

MOŽNOSTI DIAGNOSTIKY INTOXIKACÍ ANTIDEPRESIVY

MARIE STAŇKOVÁ^a, PETER ONDRA^b
a PETR KURKA^a

^a Ústav soudního lékařství FN Ostrava, 17. listopadu 1790, 708 52 Ostrava-Poruba, ^b Ústav soudního lékařství FN Olomouc, Hněvotínská 3, 772 00 Olomouc
marie.stankova@tiscali.cz, petr.kurka@fnspo.cz
ondra@tunw.upol.cz

Došlo 5.1.06, přepracováno 17.12.06, přijato 9.1.07.

Klíčová slova: antidepresiva nových generací, analýza antidepresiv, TLC, GC-MS

Úvod

Pojem antidepresiva (AD)¹ zahrnuje psychofarmaka, která přímo specificky působí na depresivní stavy endogenního (vznikajícího uvnitř organismu), méně již na deprese exogenního původu, např. deprese somatogenní a sociogenní. Jde o chemicky různorodou skupinu látek s rozdílnými farmakokinetickými a farmakodynamickými vlastnostmi, metabolismem, výskytem nežádoucích účinků, rozdílnou toxicitou. Ze širokého sortimentu této skupiny léčiv byla vybrána antidepresiva nových generací, která z velké části nahradila relativně toxická léčiva ze skupiny tzv. tricyklických antidepresiv. Výskyt různých forem poruch nálady, depresí a úzkostných stavů mají dle statistických údajů stále rostoucí tendenci. Roční prevalence se odhaduje téměř na 10 %. Je tedy zřejmé, že léčba těchto problémů přináší i rostoucí spotřebu uvedených léků, jejichž účinné látky se pak objevují stále častěji i v biologickém materiálu analyzovaném v toxikologických laboratořích. S novými antidepresivy se setkáváme u akutních intoxikací především v kombinaci s dalšími léčivy nebo alkoholem, a to u úmyslných nebo náhodných (především malé děti), při kontrole terapie, zneužití atd.

Toxikologická analýza je důležitou součástí diagnostických postupů potřebných k získání informace o akutní nebo chronické expozici vyšetřované osoby toxikologicky významné látky – noxe.

K získání validních výsledků toxikologického vyšetření je potřeba volit vhodný biologický materiál. Běžně odebíraný biologický materiál k toxikologickému vyšetření u živých osob je moč, žaludeční obsah (zvratky, výplach žaludku) a krev. U mrtvých osob kromě uvedených materiálů i vzorky tkání (játra, ledviny). Dalším krokem je izolace nox z biologického materiálu. Výběr izolačního postupu závisí na druhu analyzovaného biologického materiálu, charakteru hledané či stanovované látky, volbě následně použité analytické metody k průkazu či stanovení vlastní

látky atd. Důležitá pak je i volba analytické metody pro účely záchytu, identifikace a stanovení stopových koncentrací nox v biologickém materiálu.

Přední místo v analýze nových antidepresiv zaujímají separační techniky.

V mnoha toxikologických laboratořích je pro záchyt a identifikaci extrahovaných látek stále využívána metoda tenkovrstvé chromatografie. Analýze nových antidepresiv je v literatuře věnováno již málo nových prací^{2,3}.

Metoda GC-MS je stále nejcitlivější, specifická a univerzální analytická metoda pro analýzu nízkomolekulárních látek. Spojení plynové chromatografie s hmotnostní detekcí poskytuje účinnou separaci, selektivitu a citlivost detekce a umožňuje využít širokých databází hmotnostních spekter. Právě využití této techniky pro záchyt a identifikaci jednotlivých látek ze skupiny nových antidepresiv a jejich metabolitů je věnována celá řada prací. Většinu antidepresiv je možno zachytit a identifikovat bez předchozí derivatizace^{4,5}. Maurer a Bickeboeller analyzují antidepresiva ve formě jejich acetylderivátů⁶, Eap a spol.⁷ po derivatizaci *N*-methylbis(trifluoracetyl)amidem.

Ke kvalitativní analýze cíleně zaměřené na úzký okruh látek je využívána také metoda HPLC, a to s využitím UV detektoru⁸ či hmotnostního detektoru⁹.

Pro kvantitativní analýzu nových antidepresiv je rovněž využívána metoda plynové chromatografie, a to s použitím plamenoionizačního detektoru (FID)¹⁰ a citlivého termoionizačního detektoru (NPD, ATP)^{11,12}. Více se používá metoda GC-MS^{13–15}.

Pro kvantitativní analýzu nových antidepresiv je více prací věnováno využití vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC). Z detektorů jsou nejvíce zastoupeny UV detektory, fluorescenční detektory a detektory s diodovým polem (DAD)^{16–21}. Stále více prací je zaměřeno na využití spojení HPLC s hmotnostním detektorem (LC-MS)^{22–25}.

