

С. В. Баюрка¹, С. А. Карпушина²
¹НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
МІНІСТЕРСТВА ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
²УМАНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ САДІВНИЦТВА

ІЗОЛЮВАННЯ МАПРОТИЛІНУ З БІОЛОГІЧНИХ РІДИН

Вступ. Останнім часом захворюваність на депресію має стійку тенденцію до збільшення, отже, кількість отруєнь препаратами антидепресивної дії зростає. Аналітичні аспекти токсикології антидепресанту мапротиліну розроблені не досить.

Мета дослідження – розробка умов ізолювання мапротиліну з крові та сечі за допомогою методу рідинно-рідинної екстракції.

Методи дослідження. Дослідження проводили з модельними пробами біологічних рідин людини, до яких було додано мапротилін. Зазначений антидепресант виділяли з крові та сечі методом рідинно-рідинної екстракції метиленхлоридом з лужного водного середовища при рН 9 у присутності амоній сульфату як висолювача. Біогенні співекстрактивні домішки з біологічних рідин видаляли екстракцією гексаном із кислого середовища при рН 1. Еритроцитарну масу крові попередньо осаджували додаванням 10% розчину кислоти трихлорацетатної. Кількісний вміст препарату в екстрактах встановлювали за допомогою методу УФ-спектрофотометрії після додаткової ТШХ-очистки.

Результати й обговорення. Виявлення мапротиліну в екстрактах з біологічних рідин здійснювали за УФ-спектрами, які співпадали зі стандартним розчином досліджуваного антидепресанту в 0,1 М розчині кислоти хлоридної та мали максимуми світлопоглинання при довжині хвиль 265 ± 2 та 272 ± 2 нм. Кількісне визначення препарату в екстрактах проводили за рівнянням калібрувального графіка $y = (0,00320 \pm 5 \times 10^{-5}) \cdot x + (0,03 \pm 0,01)$, який був лінійним у діапазоні концентрацій аналіту 20,0–360,0 мкг/мл. Ступінь ізолювання мапротиліну становив $49,3 \pm 3,5\%$ для крові та $82,6 \pm 2,2\%$ для сечі.

Висновки. Розроблено ефективні методи ізолювання мапротиліну з крові та сечі за допомогою рідинно-рідинної екстракції у присутності амоній сульфату як висолювача. Доведено придатність методу УФ-спектрофотометрії для визначення мапротиліну в біологічних рідинах, що було підтверджено рядом валідаційних параметрів відповідно до очікуваного вмісту досліджуваного антидепресанту в біологічних рідинах у разі летальних отруєнь. Одержані результати можуть бути використані для проведення судово-токсикологічних експертиз у разі гострих та смертельних отруєнь лікарськими препаратами антидепресивної дії.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: мапротилін; біологічні рідини; ізолювання; ТШХ; УФ-спектрофотометрія.

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

ВСТУП. Мапротилін – (N-Метил-9,10-етанантрацен-9(10H)-пропанаміну гідрохлорид) є тетрациклічним антидепресантом, що належить до групи неселективних інгібіторів зворотного нейронального захоплення моноамінів. Препарат має добре збалансований спектр фармакологічної дії, підвищує настрій, знімає неспокій, усуває збудливість та психомоторну загальмованість [1; 2]. У випадку прихованої депресії препарат позитивно впливає на симптоми соматичного характеру [3]. Мапротилін суттєво відрізняється за фармакологічними властивостями від трициклічних антидепресантів. Препарат чинить виражену та селективну інгібуючу дію на зворотне захоплення норадреналіну пресинаптичними нейронами кори головного мозку, але майже не проявляє інгібуючого впливу на повторне захоплення серотоніну. Мапротилін має помірно

виражену спорідненість з центральними α -адренорецепторами, але чинить виражену антихолінергічну та інгібуючу дію на гістамінові H_1 -рецептори [4]. Зазвичай його терапевтична доза перебуває в діапазоні від 25 до 75 мг на добу, але максимальна добова доза може становити 225 мг.

У певних умовах мапротилін проявляє побічну дію. Повідомлялося про випадок розвитку «серотонінового» синдрому внаслідок супутньої терапії пацієнта мапротиліном та міртазапіном [3]. Зареєстровано летальне отруєння мапротиліном у разі надходження 4,5–6 г препарату; за даними аналітичної діагностики концентрації мапротиліну в крові та сечі в різних випадках смертельних інтоксикацій перебували у межах 2,0–44,5 мг/л та 12,6 мг/л відповідно [5].

