виключення складає поява після обробки розчином нінгідрину синьо-зеленого забарвлення (R_f 0,24 ± 0,04 та 0,40 ± 0,03, відповідно, мапротилін та його метаболіт) або рожево-фіолетового забарвлення (R_f 0,31 ± 0,02 та 0,90 ± 0,02, відповідно, мілнаципран та дезетилмілнаципран).

Проводять ТШХ-розділення в рухомій фазі циклогексан – толуен – діетиламін (75 : 15 : 10) (р.ф. 8) (або толуен – ацетон – етанол – 25 % розчин амоній гідроксиду (45 : 45 : 7,5 : 2,5) (р. ф. 10) при попередньому висновку про присутність мілнаципрану або сульпіриду, антидепресантів, що відносяться до першої підгрупи).

При скринінгу за першим напрямом наступну смугу обробляють реактивом Манделіна, а потім парою формальдегіду, фіксуючи забарвлення та його переходи При негативному результаті з модифікованим реактивом Манделіна наступні смуги обробляють реактивами Лібермана та Маркі згідно зі Схемою 1.

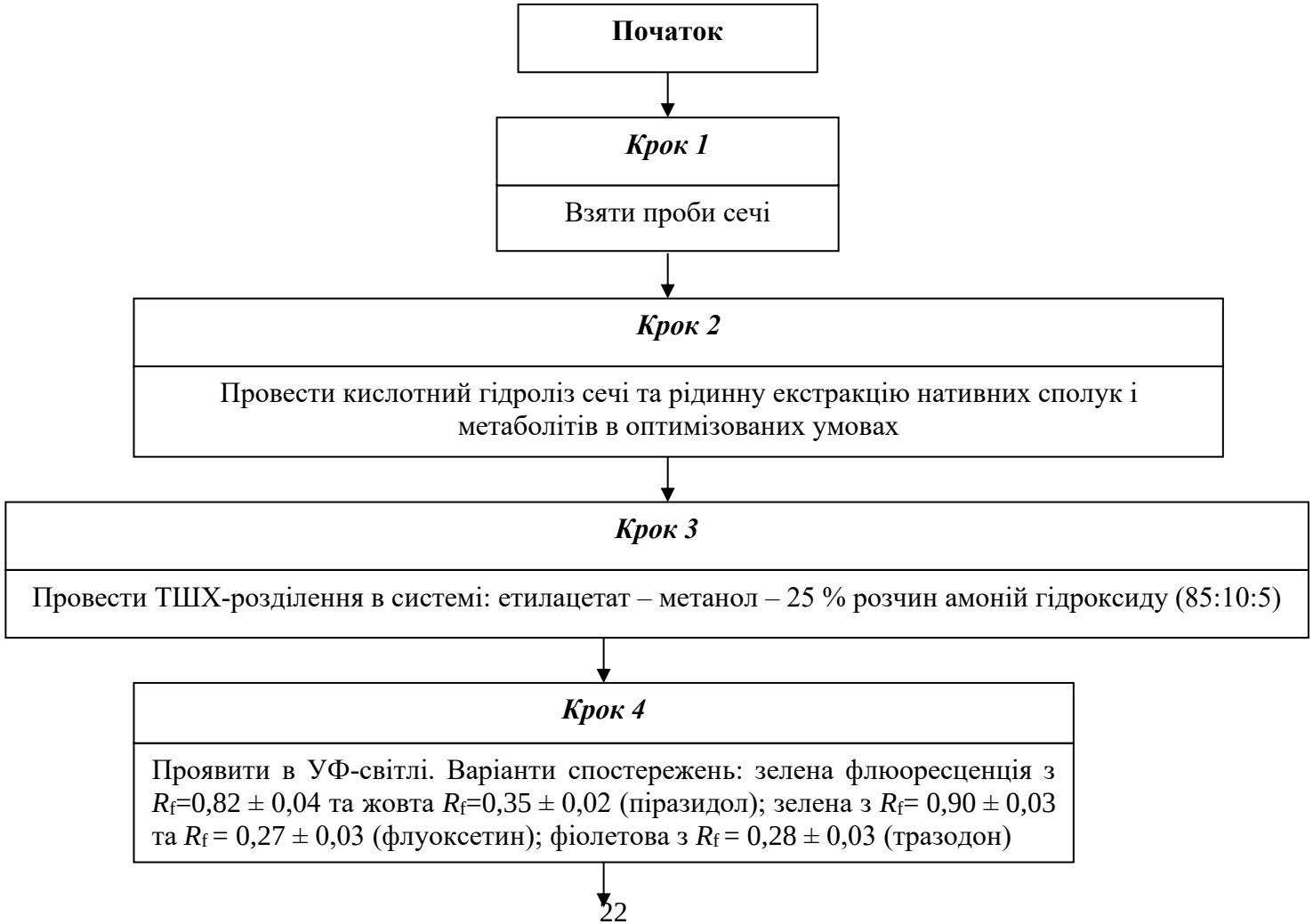
Визначають відносні параметри хроматографічної рухливості для нативних сполук. При негативному результаті реакцій забарвлення з реактивами Манделіна, Лібермана та Маркі роблять висновок про невиявлення наступних АД: амітриптиліну, мапротиліну, піразидолу, пароксетину, флуоксетину, (ес-)циталопраму, венлафаксину, флувоксаміну, мілнаципрану, сульпіриду.

