

**РАЗРАБОТКА УСЛОВИЙ РАЗДЕЛЕНИЯ АНТИДЕПРЕССАНТОВ  
ВЕНЛАФАКСИНА И МИЛНАЦИПРАНА МЕТОДОМ ТОНКОСЛОЙНОЙ  
ХРОМАТОГРАФИИ, ПРИГОДНЫХ ДЛЯ ЦЕЛЕЙ ХИМИКО-  
ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА**

**Острецова Е.А., Баярка С.В., Карпушина С.А.**

*Национальный фармацевтический университет,  
кафедра токсикологической химии, г. Харьков*

**Ключевые слова:** венлафаксин, милнаципран, тонкослойная хроматография.

**Резюме:** Установлены параметры хроматографической подвижности венлафаксина и милнаципрана в скрининговых ТСХ-системах, рекомендованных ТИАФТ, а также в других ТСХ-системах, используемых в химико-токсикологическом анализе лекарственных веществ. Исследовано взаимодействие указанных антидепрессантов с рядом хромогенных реактивов. Предложены условия разделения и идентификации венлафаксина и милнаципрана методом ТСХ.

**Resume:** The chromatographic mobility parameters of venlafaxine and milnacipran in screening TLC Systems recommended by the TIAFT as well as in some other TLC Systems used in the chemical and toxicological analysis of drugs have been determined. The interaction between antidepressants mentioned above with some chromogenic reagents has been studied. The conditions for separation and identification of venlafaxine and milnacipran by TLC method have been proposed.

**Актуальность.** Венлафаксин (Венлаксор) и милнаципран (Иксел) являются тимоаналептиками последнего поколения и характеризуются двойным механизмом фармакологического действия: избирательным ингибированием обратного захвата серотонина и норадреналина (ИОЗСН) [1]. По химическому строению венлафаксин (1-[2-(диметиламино)-1-(4-метоксифенил)этил]циклогексанол) и милнаципран ((1*R*, 2*S*)-цис-2-(аминометил)-*N,N*-диэтил-1-фенилциклопропанкарбоксамид) являются моноциклическими соединениями.

Венлафаксин был первым представителем группы ИОЗСН и в настоящее время рассматривается как один из наиболее эффективных и доступных украинским пациентам антидепрессантов [3]. Сочетание относительной безопасности и эффективности ИОЗСН обуславливает их применение для лечения депрессий различной природы и степени тяжести [1, 3].

Тем не менее, зафиксированы случаи смертельных отравлений при передозировке указанными антидепрессантами [6, 7]. Первое смертельное отравление милнаципраном зарегистрировано в 2008 году [7]. Венлафаксин отмечен как наиболее токсичный препарат с повышенным Рис.ком летальных исходов среди серотонинэргических антидепрессантов [9]. Наибольшее количество фатальных передозировок венлафаксином наблюдали при его совместном приеме с другими антидепрессантами, бензодиазепинами и алкоголем [8].

Согласно данным зарубежной литературы, основной тенденцией развития аналитических методов в токсикологии венлафаксина и милнаципрана является превалирование ВЭЖХ с МС- и МС/МС-детектированием [4, 10]. Однако указанный

метод анализа является дорогостоящим и не всегда доступен. Возможность использования тонкослойной хроматографии для анализа венлафаксина и милнаципрана в условиях токсикологического скрининга в настоящее время изучена недостаточно. Следует отметить, что ТСХ является одним из наиболее доступных и широко используемых методов при химико-токсикологических исследованиях лекарственных веществ [2, 5].

**Цель:** Разработка методики разделения и идентификации венлафаксина и милнаципрана методом ТСХ в условиях токсикологического скрининга.

**Задачи:** 1. Установить параметры хроматографической подвижности венлафаксина и милнаципрана в скрининговых ТСХ-системах, рекомендованных ТИАФТ [5], а также других ТСХ-системах, используемых в химико-токсикологическом анализе лекарственных веществ [2]; 2. Исследовать взаимодействие венлафаксина и милнаципрана с хромогенными реактивами, наиболее часто используемыми для визуализации в ТСХ-скрининге [5]; 3. Разработать условия разделения и идентификации венлафаксина и милнаципрана методом ТСХ для целей токсикологического скрининга.