Більшість біоаналітичних методів визначення мапротиліну, розроблених останнім часом, стосуються біологічних рідин.

© С. В. Баюрка, С. А. Карпушина, 2025

Запропоновано методику визначення ряду трициклічних антидепресантів та мапротиліну методом газорідинної хроматографії з мас-спектрометричним детектуванням (ГХ-МС) після пробопідготовки із застосуванням електромембранної твердофазної мікроекстракції на чипі (ЕМ-SPME) [6]. Метод твердофазної екстракції (ТФЕ) застосовано для ізолювання мапротиліну зі скловидного тіла, яке може бути важливою альтернативою біологічним рідинам як об'єктам дослідження у судово-токсикологічній експертизі у розслідуванні випадків, пов'язаних зі зловживанням окремими групами лікарських засобів [7]. Біоаналітичні методи визначення мапротиліну у цільній крові розроблено із застосуванням високоефективної рідинної хроматографії з подвійним мас-спектрометричним детектуванням (ВЕРХ-МС/МС) після попередньої рідинної мікроекстракції (РМЕ) [8; 9], у тому числі з використанням іонних рідин як екстрагентів [9].

У вітчизняній практиці судово-токсикологічних досліджень для ізолювання лікарських речовин з біологічних рідин переважно застосовується метод рідинно-рідинної екстракції [10], оскільки методи ТФЕ та РМЕ пов'язані з використанням спеціального обладнання та матеріалів, а також попереднім трудомістким етапом оптимізації умов ізолювання з урахуванням гідрофільноліпофільних властивостей досліджуваного токсиканту. Дані щодо ефективних умов екстракції мапротиліну з біологічних рідин органічними розчинниками в літературі відсутні.

Метою дослідження була розробка умов ізолювання мапротиліну з крові та сечі за допомогою методу рідинно-рідинної екстракції.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Реактиви та обладнання. Мапротилін екстрагували з комерційно доступних таблеток «Людіоміл» (50 мг) (Pliva, Croatia). 20 таблеток вносили до фарфорової ступки та ретельно розтирали, потім додавали 80 мл хлороформу. Суміш фільтрували у порцелянову чашку, залишок на фільтрі промивали 10 мл хлороформу та об'єднували з попередньо отриманим фільтратом. Органічний розчинник упарювали на водяній бані за температури, не вищої ніж 40°C. Сухий залишок висушували та зважували. Чистоту отриманої субстанції підтверджували методами ТШХ, УФ-спектрофотометрії та ВЕРХ. Всі використані в дослідженні реактиви та розчинники відповідали кваліфікації не нижче «ч.д.а.».

Світлопоглинання розчинів препарату в УФ-ділянці спектра вимірювали на спектрофотометрі (СФ-46), спектральний діапазон вимірювань становив 190–1100 нм. Значення рН середовища контролювали за допомогою рН-метра 5123 (Elvro, Вроцлав, Польща). Водяна баня LW-4 (Битом, Польща). Хроматографічні пластини Merck (Silica gel 60 F254, розмір 10×20 см, Німеччина). Мірні колби 10,00 мл, 25,00 мл, 100,00 мл; мірні піпетки, клас А (Simax, Чехія).

Методика ізолювання мапротиліну з крові. Дослідження проводили з модельними зразками крові, що містили досліджувані антидепресанти. Для цього до 10 мл донорської крові додавали по 1 мл водних розчинів досліджуваного антидепресанту, що містили від 100 до 500 мкг мапротиліну гідрохлориду, та залишали суміші на 24 год. Після закінчення зазначеного часу до модельних зразків додавали по 10 мл 10% розчину кислоти трихлорацетатної, об'єкти залишали на 2 год, а потім центрифугували 10 хв при 3500 об/хв. Отриманий центрифугат відокремлювали, до осаду, що залишився в центрифужному стакані, повторно додавали 5 мл 10% кислоти трихлорацетатної. Вміст склянки перемішували та знову центрифугували в умовах, вказаних вище. Отримані центрифугати об'єднували, переносили до ділильної лійки та екстрагували біогенні домішки 10 мл гексану. Органічний шар відокремлювали та відкидали, водний шар, що залишився, підлугували 25% розчином амоній гідроксиду до рН 9 та додавали 5 мл насиченого розчину амоній сульфату. Проводили триразову екстракцію мапротиліну 10 мл хлороформу кожного разу. Отримані екстракти об'єднували, фільтрували через фільтр, що містив 0,5 г безводного натрій сульфату, до мірної колби на 25 мл та доводили до мітки хлороформом. За тих же умов паралельно отримували «холостий» екстракт. Хлороформні екстракти піддавали додатковій очистці від співекстрактивних домішок методом ТШХ, як наведено нижче.