При скринінгу за другим напрямом наступну смугу обробляють реактивом Манделіна, а потім парою формальдегіду, фіксуючи забарвлення та його переходи. При негативному результаті реакції забарвлення з модифікованим реактивом Манделіна наступну смугу обробляють реактивом

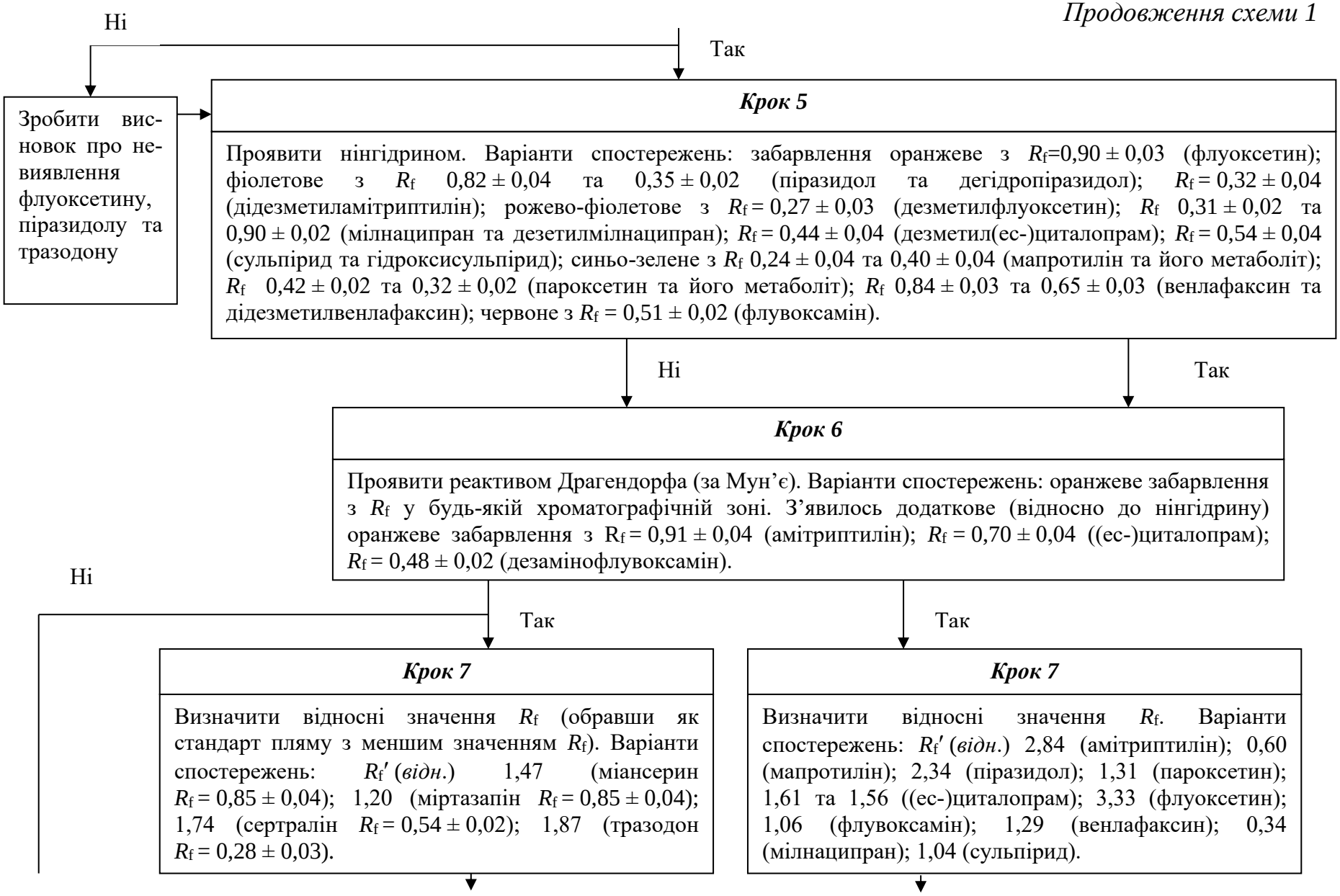
Лібермана. Спостерігають дві плями з забарвленням: фіолетове→коричневе→обезбарвлення та буре (R_f 0,64 ± 0,03 та 0,47 ± 0,03 відповідно), які відповідають сертраліну та його метаболіту. Визначають відносні параметри хроматографічної рухливості для нативних сполук. При негативному результаті реакцій забарвлення з реактивами Манделіна та Лібермана роблять висновок про невиявлення наступних АД: міансерину, міртазапіну, тразодону, сертраліну.