**Материалы и методы.** На линию старта хроматографической пластинки Merck (Silica gel 60 F254, размер 10x20 см) на расстоянии 2 см от каждого края с помощью калиброванного капилляра наносили по 10 мкл модельных растворов исследуемых антидепрессантов в хлороформе с концентрацией 1 мг/мл (10 мкг в пробе). Хроматографирование проводили в камерах объемом 1000 см<sup>3</sup>, в которые вносили по 10 мл соответствующих подвижных фаз (Таблица 1). Камеры насыщали в течение 15 мин. Длина пути пробега растворителей составляла 10 см. Хроматограмму высушивали на воздухе и детектировали антидепрессанты с помощью реактива Драгендофа в модификации по Мунье или раствором подкисленного йодплатината.

Для проведения хромогенных реакций на кусочки хроматографических пластинок с помощью калиброванного стеклянного капилляра наносили в одну точку модельные растворы антидепрессантов в хлороформе с разным содержанием вещества от 0,5 до 50 мкг в пробе. Пробы обрабатывали соответствующим хромогенным реактивом (Таблица 2).

**Результаты и их обсуждение.** Значения  $R_f$  (среднее из пяти определений) и доверительные интервалы средних определений для исследуемых антидепрессантов для ТСХ-систем, рекомендованных ТИАФТ (системы 1–9) [5], а также других, используемых в скрининге лекарственных веществ (системы 10–15) [2], приведены в Таблица 1.

ТСХ-скрининг в систематическом токсикологическом анализе предусматривает использование двух и более хроматографических систем с низкой корреляцией величин  $R_f$  и поэтапную процедуру визуализации с помощью хромогенных реактивов, перечни которых рекомендовано ТИАФТ для кислых и нейтральных, а также основных веществ [5].

Как видно из Таблица 1, наилучшие условия разделения для исследуемых веществ наблюдаются в системах 4, 7, 10, 11. Однако указанные системы характеризуются высокой корреляцией величин  $R_f$ . Наименьшую корреляцию с отмеченными системами имеет система 15, поэтому ее целесообразно использовать для идентификации венлафаксина и милнаципрана при химико-токсикологических исследованиях.

**Таблица 1.** Параметры хроматографической подвижности венлафаксина и милнаципрана

Подвижная фаза	Величина $R_f$	
	Венлафаксин	Милнаципран
1. Хлороформ-ацетон (80:20)	0,01±0,01	0
2. Этилацетат	0	0
3. Хлороформ-метанол (90:10)	0,30±0,03	0,18±0,03
4. Этилацетат-метанол-25% раствор аммония гидроксида (85:10:5)	0,84±0,04	0,31±0,04
5. Метанол	0,52±0,03	0
6. Метанол- <i>n</i> -бутанол (60:40)	0,21±0,04	0
7. Метанол-25% раствор аммония гидроксида (100:1,5)	0,65±0,03	0,28±0,03
8. Циклогексан-толуол-диэтиламин (75:15:10)	0,57±0,03	0,05±0,02
9. Ацетон	0,13±0,03	0,14±0,03
10. Толуол-ацетон-этанол-25% раствор аммония гидроксида (45:45:7,5:2,5)	0,71±0,05	0,42±0,03
11. Хлороформ-диоксан-ацетон-25% раствор аммония гидроксида (47,5:45:5:2,5)	0,78±0,04	0,27±0,03
12. Хлороформ-ацетон-25% раствор аммония гидроксида (12:24:1)	0,79±0,05	0,56±0,04
13. Этилацетат-ацетон-25% раствор аммония гидроксида (50:45:4)	0,87±0,04	0,67±0,05
14. Гексан-этилацетат-этанол-25% раствор аммония гидроксида (30:10:5:1)	0,47±0,04	0,08±0,04
15. Этанол-ацетон-вода (1:1:2)	0,22±0,05	0,32±0,05

**Таблица 2.** Результаты визуализации венлафаксина и милнаципрана с помощью хромогенных реактивов, используемым в систематическом ТСХ-скрининге лекарственных веществ

