



ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М.Сеченова

А.Н. Кирюшин

# Методы пробоподготовки при проведении судебно-химических и химико- токсикологических исследований физиологически активных веществ



Department of Analytical Toxicology Pharmaceutical Chemistry  
and Pharmacognosy  
Central Chemical Laboratory of Toxicology

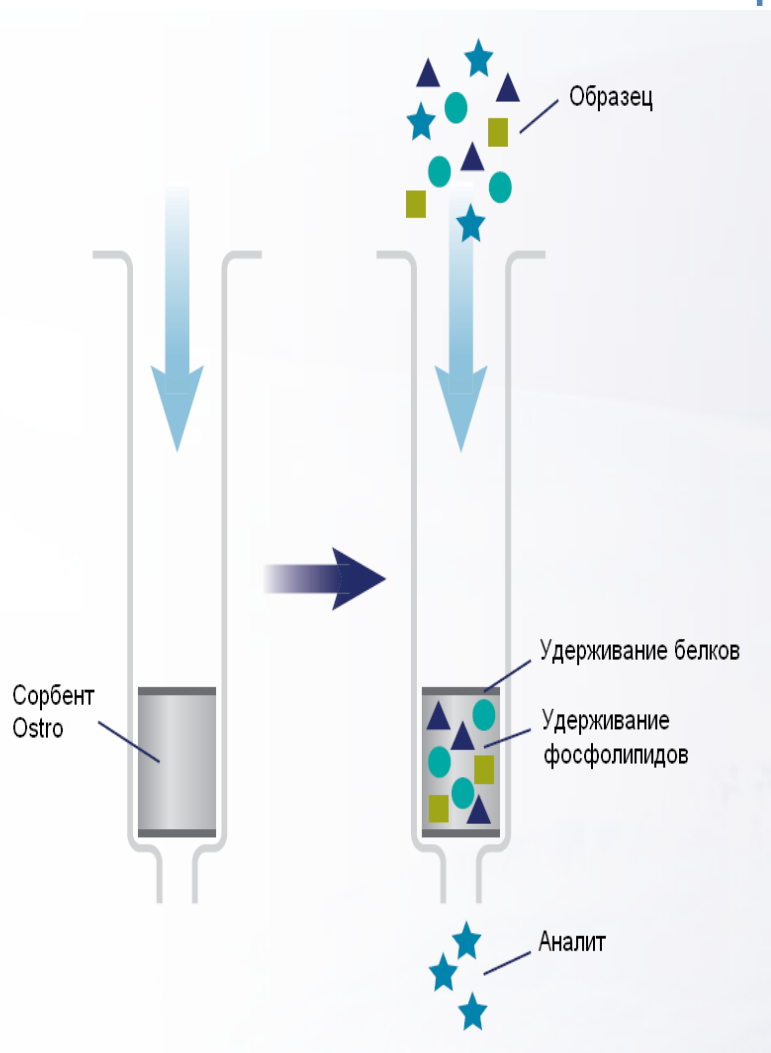
Moscow,  
1/17 Skladochnaya St.,  
e-mail bn38@mail.ru

# Кафедра аналитической токсикологии, фармацевтической химии и фармакогнозии



Центральная химико-токсикологическая  
лаборатория

# Пробоподготовка биологических жидкостей путем очистки на сорбенте «OSTRO»



100 мкл образца вносится в 96-луночный планшет

+400 мкл ACN

После встряхивания течение 3 минут, планшет центрифугируется при 1700 об/мин (500g) в течении 5 минут  
Полученный экстракт можно анализировать на ВЭЖХ\МС\МС



Department of Analytical Toxicology Pharmaceutical Chemistry  
and Pharmacognosy  
Central Chemical Laboratory of Toxicology

Moscow,  
1/17 Skladochnaya St.,  
e-mail bn38@mail.ru



# Выбранные для исследования аналиты

- 1) Антидепрессанты: амитриптилин (нортриптилин), кломипрамин, циталопрам
- 2) Антигистамины: доксиламин, дифенгидрамин
- 3) Нейролептики: хлорпрамазин, хлорпротиксен, клозапин (десметилклозапин)
- 4) Спазмолитики: папаверин
- 5) Кардиотропные: верапамил (норверапамил)
- 6) Гипотензивные: пропранолол, метопролол, карведилол
- 7) Противосудорожные: окскарбазепин, карбамазепин-10,11-эпоксид
- 8) Транквилизаторы: мидазолам (4-гидроксимидазолам)
- 9) Противомаларийные: хинин
- 10) Стимуляторы: кофеин