Методика ізолювання мапротиліну із сечі. Дослідження проводили з модельними зразками сечі, що містили досліджувані антидепресанти. Для цього до 50 мл сечі додавали по 1 мл водних розчинів мапротиліну гідрохлориду, що містили від 200 до 1000 мкг препарату, та залишали суміші на 24 год. Після закінчення зазначеного часу до отриманих модельних зразків додавали 10% розчин кислоти хлоридної до рН 1 та суміші струшували з 20 мл діетилового етеру, шар

органічного розчинника відокремлювали й відкидали. Отриману водну фазу підлугували 25% розчином амоній гідроксиду до рН 9, додавали 5 мл насиченого розчину амоній сульфату та тричі екстрагували мапротилін хлороформом по 15 мл кожного разу. Емульсії, що утворювались, руйнували центрифугуванням. Отримані екстракти фільтрували через паперовий фільтр, що містив 0,5 г безводного натрій сульфату, до мірної колби на 50 мл та доводили об'єми до мітки хлороформом. «Холостий» екстракт нами було отримано паралельно за тих же умов. Хлороформні екстракти піддавали додатковій очистці від співекстрактивних домішок методом ТШХ, як наведено нижче.

Методика ТШХ-очистки екстрактів. На лінію старту хроматографічної пластини за допомогою мікрошприца наносили 10 мкл стандартного розчину мапротиліну в хлороформі (1,0 мг/мл) та поруч – від 0,5 до 2,0 мл відповідної хлороформної витяжки, отриманої з крові та сечі, що попередньо була випарена до мінімального об'єму (~0,05 мл). У третю точку наносили 10 мл випареної до мінімального об'єму витяжки, одержаної у «холостому» досліді. Решту досліджуваного екстракту з біологічних рідин та екстракту, отриманого у «холостому» досліді, випаровували до мінімального об'єму (~0,05 мл) і наносили смугами на лінію старту хроматографічної пластини. Хроматограми розвивали послідовно в двох рухомих фазах: хлороформі та толуен–ацетон–етанол–25% розчин амоній гідроксиду (45:45:7,5:2,5) з використанням скляної хроматографічної камери об'ємом 2000 см³. Хроматограми проявляли в УФ-променях та реактивом Драгендорфа в модифікації за Мун'є. Ділянки хроматографічної пластини, що відповідали біологічним екстрактам, які було нанесено смугою, реактивом Драгендорфа не обробляли. Досліджувану речовину елюювали з хроматографічної пластини на рівні, що відповідав знаходженню плями мапротиліну-стандарту, 4 мл метанолу (ступінь елюювання становив 97,1%), елюат фільтрували через паперовий фільтр. Паралельно отримували елюат у «холостому» досліді.

Кількісне визначення мапротиліну в екстрактах з біологічних рідин методом УФ-спектрофотометрії. Світлопоглинання елюатів з хроматограм вимірювали при $\lambda_{\text{max}}=272$ нм (кювета з товщиною поглинаючого шару рідини 10 мм). Як розчин порівняння використовували елюат, отриманий