V článku je popsána možnost průkazu a stanovení vybraných antidepresiv (maprotilin, mianserin, trazodon, milnacipran, mirtazapin, moclobemid, citalopram, fluoxetin, fluvoxamin, paroxetin, sertralin a venlafaxin) chromatografií na tenké vrstvě a plynovou chromatografií s hmotnostní detekcí včetně výtěžnosti extrakce sledovaných látek tuhou fází z biologického materiálu. Byly stanoveny limity detekce (LOD) a limity kvantifikace (LOQ) pro sledovanou AD. Byly vypracovány metody kvantifikace příslušných antidepresiv v krvi (séru) a sledována linearita kalibračních závislostí těchto metod v rozsahu od terapeutických až po letální koncentrace.

Experimentální část

Chemikálie

Byly použity chemikálie diethylether p.a. nestabilizovaný, kyselina chlorovodíková konc., dichlormethan, isopropylalkohol, methanol, acetonitril, ethyl-acetát, amoniak (25% vodný roztok), kyselina fosforečná, síran sodný bezvodý (vše p.a., Penta Chrudim, ČR), ethanol, hydroxid

sodný(p.a., Jan Kulich Hradec Králové, ČR), hydrogenfosforečnan draselný trihydrát (p.a., Merck, Německo), octan sodný, síran amonný (p.a., Lach-Ner, s.r.o. Neratovice, ČR). Substance antidepressiv: citalopram hydrobromid a fluoxetin hydrochlorid od fy Zentiva, Praha, ČR, fluvoxamin maleát, maprotilin hydrochlorid, mianserin hydrochlorid, paroxetin hydrochlorid, sertralin hydrochlorid, trazodon hydrochlorid a venlafaxin hydrochlorid fy Sigma Aldrich, USA. Milnacipran hydrochlorid byl izolován z tabletové formy léku Ixel fy Pierre Fabre Médicament, Boulogne Cedex, Francie, mirtazapin byl izolován z tabletové formy léku Remeron fy N. V. Organon, Oss, Nizozemsko a moclobemid byl izolován z tabletové formy léku Aurorix fy Hoffmann-La Roche Ltd, Basel, Švýcarsko. Identita byla ověřena bodem tání a analýzou metodou GC-MS.

Standardní roztoky antidepressiv byly připraveny o koncentraci 0,025 mg ml⁻¹ v ethanolu (odpovídá koncentraci bazí jednotlivých antidepressiv). Standardní roztok vnitřního standardu propiverinu v ethanolu byl připraven o koncentraci 0,06 mg ml⁻¹.

Aparatura

Extrakce tuhou fází byla provedena s použitím extrakčních kolonek SPEC-DAU, 3 ml, 30 mg, Varian, USA, SPE Evidex, 6 ml, 400 mg, J&W Scientific, USA, DC-Alufolien Kieselgel 60, 0,2 mm fy Merck, Německo.

Materiál a metody

Pro účely kvalitativní analýzy byly u případů akutní intoxikace dodány moč, případně žaludeční obsah pacienta. Pokud šlo o kontrolu terapie, byla vždy dodána moč a v případech letálních intoxikací žaludeční obsah, jaterní tkáň a moč (pokud bylo možno odebrat). Pro kvantitativní analýzu (stanovení hladiny) byla dodána srážlivá krev.

Zpracování vzorků

Kvalitativní analýza

Vzorky 20–50 ml moče (M) a zfiltrovaného žaludečního obsahu (ŽO) byly po úpravě pH na hodnotu 3–4 zředěnou kyselinou chlorovodíkovou extrahovány do etheru. Po úpravě pH vodné fáze na hodnotu 10 byla znovu provedena extrakce do etheru. Extrakce byla provedena dvakrát z kyselého a dvakrát z alkalického prostředí. K extrakci byl brán vždy 1,5 násobek objemu etheru k objemu vodné fáze. Ether byl odpařen na vodní lázni do sucha. Odparky byly označeny M(A) příp. ŽO(A) – extrakty z kyselého prostředí a M(B) příp. ŽO(B) – extrakty z alkalického prostředí. Moč byla poté podrobena kyselé hydrolyze. K moči byla přidána koncentrovaná kyselina chlorovodíková (1 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové na 10 ml moče). Směs se 10 min vařila pod zpětných chladičem, po ochlazení a úpravě pH na 8–10 byla provedena extrakce do 1,5 násobného objemu etheru k objemu vodné

fáze. Po odpaření byl odparek označen M(H). Odparky byly pro analýzu rozpuštěny v 0,5 ml ethanolu.