При появі забарвлення на попередньому етапі візуалізації виконують реакції з 2 – 3 додатковими хромогенними реактивами на нативні сполуки антидепресантів та їх метаболіти . Роблять попередній висновок про виявлення АД. Елюють нативні сполуки антидепресантів з непроявленої смуги на хроматограмі та проводять підтверджуюче дослідження методами ГХ-МС або ВЕРХ-МС.

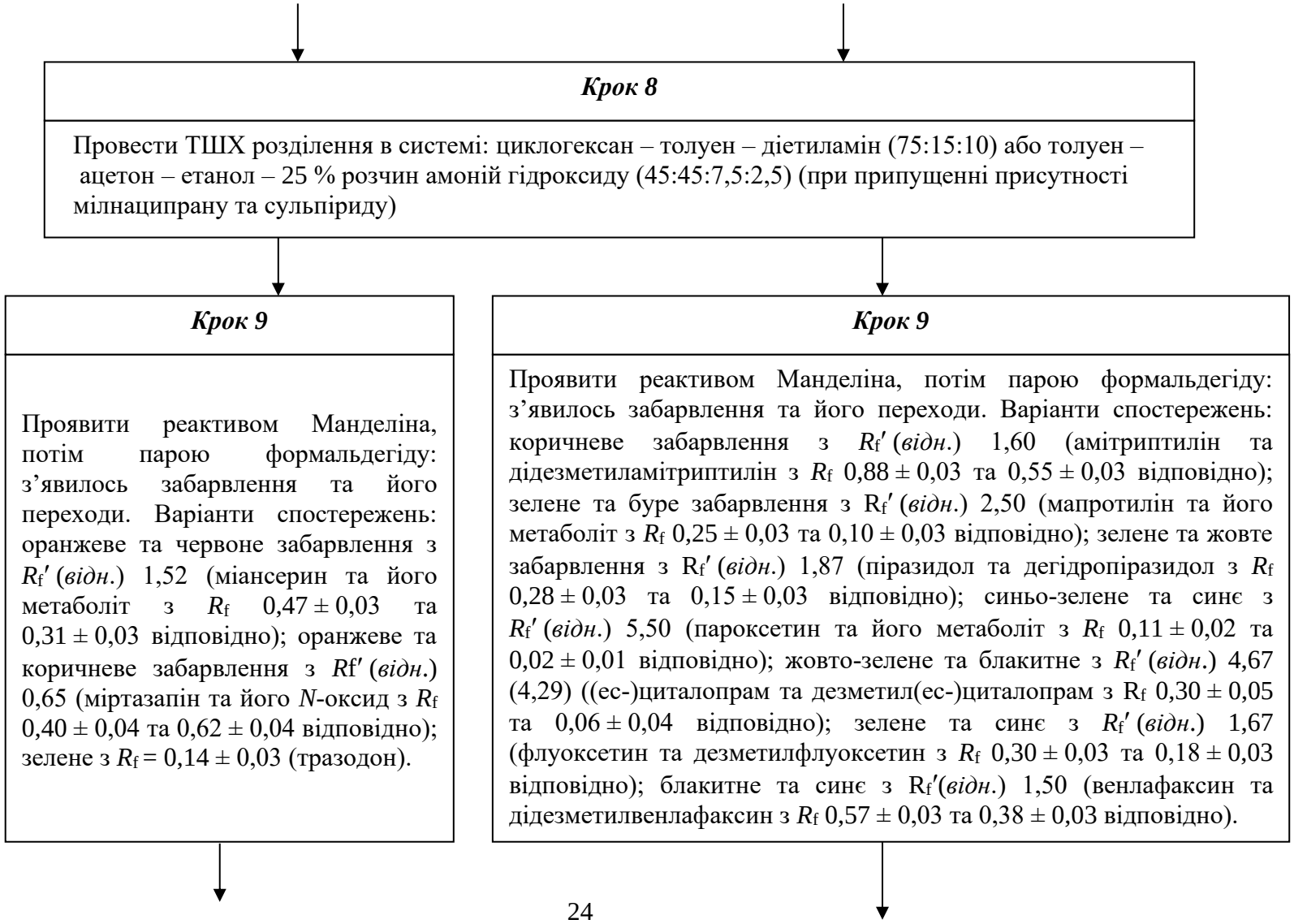
Схема 1. Токсикологічне дослідження сечі на вміст антидепресантів