у «холостому» досліді. Для побудови калібрувального графіка готували стандартний розчин препарату (СР), для чого 0,02265 г мапротиліну гідрохлориду, що в перерахунку відповідало 0,02000 г мапротиліну-основи, розчиняли у 0,1 М розчині кислоти хлоридної в мірній колбі місткістю 50,00 мл (отримано СР з концентрацією 400,0 мкг/мл мапротиліну-основи). Для приготування робочих стандартних розчинів (РСР) до мірних колб місткістю 10,00 мл вносили по 0,50; 1,00; 2,00; 3,00; 4,00; 5,00; 6,00; 7,00; 8,00 та 9,00 мл СР та доводили об'єми розчинів до мітки 0,1 М розчином кислоти хлоридної (концентрації РСР становили відповідно 20,0; 40,0; 80,0; 120,0; 160,0; 200,0; 240,0; 280,0; 320,0 та 360,0 мкг/мл). Величини світлопоглинання СР і десяти РСР було оброблено методом лінійної регресії та отримано рівняння калібрувального графіка.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Оптимізацію умов ізолювання мапротиліну з крові та сечі було проведено на основі попереднього вивчення ефективності екстракції досліджуваного антидепресанту з водних розчинів залежно від рН середовища, природи органічного розчинника та висолювача. Як органічні розчинники було апробовано хлороформ, діетиловий етер, гексан та метиленхлорид. Як висолювачі досліджували натрій хлорид та амоній сульфат. Максимальний ступінь разової екстракції (61,5%) було отримано у разі використання метиленхлориду у присутності амоній сульфату при рН 8. У найменшій кількості (близько 13%) мапротилін екстрагувався гексаном з кислого середовища при рН 1, що було підставою для вибору умов додаткової екстракційної очистки.

У біологічних екстрактах мапротилін ідентифікували методом ТШХ за величиною R_f , яка у рухомій фазі толуен–ацетон–етанол–25% розчин амоній гідроксиду (45:45:7,5:2,5) становила $0,31 \pm 0,03$. УФ-спектри елюатів з хроматограм, отримані після ТШХ-очистки, за характером світлопоглинання співпадали з відповідним УФ-спектром стандартного розчину мапротиліну в 0,1 М розчині кислоти хлоридної та мали максимуми світлопоглинання при довжинах хвиль 265 ± 2 та 272 ± 2 нм (рис. 1). УФ-спектр елюату, отриманого у «холостому» досліді, не мав максимумів світлопоглинання при зазначених довжинах хвиль.

Кількісне визначення мапротиліну в елюатах проводили за рівнянням калібрувального

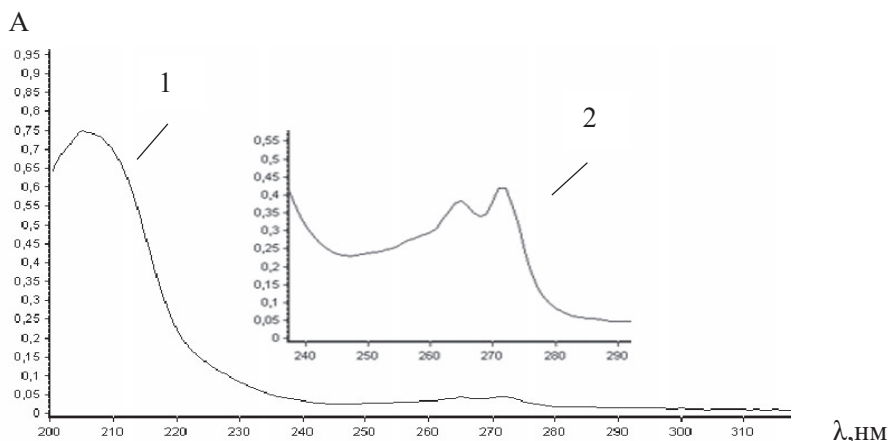


Рис. 1. УФ-спектр світлопоглинання мапротиліну в 0,1 М розчині кислоти хлоридної

Примітка: 1 – концентрація $3 \cdot 10^{-5}$ моль/л; 2 – концентрація $4 \cdot 10^{-4}$ моль/л

графіка $y = (0,00320 \pm 5 \cdot 10^{-5}) \cdot x + (0,03 \pm 0,01)$, $(r = 0,999; S_o^2 = 2,0 \cdot 10^{-4}; S_a = 0,00521)$. Калібрувальний графік був лінійним у діапазоні 20,0–360 мкг/мл. Межа виявлення (LOD) та межа кількісного визначення (LOQ) були розраховані на основі стандартного відхилення вільного члена калібрувального графіка та його кутового коефіцієнта [11]; вони становили відповідно 5,4 мкг/мл та 16,3 мкг/мл.

Результати кількісного визначення мапротиліну, виділеного з крові та сечі, наведено в табл. 1 та 2.

Таким чином, за допомогою розроблених методик з крові можна виділити $49,3 \pm 3,5\%$ мапротиліну, із сечі – $82,6 \pm 2,2\%$ вказаного антидепресанту.