Kvantitativní analýza

Pro účely kvantitativní analýzy byla antidepressiva izolována extrakcí tuhou fází (SPE) následujícím postupem: kondicionace: 0,5 ml methanolu, 0,5 ml fosfátového pufru (pH 6); aplikace vzorku (1 ml séra s přidavkem 10 µl vnitřního standardu a 4 ml fosfátového pufru o pH 6); promytí: 0,5 ml destilované vody, 0,5 ml acetátového pufru o pH 4,5, 0,5 ml methanolu, 5 min vakuum; eluce: 2 × 1 ml směsi dichlormethan-isopropylalkohol-amoniak (4:1:0,1). Eluát byl odpařen při teplotě 40 °C v proudu dusíku do sucha a odparek byl rozpuštěn v 0,05 ml methanolu.

Stejným postupem byly zpracovány vzorky pro kalibraci v rozsahu 0,02–2,00 mg l⁻¹ pro citalopram, maprotilin, mianserin, mirtazapin, sertralin a venlafaxin, 0,10–2,00 mg l⁻¹ pro fluoxetin, fluvoxamin, milnacipran, moclobemid a paroxetin a 0,50–2,50 mg l⁻¹ pro trazodon.

Analýza chromatografií na tenké vrstvě (TLC)

Pro analýzu etherových extraktů M(B) případně M(H) obsahujících izolovaná antidepressiva z příslušného biologického materiálu byl použit modifikovaný systém dle Večerkové²⁶. Extrakty rozpuštěné v 0,5 ml ethanolu byly nanášeny na vrstvu silikagelu (DC Alufolien Kieselgel) proti směsi standardů (diazepam, aminofenazon, fenmetrazin, kodein, atropin – ozn. DAFCA). Chromatografické desky byly vyvíjeny v soustavě ethyl-acetát-ethanol-amoniak (36:2:2) a detegovány těmito činidly: kyselina sírová v ethanolu (1:1), Dragendorffovo činidlo a jod v chloroformu. Po postřiku kyselinou sírovou v ethanolu byl chromatogram prohlížen v UV světle při 254 a 365 nm.

Analýza plynovou chromatografií s hmotnostní detekcí (GC-MS)

Kvalitativní analýza

Analýzy byly provedeny na přístroji GC-MS firmy Shimadzu, Japonsko. Plynový chromatograf GC 17 A, hmotnostní detektor MS QP 5050 s elektronovou ionizací (EI, 70 eV). Kolona kapilární, délka 30 m, průměr 0,32 mm, tloušťka filmu 0,25 µm 5 % poly(fenylsiloxanu) – fáze Zebron ZB 5 (firmy Phenomenex, USA). Podmínky analýzy: teplota injektoru 250 °C, detektoru (interface) 280 °C, program analýzy 80 °C (20 °C/ min) 270 °C (15 min), nosný plyn helium s konstantním průtokem 2,2 ml min⁻¹ – teplotní program 1.

Analýzy byly provedeny ve skenovacím modu v rozsahu *m/z* 50–500. K identifikaci bylo použito srovnání retenčních časů *t_R* a hmotnostních spekter separovaných látek s *t_R* a hmotnostními spektry standardů.

Kvantitativní analýza

Stanovení antidepresiv ve vzorcích séra (krve) po jejich izolaci metodou SPE bylo provedeno metodou GC-MS za podmínek uvedených výše. Pouze pro stanovení trazodonu je nutné změnit teplotní program analýzy na 150 °C (30 °C/min) 280 °C (10 min) s konstantním průto-

kem nosného plynu helia 2,0 ml min⁻¹ – teplotní program 2. Analýza byla prováděna v SIM modu s 2 hodnotami *m/z* pro stanovovanou látku a s 2 hodnotami *m/z* pro vnitřní standard (tab. I).

Do přístroje byl dávkován 1 µl vzorku.

Tabulka I
GC-MS charakteristiky analyzovaných antidepresiv

Antidepressivum	<i>m/z</i>	<i>t_R</i> [min]	pík č. (obr. 4)
Citalopram	58, 238	11,1	10
Fluoxetin	59, 183	7,9	1
Fluvoxamin	187, 276	8,0	2
Maprotilin	59, 277	10,7	8
Mianserin	193, 264	9,9	5
Milnacipran	204, 246	8,3	3
Mirtazapin	195, 208	10,2	7
Moclobemid	100, 139	10,0	6
Paroxetin	192, 329	12,5	12
Sertralin	262, 276	10,9	9
Trazodon	176, 278	18,6 ^a	
Venlafaxin	58, 134	9,2	4
Propiverin ^b	183, 225	11,2	11

^a Jiný teplotní program (teplotní program 2); ^b vnitřní standard

Výsledky a diskuse**Zpracování biologického materiálu**

V použitém postupu klasické frakční extrakce (moči a žaludečního obsahu) do etheru přecházejí sledovaná antidepresiva a jejich metabolity do extraktu z alkalického prostředí – M(B). Sertralin a jeho metabolity a paroxetin s metabolity se v moči nacházejí ve volné formě jen v nízkých koncentracích a je vhodné jejich uvolnění z konjugátu kyselou hydrolyzou.