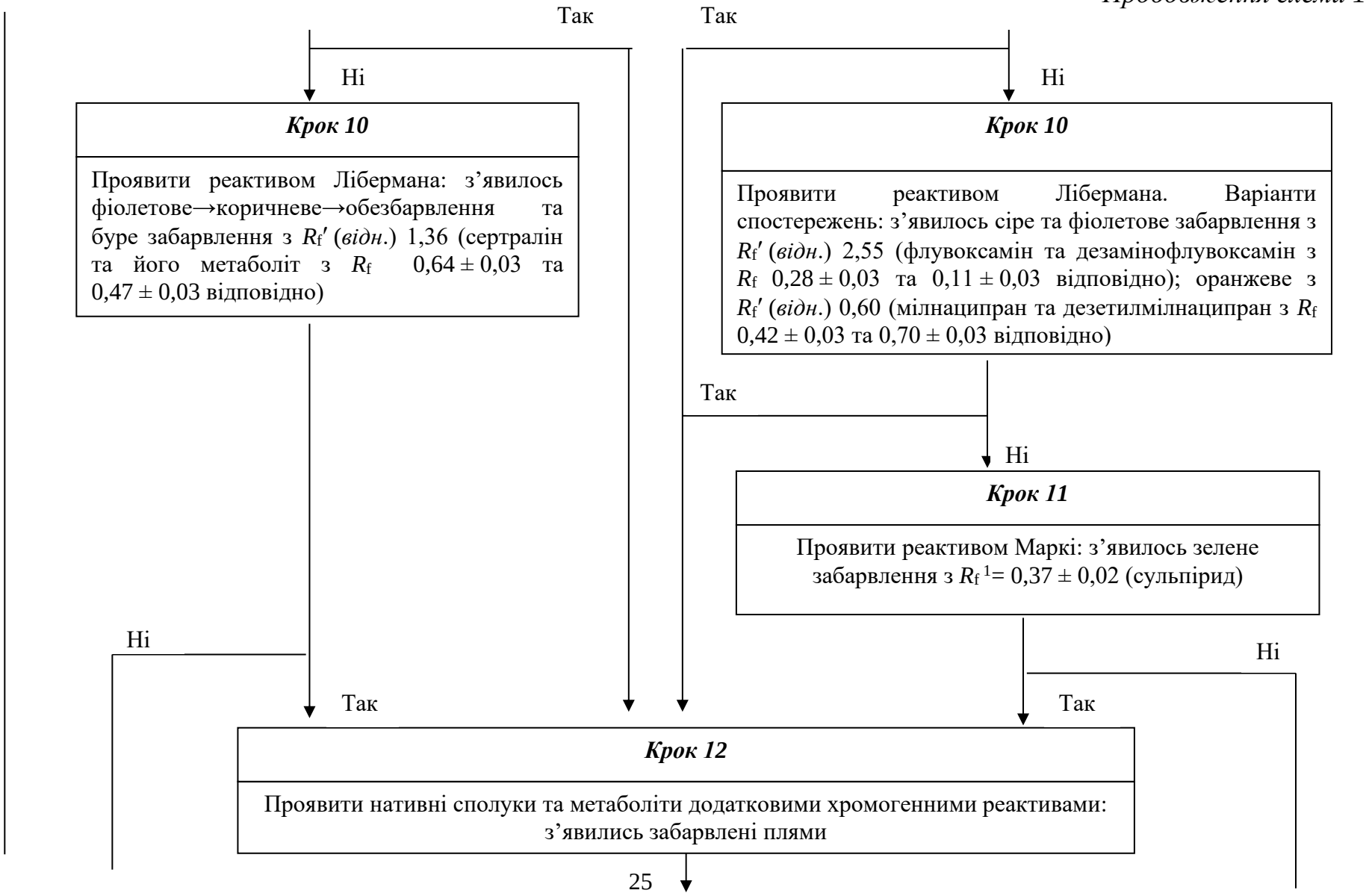
Продовження схеми 1



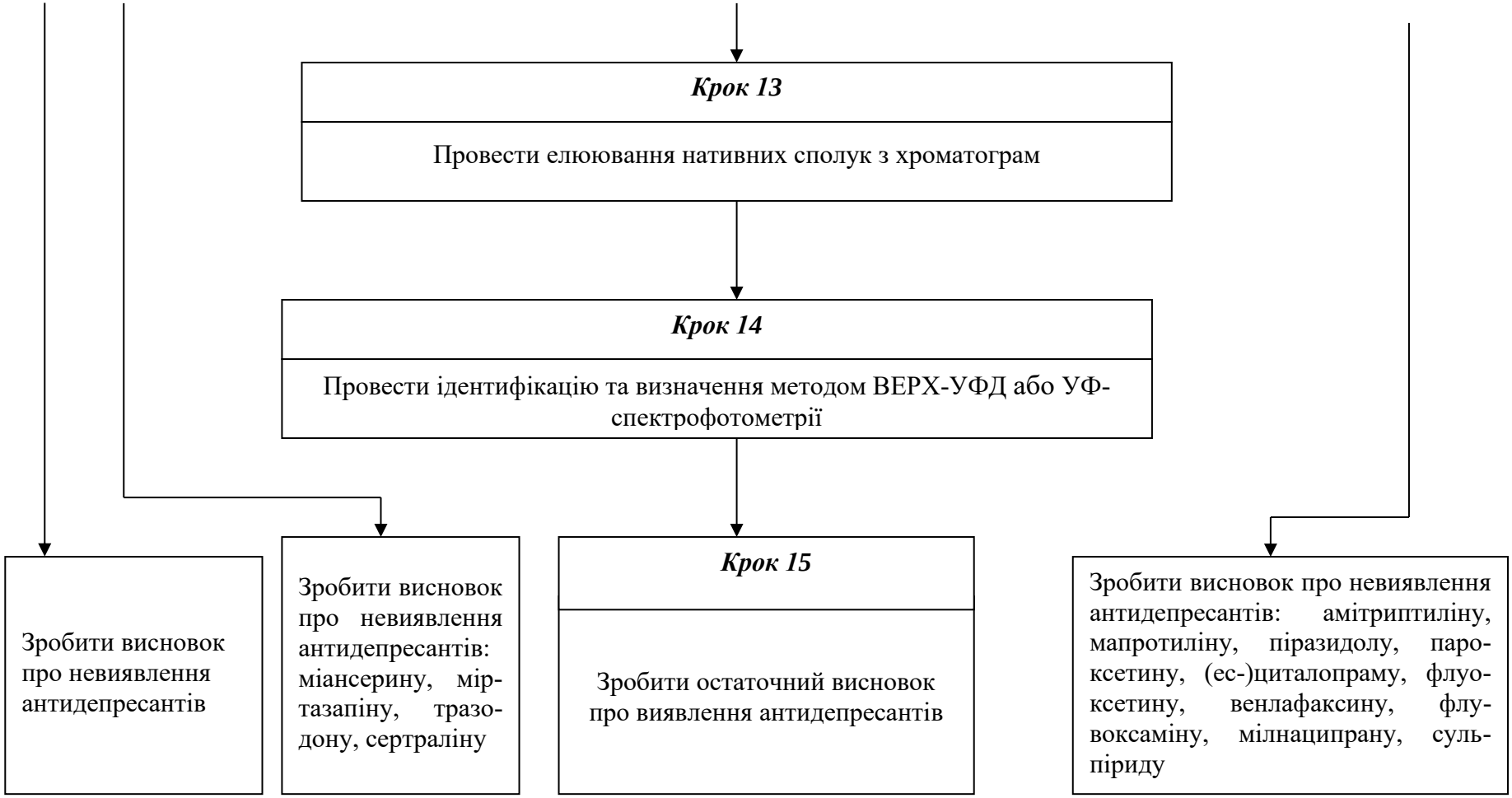
Продовження схеми 1



Продовження схеми 1



Продовження схеми 1



Примітка. Значення Rf отримані в ТШХ-системі: толуен – ацетон – етанол – 25 % розчин амоній гідроксиду (45:45:7,5:2,5)

Дослідження завершують остаточним висновком про виявлення (невиявлення) антидепресантів в сечі.

4. Виявлення антидепресантів за допомогою розрахункових параметрів відносної хроматографічної рухливості

Методика 2.

Пробопідготовку проб сечі здійснюють згідно Методики 1, після чого залишок розчиняють у 0,5 мл хлороформу, 50 мкл сконцентрованого екстракту наносять на лінію старту двох хроматографічних пластинок «Сорбфіл» разом зі стандартом – розчином амітриптиліну з його метаболітом. Після закінчення хроматографування в двох системах 1 та 2 пластинку проявляють реактивом Драгендорфа за Мун'є, якщо на пластинках з'являються по дві плями невідомої речовини та дві плями стандарту, тоді визначають величину hR_f (відношення відстані, яка пройдена центром плями речовини, до відстані, яка пройдена рухомою фазою та помножена на 100). Далі проводять розрахунок за формулою та порівнюють результати з показниками індексів у табл. 2. Результати хроматографічної рухливості речовини, яку виявляють, та стандартної речовини, повинні співпадати в межах 2%. Після цього роблять попередні висновки про виявлення індивідуальної речовини з групи антидепресантів.