Було оцінено вплив розроблених умов пробопідготовки на нижні межі робочого діапазону УФ-спектрофотометричної методики, що була застосована у дослідженні як інструментальний метод. Значення LOD та LOQ було розраховано на основі даних щодо флуктуацій «холостого» дослідження та кутового коефіцієнта калібрувального графіка b [11]: $LOD = 3,3 \cdot S/b$ та $LOQ = 10 \cdot S/b$, де S – стандартне відхилення величини світлопоглинання елюатів, отриманих у «холостих» дослідженнях (A_{min}) (табл. 3).

Як видно з даних, що наведені в табл. 3, значення LOD та LOQ , які розраховані з величин світлопоглинання «холостих» дослідів, не перевищують відповідні валідаційні характеристики,

Таблиця 1 – Результати кількісного визначення мапротиліну, виділеного з крові, УФ-спектрофотометричним методом (середнє з п'яти визначень)

Додано мапротиліну до 10 мл крові, мкг	Виділено мапротиліну		Метрологічні характеристики
	мкг	%	
100	48,4	48,4	$\bar{X} = 49,3$ $S = 3,7$ $S_x = 1,7$ $\Delta \bar{X} = 3,5$ $\varepsilon = 7,2\%$
200	104,4	52,2	
300	139,5	46,5	
400	181,2	45,3	
500	271,0	54,2	

Таблиця 2 – Результати кількісного визначення мапротиліну, виділеного із сечі, УФ-спектрофотометричним методом (середнє з п'яти визначень)

Додано мапротиліну до 50 мл сечі, мкг	Виділено мапротиліну		Метрологічні характеристики
	мкг	%	
200	168,6	84,3	$\bar{X} = 82,6$ $S = 2,3$ $S_x = 1,1$ $\Delta \bar{X} = 2,2$ $\varepsilon = 2,7\%$
400	326,0	81,5	
600	510,6	85,1	
800	633,6	79,2	
1000	827,0	82,7	

Таблиця 3 – Межі виявлення та кількісного визначення УФ-спектрофотометричної методики, що розраховані за даними величини світлопоглинання «холостих» дослідів (середнє з десяти визначень)

Біологічна рідина	$A_{\min}$	S	RSD, %	$\Delta A_{\min}$ ($n=10$; $P=0,95$)	ε , %	LOD, мкг/мл	LOQ, мкг/мл
Кров	0,0069	0,0008	12,9	0,0006	8,2	0,8	2,4
Сеча	0,010	0,0014	14,0	0,001	10,0	1,4	4,4

отримані з параметрів калібрувальної прямої, побудованої за допомогою серії РСР. Останнє свідчить про відсутність впливу біогенних домішок на величину аналітичного сигналу застосованого інструментального методу.

Таким чином, розроблені методики ізолювання мапротиліну з крові та сечі з наступним УФ-спектрофотометричним визначенням аналіту є досить ефективними щодо очікуваного вмісту досліджуваного антидепресанту в зазначених біологічних рідинах у разі летальних отруєнь.

ВИСНОВКИ. Розроблено ефективні методи ізолювання мапротиліну з крові

та сечі за допомогою рідинно-рідинної екстракції у присутності амоній сульфату як висолювача. Доведено придатність методу УФ-спектрофотометрії для визначення мапротиліну в біологічних рідинах, що було підтверджено рядом валідаційних параметрів відповідно до очікуваного вмісту досліджуваного антидепресанту в біологічних рідинах у разі летальних отруєнь. Одержані результати можуть бути використані для проведення судово-токсикологічних експертиз у разі гострих та смертельних отруєнь лікарськими препаратами антидепресивної дії.