Pro účely kvantitativní analýzy byla použita izolace vybraných antidepresiv extrakcí tuhou fází (SPEC-DAU) postupem modifikovaným pro izolaci bazických látek. Byla určena extrakční výtěžnost, která se u většiny sledovaných antidepresiv pohybuje nad 70 %, pouze u moclobemidu a trazodonu je výtěžnost nižší (kolem 40 %), ale i u nich je výtěžnost reprodukovatelná (tab. II).

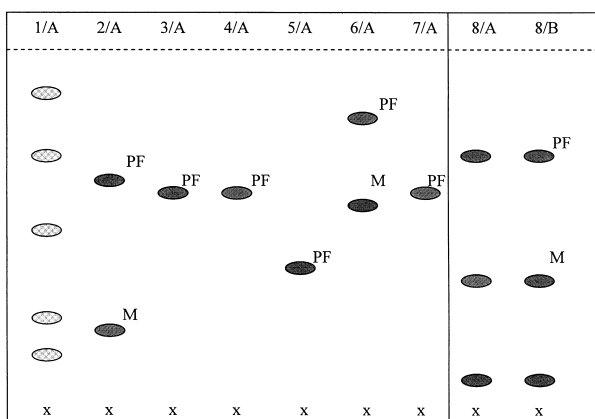
Analýza metodou TLC

Pro sledovaná antidepresiva byla testována citlivost detekce (kyseliny sírová v ethanolu, Dragendorffovo činidlo a jod v chloroformu). Použitý postup detekce je málo citlivý pro záchyt fluxetinu, fluvoxaminu, sertralínu a paroxetinu v moči, protože uvedená antidepresiva se do mo-

Tabulka II
Výtěžnosti extrakce antidepresiv, limity detekce a kvantifikace

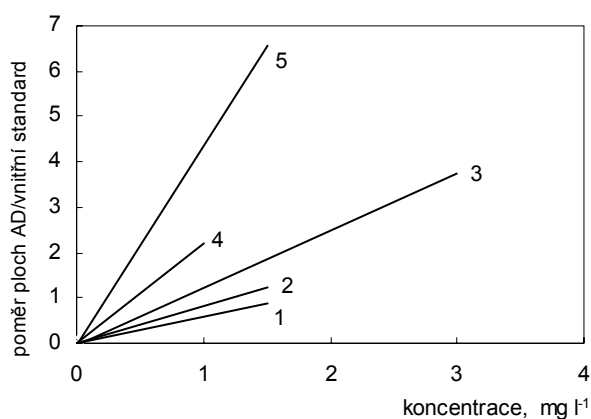
Antidepressivum	Výtěžnost extrakce ^a [%]	RSD [%]	Výtěžnost extrakce ^b [%]	RSD [%]	LOD ^c [ng ml ⁻¹]	LOQ ^d [ng ml ⁻¹]
Citalopram	98	4,4	95	5,9	0,5	2
Fluoxetin	80	4,7	85	6,6	15	50
Fluvoxamin	72	8,9	73	2,7	50	100
Maprotilin	75	4,0	90	4,3	2	5
Mianserin	99	2,7	94	6,4	0,5	2
Milnacipran	93	4,9	91	5,0	15	50
Mirtazapin	80	9,0	82	6,5	0,5	2
Moclobemid	40	2,5	49	9,3	2	5
Paroxetin	81	6,2	92	6,2	50	100
Sertralin	86	5,3	83	7,0	0,5	2
Trazodon	40	9,3	49	9,9	50	100
Venlafaxin	99	3,6	91	5,8	0,5	2

^a Výtěžnost extrakce při koncentraci 0,2 mg l⁻¹, ^b výtěžnost extrakce při koncentraci 2,0 mg l⁻¹, ^c LOD – limit detekce, ^d LOQ – limit kvantifikace



Obr. 1. Analýza TLC vybraných antidepresiv; deska: DC-Alufolien Kieselgel, vyvíjecí soustava: ethyl-acetát-ethanol-amoniak (36:2:2); 1 – DAFCA (diazepam, aminofenazon, fenmetrazin, kodein, atropin), 2 – citalopram, 3 – fluoxetin; 4 – fluvoxamin; 5 – maprotilin; 6 – mianserin; 7 – moclobemid, 8 – trazodon; A – detekce činidly: kyselina sírová, Dragendorffovo činidlo, jod v chloroformu, B – fluorescence v UV světle (365 nm) po postřiku kyselinou sírovou. PF – původní forma léčiva, M – metabolit

če vylučují v původní formě pouze v minimálním množství. Záchyt v žaludečním obsahu při předávkování je i u uvedených látek dostatečně citlivý, pokud nejde o intoxikaci směsí léků. TLC jako identifikační metoda v použitém uspořádání je dostatečná pro rychlý průkaz citalopramu, maprotilimu, mianserinu, moclobemidu, trazodonu a venlafaxinu (záchyt od cca 1 µg ve skvrně). Velmi citlivá je pro citalopram, který dává s Dragendorffovým činidlem postupně tmavnoucí skvrnu (záchyt od cca 0,2 µg