МС/МС: SCIEX 3200 Qtrap и 4500 Qtrap  
ВЭЖХ: Perkin Elmer Flexar FX 10



**Department of Analytical Toxicology Pharmaceutical Chemistry  
and Pharmacognosy  
Central Chemical Laboratory of Toxicology**

Moscow,  
1/17 Skladochnaya St.,  
e-mail [bn38@mail.ru](mailto:bn38@mail.ru)

# Условия ВЭЖХ/МС/МС анализа

Прибор: Sciex 4500 Qtrap  
Режим ионизации: ESI (+)  
Занавесочный газ: 40  
Газ камеры столкновений: Высокий  
Напряжение Ион спрей: 5500  
Температура: 450 °C  
Газ 1: 55  
Газ 2: 55

Название аналита	MRM-переход	
	Родительский ион, m/z	Дочерний ион, m/z
Амитриптилин	278.158	233.1
Кофеин	195.088	138.1
Хлорпромазин	318.955	86.1
Хлорпротиксен	316.163	231
Циталопрам	325.047	109
Кломипрамин	315.059	86.1
Клозапин	327.09	270
Папаверин	340.111	202.1
Верапамил	455.132	165.2
Дифенгидрамин	256.178	167
Доксиламин	270.987	167
Десметилклозапин	313.04	192
Фенсперид-D5	266.092	110.1
Норверапамил	441.163	165
Окскарбазепин	252.908	236
Пропранолол	260.2	183.2
Метопролол	268.158	116.1
Карбамазепин – 10,11 – эпоксид	252.977	236
4-Гидроксимидазолам	341.964	234
Мидазолам	326.086	291.2
Карведилол	407.197	224.3
Нортриптилин	264.2	233.2
Хинин	325,2	160



Department of Analytical Toxicology Pharmaceutical Chemistry  
and Pharmacognosy  
Central Chemical Laboratory of Toxicology

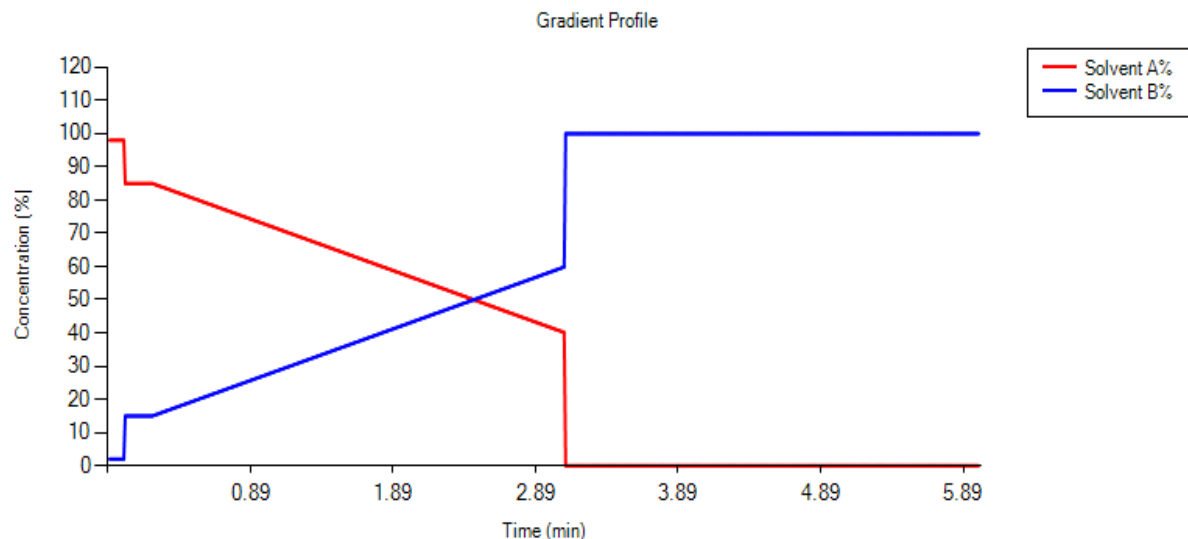
Moscow,  
1/17 Skladochnaya St.,  
e-mail bn38@mail.ru