Далі 50 мкл розчину екстракту та розчин внутрішнього стандарту амітриптиліну наносять на лінію старту хроматографічної пластинки «Сорбфіл». Після закінчення хроматографування в будь-якій з двох рухомих фаз, що вказані вище (табл. 1), пластинку виймають, висушують та проявляють реактивом Манделіна, попередньо витримавши в парах формальдегіду у герметично зачиненій камері, протягом 15 хв, та фіксуючи забарвлення, які утворились (табл. 3).

Таблиця 1

Хроматографічна рухливість нативних сполук антидепресантів hR_f (x), їх метаболітів hR_f (Mx) та відносні хроматографічні рухливості hR_f' (x) в скринінгових ТШХ-системах

Препарат/ метаболіт	Рухомі фази*			
	1		2	
	hR_f (x)/hR_f (Mx)	hR_f' (x)$_1$**	hR_f (x)/hR_f (Mx)	hR_f'(x)$_2$**
Амітриптилін (*станд.*) / М	91 / 32	284	88 / 55	160
Міансерин / М	85 / 58	147	47 / 31	152
Міртазапін / М	85 / 7	120	40 / 62	65
Мапротилін / М	24 / 40	60	25 / 10	250
Піразидол / М	82 / 35	234	28 / 15	187
Сертралін / М	54 / 31	174	64 / 47	136
Пароксетин / М	42 / 32	131	11 / 2	550
Тразодон / М	28 / 15	187	14 / 2	700
Циталопрам / М	71 / 44	161	30 / 7	429
Есциталопрам / М	70 / 45	156	28 / 6	467
Флуоксетин / М	90 / 27	333	30 / 18	167
Флувоксамін / М	51 / 48	106	28 / 11	255
Венлафаксин / М	84 / 65	129	57 / 38	150
Мілнаципран / М	31 / 90	34	5 / 1	500
Сульпірид / М	54 / 52	104	0 / 0	0

*Рухомі фази: 1. Етилацетат – метанол – 25 % розчин амоній гідроксиду (85:10:5); 2. Циклогексан – толуен – діетиламін (75:15:10)

**$hR_f'(x)=100\times hR_f(x)/hR_f(M_x)$

Таблиця 2

Розрахункові показники ідентифікаційних індексів (*I*) антидепресантів в скринінгових ХТС-системах 1 та 2

Препарат	Ідентифікаційні індекси отримані за розрахунком	
	$\Delta h R_f'(x)_{1\text{-}2}$*	$I = \Delta h R_f'(x)_{1\text{-}2} \times \Delta h R_f'(станд.)_{1\text{-}2}$
Амітриптилін (*станд*.)	124	15376
Міансерин	5	620
Міртазапін	55	6820
Мапротилін	35	4340
Піразидол	47	5828
Сертралін	38	4712
Пароксетин	419	51956
Тразодон	117	14508
Циталопрам	268	33232
Есциталопрам	311	38504
Флуоксетин	166	20584
Флувоксамін	149	18476
Венлафаксин	21	2604
Мілнаципран	466	57784
Сульпірид	104	0

*$\Delta h R_f'(x)_{1\text{-}2} = \left| h R_f'(x)_1 - h R_f'(x)_3 \right|$

Таблиця 3

Забарвлення, які утворюють антидепресанти з модифікованим реактивом Манделіна

Препарат з метаболітом	Забарвлення
1	**2**
Амітриптилін *стандарт*	Коричневе
Метаболіт	Жовто-коричневе
Міансерин	Помаранчеве
Метаболіт	Червоне
Міртазапін	Помаранчеве

Продовження табл. 3

1	**2**
Метаболіт	Коричневе
Мапротилін	Зелено-синє
Метаболіт	Синє
Піразидол	Зелене
Метаболіт	Жовте
Сертралін	–
Метаболіт	–
Пароксетин	Синьо-зелене
Метаболіт	Синє
Тразодон	Зелене
Метаболіт	Зелене
Циталопрам	Жовто-зелене
Метаболіт	Блакитне
Есциталопрам	Жовто-зелене
Метаболіт	Блакитне
Флуоксетин	Зелене
Метаболіт	Синє
Флувоксамін	–
Метаболіт	–
Венлафаксин	Блакитне
Метаболіт	Синє
Мілнаципран	–
Метаболіт	–
Сульпірид	–
Метаболіт	–

У випадку, коли забарвлення з реактивом Манделіна відсутнє, екстракт можна наносять на ще одну пластину, та після розподілу проявляють 1% розчином нінгідрину (виявляються речовини з первинною та вторинною аміногрупами (табл. 4).