Obr. 2. Závislost poměru plochy píku antidepresiva (AD) a vnitřního standardu na koncentraci jednotlivých AD v séru; 1 – moclobemid, 2 – mianserin, 3 – mirtazapin, 4 – citalopram, 5 – venlafaxin

Tabulka III
Regresní rovnice a korelační koeficienty kalibračních přímků antidepresiv

Antidepresivum	Regresní rovnice ^a	R ²
Citalopram	$y = 2,2133 x - 0,0198$	0,9996
Fluoxetin	$y = 0,1976 x - 0,0057$	0,9986
Fluvoxamin	$y = 0,0443 x + 0,0002$	0,9976
Maprotilin	$y = 0,7341 x - 0,0035$	0,9997
Mianserin	$y = 0,8258 x - 0,0033$	0,9932
Milnacipran	$y = 0,1493 x - 0,0013$	0,9971
Mirtazapin	$y = 1,2566 x - 0,0236$	0,9987
Moclobemid	$y = 0,5993 x + 8 \cdot 10^{-5}$	0,9945
Paroxetin	$y = 0,1716 x - 0,006$	0,9989
Sertralin	$y = 0,4076 x + 0,0036$	0,9965
Trazodon	$y = 0,4615 x + 0,0154$	0,9866
Venlafaxin	$y = 4,3793 x - 0,0238$	0,9877

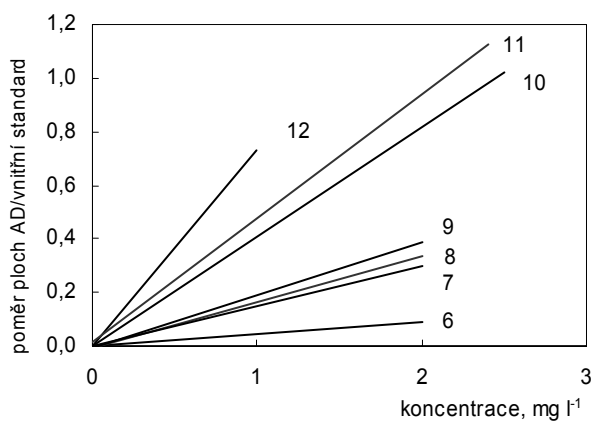
^a Koncentrační interval: 0,02–2,00 mg l⁻¹ pro citalopram, maprotilin, mianserin, mirtazapin, sertralin a venlafaxin, 0,10–2,00 mg l⁻¹ pro fluoxetin, fluvoxamin, milnacipran, moclobemid a paroxetin, 0,50–2,50 mg l⁻¹ pro trazodon

ve skvrně), mirtazapin a trazodon, které v UV světle vykazují modrou fluorescenci (citlivost od cca 0,2 µg ve skvrně). Záznamy TLC analýzy některých AD jsou uvedeny na obr. 1.

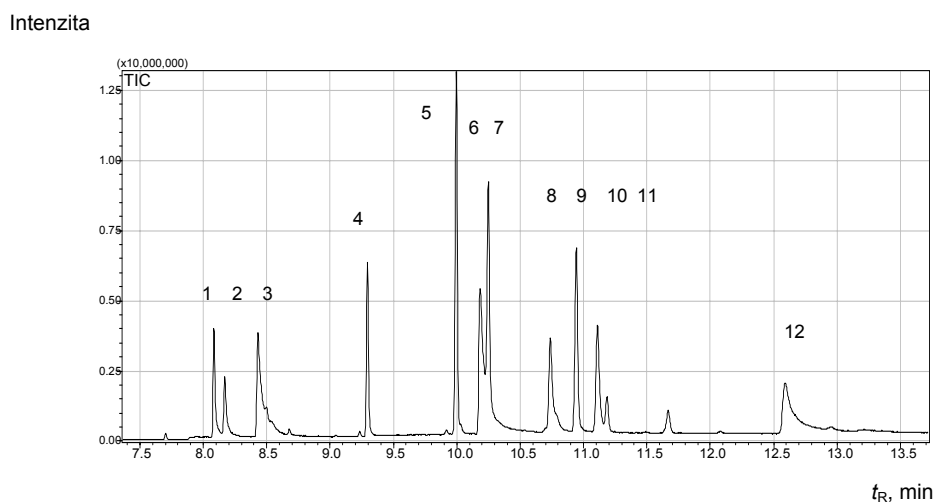
Analýza metodou GC-MS

Kvalitativní analýza

Sledovaná antidepresiva a jejich metabolity lze za-



Obr. 3. Závislost poměru plochy píku antidepresiva (AD) a vnitřního standardu na koncentraci jednotlivých AD v séru; 6 – fluvoxamin, 7 – milnacipran, 8 – fluoxetin, 9 – paroxetin, 10 – sertralin, 11 – trazodon, 12 – maprotilin