# Условия ВЭЖХ/МС/МС анализа

- Хроматографическая колонка *ProntoSIL 120-3-C18 AQ*, размер 2.0x75 мм, зерно 3.0 мкм;
- Температура термостата 50°C;
- Режим: градиентный;
- подвижная фаза - элюент А – вода, 0.1% муравьиная
- Элюент В - ацетонитрил, 0.1% муравьиная кислота;
- Скорость потока 350 мкл/мин;
- Объем вводимой пробы 1 мкл;

Градиентная программа:

Время	Процент А	Процент В
0.1	98	2
0.2	85	15
3.1	40	60
6	0	100
6.1	98	2
8.5	98	2



# Степень извлечения после очистки на сорбенте «Ostro»

Название вещества	Процент извлечения
Амитриптилин	61%
Кофеин	84%
Хлорпромазин	48%
Хлорпротиксен	50%
Циталопрам	88%
Кломипрамин	63%
Клозапин	92%
Папаверин	94%
Верапамил	90%
Дифенгидрамин	83%
Доксиламин	70%
Десметилклозапин	49%
Норверапамил	94%
Окскарбазепин	94%
Пропранолол	77%
Метопролол	85%
Карбамазепин – 10,11 – эпоксид	94%
4-Гидроксимидазолам	82%
Мидазолам	75%
Карведилол	93%



**Department of Analytical Toxicology Pharmaceutical Chemistry  
and Pharmacognosy  
Central Chemical Laboratory of Toxicology**

Moscow,  
1/17 Skladochnaya St.,  
e-mail bn38@mail.ru



## Построение калибровочного графика (Налтрексон)

Ожидаемая концентрация, нг/мл	Количество значений	Среднее значение концентрации	Точность %	CV %
1.00	2 из 2	0.99	98.9	0.01
5.00	2 из 2	5.29	105.7	0.21
25.00	2 из 2	24.46	97.8	0.77
100.00	2 из 2	105.91	105.9	0.56
250.00	2 из 2	246.71	98.7	3.13
500.00	2 из 2	485.12	97.0	4.02
1000.00	2 из 2	959.26	95.9	6.58



**Department of Analytical Toxicology Pharmaceutical Chemistry  
and Pharmacognosy  
Central Chemical Laboratory of Toxicology**

Moscow,  
1/17 Skladochnaya St.,  
e-mail bn38@mail.ru

# Преимущества и недостатки метода

## Преимущества:

- Универсальность
- Высокая воспроизводимость
- Очистка образца от белков, фосфолипидов и твердых веществ
- Производительность

## Недостатки:

- Высокая стоимость одного исследования



# Требования к носителю образца

- Стабильность при хранении
- Малый вес
- Свободен от воды
- Плоской формы для удобства транспортировки