Конфлікт інтересів: відсутній.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Pisani F., Rosa P. L., Barbieri M. A., de Leon J., Spina E. Optimization of Therapy in Patients with Epilepsy and Psychiatric Comorbidities: Key Points. *Current Neuropharmacology*. 2023. Vol. 21, No. 8. P. 1755–1766. DOI: 10.2174/1570159X20666220526144314.
2. Juergensen C. K., Juul S., Siddiqui F., Barbateskovic M., Munkholm K., Hengartner M. P., ... Jakobsen J. Tricyclic antidepressants versus "active placebo", placebo or no intervention for adults with major depressive disorder: a protocol for a systematic review with meta-analysis and Trial Sequential Analysis. *Cochrane System Review*. 2021. Vol. 10, No. 1. P. 227. DOI: 10.1186/s13643-021-01789-0.
3. Alotaibi M. S., Yousuf A. Z., Khan A., Alshammari N. S. Late Presentation of Linezolid-Induced Serotonin Syndrome After Maprotiline and Mirtazapine Therapy: A Case Report. *Clinical Neuropharmacology*. 2021. Vol. 44, No. 2, P. 71–74. DOI: 10.1097/WNF.00000000000000431.
4. Chen W., Liu P., Liu D., Huang H., Feng X., Fang F., ... Hu Y. Maprotiline restores ER homeostasis and rescues neurodegeneration via Histamine Receptor H1 inhibition in retinal ganglion cells. *Nature Communications*. 2022. Vol. 13, No. 1. P. 6796. DOI: 10.1038/s41467-022-34682-y.
5. Clarke's analysis of drugs and poisons: In pharmaceuticals, body fluids and postmortem material / ed. by C. Moffat, M. D. Osselson, B. Widop. 4th ed. London, Chicago: Pharmaceutical Press, 2011. 2736 p.
6. Zamani R., Yamini Y. On-Chip Electromembrane Surrounded Solid Phase Microextraction for Determination of Tricyclic Antidepressants from Biological Fluids Using Poly(3,4-ethylenedioxythiophene)-Graphene Oxide Nanocomposite as a Fiber Coating. *Biosensors (Basel)*. 2023. Vol. 13, No. 1. P. 139. DOI: 10.3390/bios13010139.
7. Ntoupas P. A., Armaos K. P., Athanaselis S. A., Spiliopoulou C. A., Papoutsis I. I. Study of the distribution of antidepressant drugs in vitreous humor using a validated GC/MS method. *Forensic Science International*. 2020. Vol. 317. P. 110547. DOI: 10.1016/j.forsciint.2020.110547.
8. Ma W., Gao X., Guo H., Chen W. Determination of 13 antidepressants in blood by UPLC-MS/MS with supported liquid extraction pretreatment. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Science*. 2021. Vol. 1171. P. 122608. DOI: 10.1016/j.jchromb.2021.122608.
9. De Boeck M., Dubrulle L., Dehaen W., Tytgat J., Cuypers E. Fast and easy extraction of antidepressants from whole blood using ionic liquids as extraction solvent. *Talanta*. 2018. Vol. 180. P. 292–299. DOI: 10.1016/j.talanta.2017.12.044.
10. Настанова щодо проведення судово-токсикологічних досліджень / уклад. М. А. Савченко, В. О. Чубенко. Київ, 2024. 58 с.
11. ICH Harmonised Guideline. Validation of Analytical Procedures Q2(R2) 2022. 39 p. URL: ich-guideline-q2r2-validation-analytical-procedures-step-2b_en.pdf.