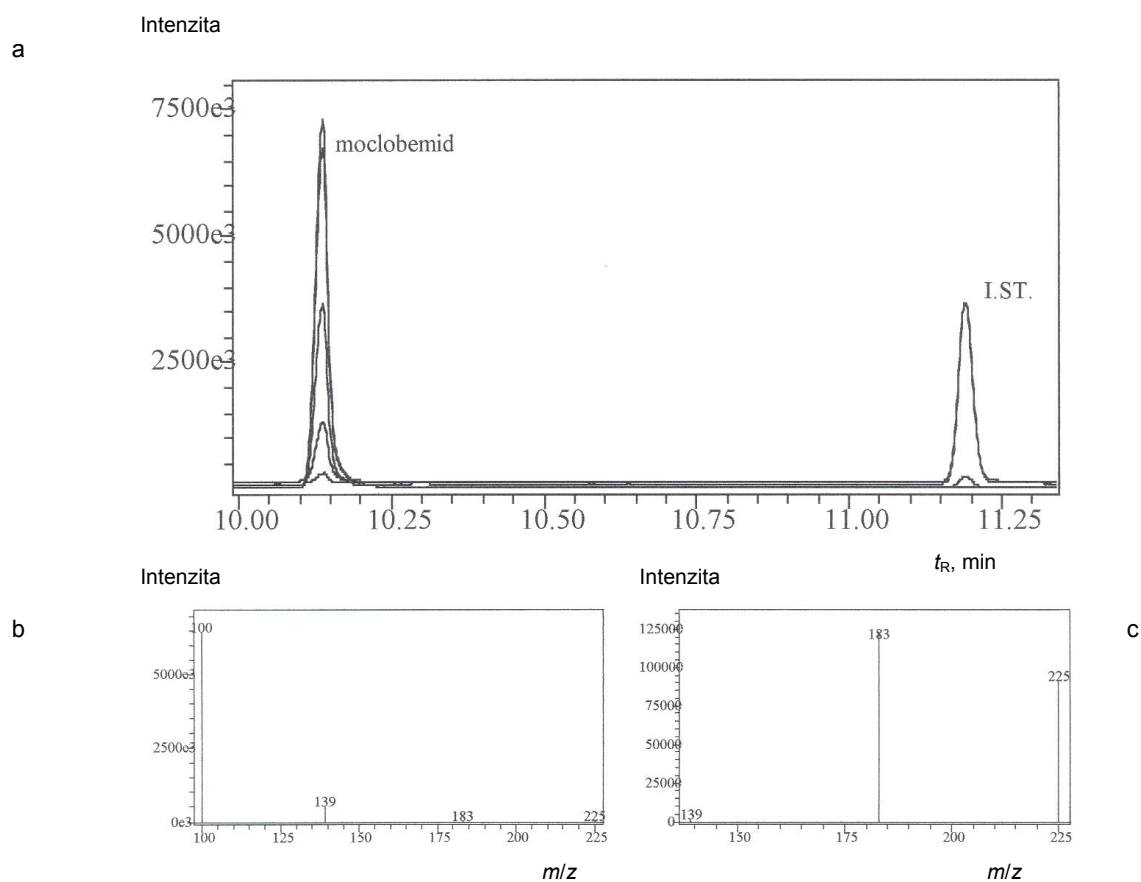
Obr. 4. GC-MS chromatogram séra s přidavkem standardů antidepresiv; podmínky extrakce a program analýzy je uveden v textu. 1 – fluoxetin, 2 – fluvoxamin, 3 – milnacipran, 4 – venlafaxin, 5 – mianserin, 6 – moclobemid, 7 – mirtazapin, 8 – maprotilin, 9 – sertralin, 10 – citalopram, 11 – vnitřní standard – propiverin, 12 – paroxetin. Koncentrace AD v séru 5 mg l⁻¹, citalopram a venlafaxin 0,5 mg l⁻¹. Analýza ve skenovacím módu

Tabulka IV

Stanovené hladiny antidepresiv v krvi u letálních případů předávkování

Číslo	Pohlaví/věk	Antidepresivum	Hladina [mg l ⁻¹]	Další léky	Hladina [mg l ⁻¹]
1.	Ž/41	citalopram	0,80	promethazin	10,20
2.	Ž/47	moclobemid	18,20	promethazin	7,44
3.	M/50	mianserin	1,33	levomepromazin dosulepin alkohol	0,51 2,76 0,49*
4.	M/38	moclobemid	32,00	promethazin alkohol	19,00 1,88*
5.	M/51	citalopram	1,24	levomepromazin ketamin	0,04 NQ
6.	M/37	citalopram	2,39	morphin alkohol	2,52 1,20*
7.	Ž/55	mianserin sertralin	0,02 0,76	tramadol zolpidem betaxolol	2,15 0,22 0,12
8.	M/74	trazodon	3,20	betaxolol alkohol	0,35 2,45*
9.	Ž/51	trazodon dibenzepin	7,90 30,00	ibuprofen chlordiazepoxid	56,50 0,69
10.	M/55	maprotilin	12,20	zolpidem	1,10
11.	M/39	citalopram	3,31	metoprolol	40,20