# Whatman® 903

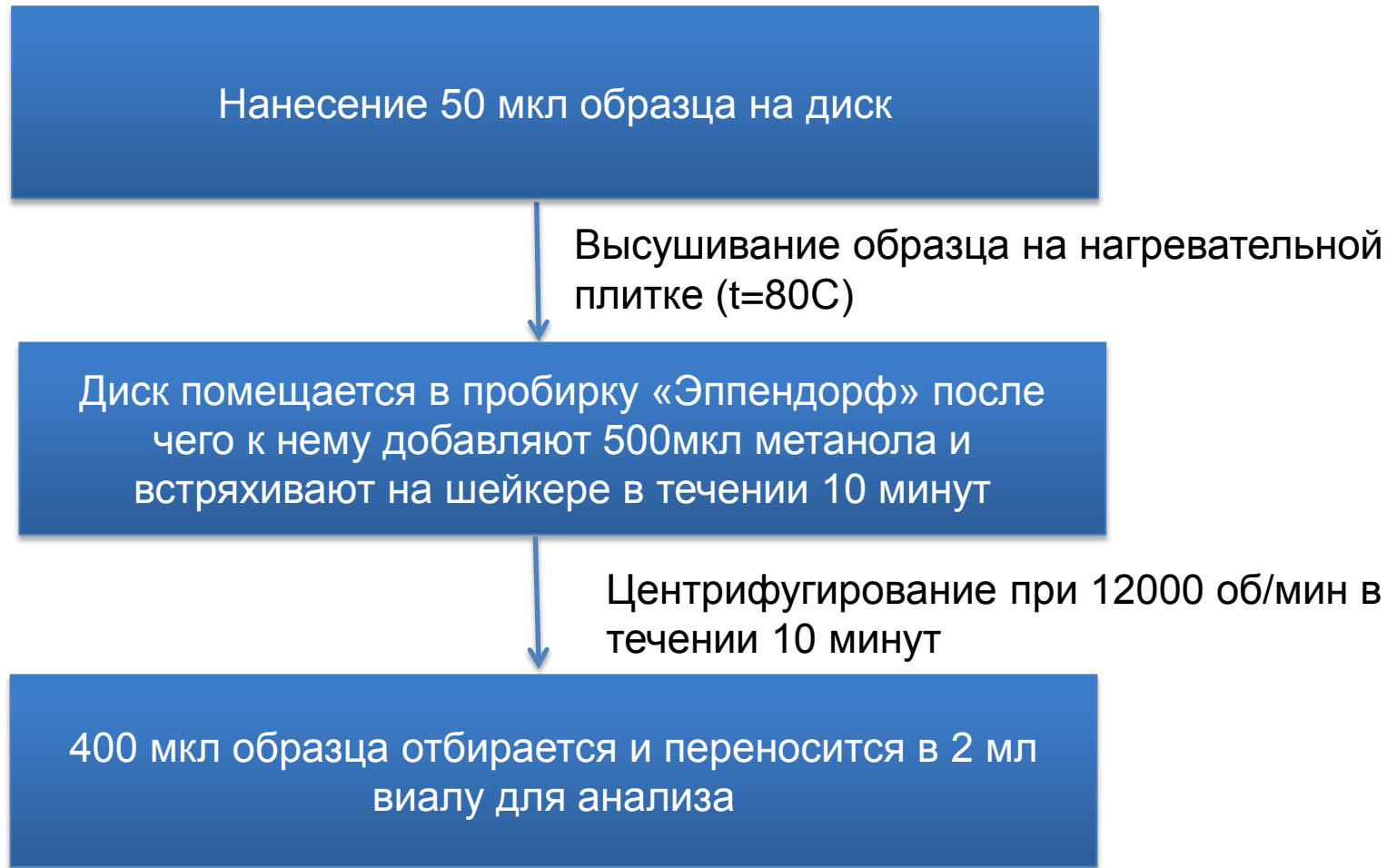


Department of Analytical Toxicology Pharmaceutical Chemistry  
and Pharmacognosy  
Central Chemical Laboratory of Toxicology

Moscow,  
1/17 Skladochnaya St.,  
e-mail bn38@mail.ru



# Пробоподготовка образцов



# Извлечение с бумажного носителя

Название вещества	Процент извлечения (примерно)
Морфин глюкуронид	70%
Морфин	70%
Кодеина глюкуронид	80%
Бензоилэкгонин	95%
Фенцикледин	90%
Кодеин	85%
Оксазепам	90%
THC-COOH	80%
Метамфетамин	90%
Амфетамин	90%
Метадон	95%
Метаквалон	95%
Пропоксифен	90%
Фенобарбитал	90%



**Department of Analytical Toxicology Pharmaceutical Chemistry  
and Pharmacognosy  
Central Chemical Laboratory of Toxicology**

Moscow,  
1/17 Skladochnaya St.,  
e-mail bn38@mail.ru

# Выводы

- Рассмотренные методы могут быть использованы для проведения массовых централизованных химико-токсикологических исследований
- Планируется их дальнейшие испытания методов на реальных образцах параллельно с другими методами пробоподготовки
- Требуется изучение долгосрочной стабильности



БЛАГОДАРЮ ЗА ВНИМАНИЕ!  
Я буду рад ответить на ваши вопросы!



**Department of Analytical Toxicology Pharmaceutical Chemistry  
and Pharmacognosy  
Central Chemical Laboratory of Toxicology**

Moscow,  
1/17 Skladochnaya St.,  
e-mail [bn38@mail.ru](mailto:bn38@mail.ru)