REFERENCES

1. Pisani, F., Rosa, P.L., Barbieri, M.A., de Leon, J., Spina, E. (2023). Optimization of Therapy in Patients with Epilepsy and Psychiatric Comorbidities: Key Points. *Current Neuropharmacology*, 21(8), 1755-1766. DOI: 10.2174/1570159X20666220526144314.
2. Jwrgensen, C.K., Juul, S., Siddiqui, F., Barbateskovic, M., Munkholm, K., Hengartner, M.P., ... Jakobsen, J. (2021). Tricyclic antidepressants versus 'active placebo', placebo or no intervention for adults with major depressive disorder: a protocol for a systematic review with meta-analysis and Trial Sequential Analysis. *Cochrane System Review*, 10(1), 227. DOI: 10.1186/s13643-021-01789-0.
3. Alotaibi, M.S., Yousuf, A.Z., Khan, A., Alshamari, N.S. (2021). Late Presentation of Linezolid-Induced Serotonin Syndrome After Maprotiline and Mirtazapine Therapy: A Case Report. *Clinical Neuropharmacology*, 44(2), 71-74. DOI: 10.1097/WNF.0000000000000431.
4. Chen, W., Liu, P., Liu, D., Huang, H., Feng, X., Fang, F., ... Hu, Y. (2022). Maprotiline restores ER homeostasis and rescues neurodegeneration via Histamine Receptor H1 inhibition in retinal ganglion cells. *Nature Communications*. 13(1), 6796. DOI: 10.1038/s41467-022-34682-y.
5. Moffat, A.C., Osselton, M.D., Widdop, B. (2011). Clarke's analysis of drugs and poisons in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material. 4th ed. London, Chicago: Pharmaceutical Press.
6. Zamani, R., Yamini, Y. (2023). On-Chip Electromembrane Surrounded Solid Phase Microextraction for Determination of Tricyclic Antidepressants from Biological Fluids Using Poly(3,4-ethylenedioxythiophene)-Graphene Oxide Nanocomposite as a Fiber Coating. *Biosensors (Basel)*. 13(1), 139. DOI: 10.3390/bios13010139.
7. Ntouna, P.A., Armaos, K.P., Athanaselis, S.A., Spiliopoulou, C.A., Papoutsis, I.I. (2020). Study of the distribution of antidepressant drugs in vitreous humor using a validated GC/MS method. *Forensic Science International*. 317, 110547. DOI: 10.1016/j.forsciint.2020.110547.
8. Ma, W., Gao, X., Guo, H., Chen, W. (2021). Determination of 13 antidepressants in blood by UPLC-MS/MS with supported liquid extraction pretreatment. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Science*. 1171, 122608. DOI: 10.1016/j.jchromb.2021.122608.
9. De Boeck, M., Dubrulle, L., Dehaen, W., Tytgat, J., Cuypers, E. (2018). Fast and easy extraction of antidepressants from whole blood using ionic liquids as extraction solvent. *Talanta*, 180, 292-299. DOI: 10.1016/j.talanta.2017.12.044.
10. Savchenko, M.A., Chubenko, V.O. (2024). *Nas-tanova shchodo provedennia sudovo-toksykologichnykh doslidzhen [Guidelines for conducting forensic toxicological studies]*. Kyiv [in Ukrainian].
11. ICH Harmonised Guideline. Validation of Analytical Procedures Q2(R2) [Electronic resource]. (2022). P. 39. Retrieved from: ich-guideline-q2r2-validation-analytical-procedures-step-2b_en.pdf.

Адреса для листування: svitkrp@gmail.com

S. V. Baiurka¹, S. A. Karpushyna²

¹NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY OF THE MINISTRY OF HEALTH OF UKRAINE

²UMAN NATIONAL UNIVERSITY OF HORTICULTURE

ISOLATION OF MAPROTILYNE FROM BIOLOGICAL FLUIDS

Summary

Introduction. Recently, the incident depression morbidity has shown a steady increasing trend thus the number of poisonings with antidepressant drugs is growing. Analytical aspects of the toxicology of Maprotilyne, an antidepressant medication, are not sufficiently developed.

The aim of this study was to develop the conditions for Maprotilyne isolation from blood and urine by liquid-liquid extraction technique.

Research Methods. Model samples of human biological fluids spiked with Maprotilyne were studied in the research. The antidepressant was isolated from blood and urine by the method of liquid-liquid extraction with methylene chloride from an alkaline aqueous medium at pH 9 in the presence of ammonium sulphate as a salting-out agent. Biogenic co-extractive impurities from biological fluids were removed by extraction with hexane from an acidic medium at pH 1. The red blood cell mass was pre-precipitated by adding 10% trichloroacetic acid solution. The quantitative content of the drug in the extracts was determined using the UV spectrophotometry method after additional TLC purification.

Results and Discussion. Detection of Maprotilyne in the extracts from biological fluids was carried out by UV spectra, which coincided with the standard solution of the antidepressant being studied in 0.1 M hydrochloric acid solution and had light absorption maxima at wavelengths of 265±2 and 272±2 nm. Quantitative determination of the drug in the extracts was performed using the equation of the calibration curve $y=(0.00320\pm5\cdot10^{-5})\cdot x+(0.03\pm0.01)$, which was linear in the range of analyte concentrations of 20.0–360.0 µg/mL. The recovery of Maprotilyne from blood was 49.3±3.5% and from urine it was equal to 82.6±2.2%.

Conclusions. Effective methods for Maprotilyne isolation from blood and urine using liquid-liquid extraction in the presence of ammonium sulphate as a salting-out agent have been developed. The suitability of the UV spectrophotometry method for Maprotilyne determination in the biological fluids has been proven, which was

confirmed by a number of the validation parameters relating to the expected content of the antidepressant being studied in the biological fluids in fatal poisonings. The results obtained can be used for forensic toxicological examinations in acute and fatal poisonings with antidepressant drugs.

KEY WORDS: **Maprotilyne, biological fluids, isolation, TLC, UV spectrophotometry.**