Toxické hladiny: citalopram – nad 0,5 mg l⁻¹, moclobemid – nad 3 mg l⁻¹, mianserin – nad 0,5 mg l⁻¹, sertralin – nad 0,5 mg l⁻¹, trazodon – nad 4 mg l⁻¹, maprotilin – nad 0,5 mg l⁻¹ (27), NQ – nekvantifikován, * hladina alkoholu v g kg⁻¹



Obr. 5. GC-MS chromatogram séra pacienta intoxikovaného moclobemidem; analýza v SIM modu (a) s m/z 100 a 139 pro moclobemid (b) a m/z 183 a 225 pro vnitřní standard (c) (propiverin)

chytit a identifikovat v použitém systému GC-MS analýzy (teplotní program 1). Pouze pro záchyt trazodonu je nutno použít vyšších teplot (teplotní program 2). Sledovaná antidepresiva a některé jejich metabolity v moči je možno analýzou GC-MS zachytit a jednoznačně identifikovat po aplikaci terapeutických dávek. Záchyt paroxetinu a sertralínu a jejich metabolitů v moči je možný po jejich uvolnění z konjugátu kyselou hydrolyzou.

Kvantitativní analýza

Stanovení antidepresiv ve vzorcích krve (séra) po jejich izolaci extrakcí tuhou fází bylo provedeno metodou GC-MS. Byly stanoveny limity detekce (LOD) a kvantifikace (LOQ). Jako mez detekce byla brána hodnota poměru signálu píku sledovaného antidepresiva k šumu (S/N) = 3, jako mez stanovitelnosti (kvantifikace) pak poměr S/N = 10. Výsledky jsou uvedeny v tab. II. Pro většinu sledovaných antidepresiv je použita metoda dostatečně citlivá – limit kvantifikace je výrazně nižší než v literatuře uváděná nejnižší terapeutická hladina (citalopram, mianserin, maprotilin, mirtazapin, moclobemid, sertralín a venlafaxin). Pro ostatní antidepresiva je použita metoda dostatečná pro jejich stanovení v případech akutních intoxikací.

Lineární odezva použité metody byla ověřena na standardních roztocích antidepresiv v rozsahu tří řádů (od nejnižších terapeutických hladin až po hladiny toxické případně letální). K výpočtu směrnice regresní křivky, úseku na ose Y i korelačního koeficientu R^2 , který byl ve většině případů vyšší než 0,99, byla použita metoda lineární regrese. Parametry kalibračních křivek jsou uvedeny v tab. III. Na obr. 2 a 3 jsou uvedeny kalibrační přímky pro jednotlivá AD.

Na obr. 4 je uveden chromatografický záznam analýzy séra s přidavkem vybraných antidepresiv a na obr. 5 jsou záznamy reálného vzorku analyzovaného séra při intoxikaci moclobemidem. Metoda byla aplikována při kvantifikaci antidepresiv u letálních i neletálních případů intoxikací. V tab. IV jsou uvedeny výsledky analýz u případů letálních intoxikací novými antidepresivy v kombinaci s jinými léčivy.

Závěr

V článku jsou uvedeny možnosti záchytu a identifikace vybraných antidepresiv nových generací (maprotilin, mianserin, trazodon, milnacipran, mirtazapin, moclobemid).

mid, citalopram, fluoxetin, fluvoxamin, paroxetin, sertralin a venlafaxin) v biologickém materiálu. Záchyt a identifikace v použitém uspořádání metod TLC a GC-MS jsou dostatečně citlivé a spolehlivé pro většinu sledovaných antidepresiv. Pro účely kvantitativní analýzy metodou GC-MS byla použita izolace sledovaných antidepresiv z biologického materiálu (krev, sérum) extrakcí tuhou fází (SPEC-DAU) s postupem modifikovaným pro bazické látky. Metoda je u všech sledovaných AD dostatečně citlivá pro případy akutních intoxikací a u většiny antidepresiv (citalopram, fluoxetin, fluvoxamin, mianserin, maprotilin, mirtazapin, moclobemid, sertralin, trazodon a venlafaxin) citlivá i pro jejich stanovení v rozpětí terapeutických hladin.