Таблиця 4

Забарвлення, які утворюють антидепресанти з 1% розчином нінгідрину

Препарат з метаболітом М	**Забарвлення**
Флувоксамін	Червоне
Метаболіт	Червоне
Мілнаципран	Рожево-фіолетове
Метаболіт	Червоно-фіолетове
Сульпірид	Рожево-фіолетове
Метаболіт	Червоно-фіолетове

Схема 2

Токсикологічне дослідження сечі на вміст антидепресантів за допомогою розрахункових показників ідентифікаційних індексів

Початок

↓

Крок 1

Взяти проби сечі

↓

Крок 2

Провести кислотний гідроліз сечі та рідинну екстракцію нативних сполук і метаболітів в оптимізованих умовах

↓

Крок 3

Нанести екстракт який досліджують разом з стандартом (амітриптілін і його метаболіт)

Провести ТШХ розділення в системах: 1. Етилацетат – метанол – 25 % розчин амоній гідроксиду (85:10:5) та 2. Циклогексан – толуен – діетиламін (75:15:10)

Проявити реактивом Драгендорфа за Муньє: якщо на пластинках з'являються по дві плями невідомої речовини та дві плями стандарту, тоді визначають величини відносних хроматографічних рухливостей невідомої речовини та стандарту: $\mathrm{h}R_\mathrm{f}'(x)$ та $\mathrm{h}R_\mathrm{f}'$ (*станд.*) відповідно (відношення відстані, яка пройдена центром плями речовини, до відстані, яка пройдена центром плями метаболіту, та помножене на 100). Далі проводять розрахунок за формулою $I = \Delta\mathrm{h}R_\mathrm{f}'(x)_{1\text{-}2} \times \Delta\mathrm{h}R_\mathrm{f}'(\textit{станд.})_{1\text{-}2}$, де $\Delta\mathrm{h}R_\mathrm{f}'(x)_{1\text{-}2}$ – різниця відносних хроматографічних рухливостей невідомої речовини в системах 1 та 2, що помножена на $\Delta\mathrm{h}R_\mathrm{f}'(\textit{станд.})_{1\text{-}2}$ – різниця відносних хроматографічних рухливостей *стандарта* в системах 1 та 2, та порівнюють результати з показниками індексів у табл. 2. Результати хроматографічної рухливості речовини, яку виявляють, та стандартної речовини, мають співпадати в межах 2%. Після цього роблять попередні висновки про виявлення індивідуальної речовини з групи антидепресантів.

↓

Крок 4

Нанести 2 плями екстракту який досліджують разом з стандартом (амітриптілін і його метаболіт) та провести ТШХ розділення в системах: 1 або 2. Пластинку виймають, висушують та проявляють реактивом Манделіна, коли забарвлення з реактивом Манделіна відсутнє, другу пляму проявляють 1%розчином нінгідрину. Результати забарвлень в табл. 3, 4.

ВИСНОВКИ

Схеми рекомендовано для цілей судово-токсикологічної експертизи, а також наркологічної експертизи для дослідження сечі на вміст психоактивних речовин, оскільки згідно з нею можливо детектувати нативні сполуки антидепресантів та продукти їх біотрансформації не тільки в летальних та токсичних, а й у терапевтичних концентраціях.

ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ

1. Clarke’s Analysis of Drugs and Poisons / [edited by] Anthony C Moffat, M David Osselton, Brian Widdop. – 4st ed. – London. : Pharmaceutical Press, 2011. – 2581 p. – ISBN 978-0-85369-7114.
2. Thin-Layer Chromatographic Rf Values of Toxicologically Relevant Substances on Standardized Systems Second, Revised and Enlarged Edition Prepared under the Auspices of the Committee for Systematic Toxicological Analysis of TIAFT by Rokus A. de Zeeuw (Groningen), Jan Piet Franke (Groningen), Fritz Degel (Nürnberg), Günther Machbert (Erlangen), Harald Schütz (Gießen) and Jaap Wijsbeek (Groningen). Report XVII of the DFG Commission for Clinical-Toxicological Analysis Special Issue of the TIAFT Bulletin. – 1992. – P.306.
3. Використання методу хроматографії в тонкому шарі сорбенту в судово-токсикологічних дослідженнях (навчальний посібник для самостійної роботи слухачів) / [І.О. Журавель, О.В. Чубенко, Н.В. Гузенко, В.В. Альхуссейн] – Харків: Харківська медична академія післядипломної освіти, 2017. – 35 с.
4. Закон України «Про дорожній рух» (Відомості Верховної Ради України (ВВР), 1993, № 31, ст.338) зі змінами та доповненнями.
5. Закон України «Про метрологію та метрологічну діяльність» (Відомості Верховної Ради (ВВР), 2014, № 30, ст.1008) зі змінами та доповненнями.
6. Застосування імуноферментного методу в судово-токсикологічному аналізі, та його обмеження (навчально-методичний посібник для самостійної роботи) / І. О. Журавель, О. В. Чубенко, Н. В. Гузенко, В. В. Альхуссейн. – Харків : ХМАПО, 2018. – 53 с.
7. Інформаційний лист «Спосіб визначення заборонених наркотиків у суміші з лікарськими засобами в сечі людини» / Г.П. Петюнін, О.В. Чубенко, Н.В. Гузенко, О.В. Хіжніченко // МОЗ України, Український

Центр наукової медичної інформації та патентно-ліцензійної роботи. – Київ, 2012.

8. Інформаційний лист № 83-2016 «Спосіб виявлення деяких лікарських засобів, які містять в своїй структурі третинну аміногрупу» / О.В. Чубенко, Н.В. Гузенко, Ф.М. Кахановський, К.І. Кахановська // МОЗ України, Український Центр наукової медичної інформації та патентно-ліцензійної роботи. – Київ, 2016 р.
9. Лисенко О.М., Набиванець Б.Й. Вступ до хроматографічного аналізу. Навчальний посібник. – Київ, 2005. – 186 с.
10. Методи виявлення наркотичних засобів та психотропних речовин у біологічних рідинах людини. Методи попередньої експрес-діагностики / Петюнін Г.П., Дмитрієвська Ж.В., Чубенко О.В. // Методичні рекомендації. – К.: УкрЦНМІ. – 2006.
11. Наказ Міністерства внутрішніх справ України, Міністерства охорони здоров'я України від 09.11.2015 р. № 1452/735, зареєстровано в Міністерстві юстиції України 11 листопада 2015 р. за № 1413/27858 «Інструкція про порядок виявлення у водіїв транспортних засобів ознак алкогольного, наркотичного чи іншого сп'яніння або перебування під впливом лікарських препаратів, що знижують увагу та швидкість реакції».
12. Настанова щодо проведення токсикологічних досліджень в медичних лабораторіях психоневрологічних та наркологічних установ і інших закладах охорони здоров'я. Видання друге, перероблене / О. В. Чубенко, Н. В. Гузенко, І. В. Новікова. – Харків, ХНМУ – 2025.
13. Особливості ідентифікації речовин методом хроматографії в тонких шарах сорбенту в токсикологічному аналізі: навчально-методичний посібник для самостійної роботи / О. В. Чубенко, Н. В. Гузенко, В. В. Альхуссейн, М. А. Савченко. – Харків: ХМАПО, 2021. – 37 с.

14. Порядок відбору від живих осіб зразків біологічного матеріалу, поводження з ними та організація проведення токсикологічних досліджень з метою виявлення стану алкогольного, наркотичного чи іншого сп’яніння або перебування під впливом лікарських препаратів, що знижують увагу та швидкість реакцій / Петюнін Г.П., Дмитрієвська Ж.В., Чубенко О.В. // Методичні рекомендації. – К.: УкрЦНМІ. – 2011.
15. Постанова КМУ від 12.01.2024 р. № 32 «Порядок направлення військовозобов’язаних та резервістів під час проходження зборів, а також військовослужбовців Збройних Сил для огляду на стан алкогольного, наркотичного чи іншого сп’яніння або щодо перебування під впливом лікарських препаратів, що знижують їх увагу та швидкість реакції, та проведення такого огляду».
16. Постанова КМУ від 17.12.2008 р. № 1103 «Про затвердження Порядку направлення водіїв транспортних засобів для проведення огляду з метою виявлення стану алкогольного, наркотичного чи іншого сп'яніння або перебування під впливом лікарських препаратів, що знижують увагу та швидкість реакції, і проведення такого огляду» зі змінами та доповненнями.
17. Приготування та застосування хромогенних реактивів у судово-токсикологічному дослідженні методом тонкошарової хроматографії / Журавель І.О., Кахановський Ф.М., Чубенко О.В., Савченко М.А. //
18. Аналітична токсикологія : навч. посіб. для студентів вищ. навч. закл. / С. В. Баюрка, В. С. Бондар, С. І. Мерзлікін та ін. – Харків : НФаУ : Золоті сторінки, 2017. – 384 с.
19. Пат. України на корисну модель № 158532, МПК G01N G01N 33/15 (2006.01) G01N 30/90 (2006.01). Спосіб виявлення окремих препаратів серед групи антидепресантів / С.В. Баюрка, О.В.Чубенко, С.А. Карпушина; заявник та патентовласник Національний фармацевтичний університет, – № u 2024 02939; заявл. 30.06.2024 р.; опубл. 19.02.2025 р., Бюл. № 8.

20. Пат. України на корисну модель № 107780, МПК G01N 33/493. Спосіб виявлення деяких похідних тетрациклічних антидепресантів у біологічному матеріалі / Петюнін Г.П., Баюрка С.В., Карпушина С.А., Чубенко О.В.; заявник і патентовласник Харківська медична академія післядипломної освіти – № u 2015 11789; заявл. 30.11.2015 р.; опубл. 24.06.2016 р.