LITERATURA

- Švestka J.: *Psychofarmaka v klinické praxi*. Grada Publishing, Praha 1995.
- Misztal G., Hopkala H., Slawik T.: *Acta Pol. Pharm.* 54, 257 (1997).
- Nováková E.: *Soud. Lék.* 49, 2 (2004).
- Lacassie E., Ragot S., Gaulier J. M., Marquet P., Lachat G.: *Acta Clin. Belg. Suppl. 1*, 20 (1999).
- Goeringer K. E., Raymon L., Christian G. D., Logan B. K.: *J. Forensic Sci.* 45, 633 (2000).
- Mauer H. H., Bickeboeller-Friedrich J.: *J. Anal. Toxicol.* 24, 340 (2000).
- Eap C. B., Bouchoux G., Amey M., Cochard N., Savary L., Baumann P.: *J. Chromatogr. Sci.* 36, 365 (1998).
- Dallet Ph., Labat L., Kummer E., Dubost J. P.: *Eur. J. Emergency Med.* 8, 79 (2001).
- Berzas Nevado J. J., Villasenor Llerena M. J., Contento Salcedo A. M., Aguas Nuevo E.: *J. Chromatogr. Sci.* 38, 200 (2000).
- Kollroser M., Schober C.: *Chromatographia* 57 (2003).
- Martinez M. A., Sanchez de la Torre C., Almerza E.: *J. Anal. Toxicol.* 28, 174 (2004).
- Fontanille P., Jourdil N., Villier C., Bessard G.: *J. Chromatogr., B: Biomed. Sci. Appl.* 692, 337 (1997).
- Staach R. F., Maurer H. H.: *J. Anal. Toxicol.* 27, 560 (2003).
- Burrows D. L., Hagardom A. N., Harlan G. C., Wallen E. D. B., Ferslew K. E.: *J. Anal. Toxicol.* 27, 179 (2003).
- Reymond P., Amey M., Spucne A., Lambert S., Konrat H., Eap C. B., Baumann P. J.: *J. Chromatogr.* 616, 221 (1993).
- Gaillard Y., Pepin G.: *Forensic Sci. Int.* 87, 239 (1997).
- Ohkubo T., Osanai T., Sugawara K., Ishida M., Otani K., Mihara K., Yasui N.: *J. Pharm. Pharmacol.* 47, 340 (1995).
- Duverneuil Ch., de la Grandmaison G. L., de Mazancourt Ph., Alvarez J. C.: *Ther. Drug Monit.* 25, 565 (2003).
- Titier K., Castaing N., Scotto-Gomez E., Pehourcq F., Moore N., Molimard M.: *Ther. Drug Monit.* 25, 581 (2003).
- Tournel G., Houdret N., Hedouin V., Deveau M., Gosset D., Lhermitte M.: *J. Chromatogr., B: Biomed. Sci. Appl.* 761, 147 (2001).
- Kristoffersen L., Bugre A., Lundanes E.: *J. Chromatogr., B: Biomed. Sci. Appl.* 734, 229 (1999).
- Nair M. B., Aaron J. J., Prognon P., Mahuzier G.: *Analyst* 123, 2267 (1998).
- Guttech U., Reutsch K. M.: *Clin. Chem. Lab. Med.* 41, 1571 (2003).
- Juan H., Zhiling Z., Nuance L.: *J. Chromatogr., B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 820, 33 (2005).
- Horkins J. M., Gross A. S., Shenfield G. M., Rivory L. P.: *J. Chromatogr., B: Biomed. Sci. Appl.* 754, 319 (2001).
- Večerková J.: *Postupy při záchytu a identifikaci léčiv a jejich metabolitů v biologickém materiálu pomocí chromatografie na tenkých vrstvách*. SPN, Praha 1983.
- Schulz M.: *Pharmazie* 58, 448 (2003).

M. Staňková^a, P. Ondra^b, and P. Kurka^a (^a*Institute of Forensic Medicine, University Hospital, Ostrava*, ^b*Institute of Forensic Medicine, Faculty of Medicine, Palacký University, Olomouc*): **The Possibilities of Diagnostics in Antidepressant Intoxications**

The article presents the possibilities of identification of selected antidepressants of new generations in biological materials. Identification of the drugs by TLC and GC-MS after ether extraction from biological materials (urine, stomach content) was tested. The detection is sensitive and reliable for most of the drugs. For quantitative GC-MS analysis, the drugs were isolated from blood or serum by solid phase extraction (SPE). The recovery of most drugs is over 70 %. Limits of detection (LOD, 3 S/N) as well as limits of quantification (LOQ, 10 S/N) have been determined. The LOD are 0.5–2 ng l⁻¹ for citalopram, maprotiline, mianserine, mirtazapine, moclobemide, sertraline and venlafaxine, 15 ng l⁻¹ for fluoxetine and milnacipran and 50 ng l⁻¹ for fluvoxamine, paroxetine and trazodone. LOQ are 2–5 ng l⁻¹ for citalopram, maprotiline, mianserine, mirtazapine, moclobemide, sertraline and venlafaxine, 50 ng l⁻¹ for fluoxetine and milnacipran and 100 ng l⁻¹ for fluvoxamine, paroxetine and trazodone. For all the monitored drugs, the method is sufficiently sensitive in acute intoxications and for most of the drugs also in determination of therapeutic levels.