Реактив	Венлафаксин		Милнаципран	
	Окраска	Чувствительность, мкг в пробе	Окраска	Чувствительность, мкг в пробе
Драгендорфа по Мунье	оранжевая	3,0	оранжевая	5,0
Йодплатинат подкисленный	сине-фиолетовая	2,0	синяя	1,0
Нингидрин	сине-зеленая	3,0	розово-фиолетовая	4,0
Марки	коричневая	3,0	коричневая	3,0
Манделина	коричневая→	4,0	–	

	вишневая→ синяя→зеленая			
Фреде	зеленая→ фиолетовая (по краю)	8,0	–	
Либермана	коричневая→ вишневая→красная	5,0	желтая→оранжевая	5,0
Эрдмана	коричневая→ желтая	5,0	–	

Результаты визуализации венлафаксина и милнаципрана с помощью хромогенных реактивов, а также их чувствительность, приведены в Таблица 2. Наиболее чувствительным реактивом для детектирования исследуемых веществ на хроматографической пластинке является йодплатинат подкисленный, для идентификации венлафаксина и милнаципрана при совместном присутствии наиболее подходящими являются нингидрин и реактив Либермана.

**Выводы:** 1. Для идентификации венлафаксина и милнаципрана методом ТСХ при химико-токсикологических исследованиях рекомендованы следующие подвижные фазы (значения R<sub>f</sub> венлафаксина и милнаципрана соответственно): этилацетат-метанол-25% раствор аммония гидроксида (85: 10: 5) (0,84±0,04 и 0,31±0,04), метанол-25% раствор аммония гидроксида (100:1,5) (0,65±0,03 и 0,28±0,03), толуол-ацетон-этанол-25% раствор аммония гидроксида (45:45:7,5:2,5) (0,71±0,05 и 0,42±0,03), хлороформ-диоксан-ацетон-25% раствор аммония гидроксида (47,5:45:5:2,5) (0,78±0,04 и 0,27±0,03), этанол-ацетон-вода (1:1:2) (0,22±0,05 и 0,32±0,05).

2. Для детектирования венлафаксина и милнаципрана на хроматографической пластинке наиболее чувствительным является йодплатинат подкисленный (чувствительность 2,0 мкг и 1,0 мкг в пробе соответственно).

3. Для идентификации указанных антидепрессантов при совместном присутствии в качестве наиболее селективных хромогенных реактивов нами предложены раствор нингидрина и реактив Либермана.

### Литература

1. Аведисова А. С. Венлафаксин (Велаксин): результаты международных исследований антидепрессанта III поколения / А. С. Аведисова // Психиатрия и психофармакотерапия. – 2006. – Т. 8, № 2. – С. 2–7.
2. Вергейчик Т. Х. Токсикологическая химия / Т. Х. Вергейчик. – М.: МЕДпресс-информ, 2009. – 400 с.
3. Матюха А. В. К вопросу о фармакологической и терапевтической эквивалентности антидепрессантов двойного действия / А. В. Матюха // Здоров'я України. – 2007. – № 17. – С. 66–67.
4. Bioanalytical method development and validation of milnacipran in rat plasma by LC–MS/MS detection and its application to a pharmacokinetic study / K. Kanala, N. T. Hwisac, B. R. Chanduc [et al.] // J. Pharmaceut. Anal. – 2013. – V. 3 (6). – P. 481–488.

5. Clarke's Analytical Forensic Toxicology / Ed. by Sue Jickells, Adam Negrusz. – London : Pharmaceutical Press, 2008. – 648 p.
6. Comparison of analytical methods in the determination of two venlafaxine fatalities / C. Long, J. Crifasi, D. Maginn [et al.] // *J. Anal. Toxicol.* – 1997. – V. 21 (2). – P. 166–169.
7. Fatal intoxication with milnacipran / L. Fanton, F. Bévalot, H. Grait [et al.] // *J. Forensic Leg. Med.* – 2008. – V. 15 (6). – P. 388–390.
8. Goeringer K. Postmortem tissue concentrations of venlafaxine / K. Goeringer, I. McIntyre, O. F. Drummer // *Forens. Sci. Int.* – 2001. – V. 121 (1–2). – P. 70–75.
9. Prevalence of risk factors for suicide in patients prescribed venlafaxine, fluoxetine, and citalopram / D. Mines, D. Hill, H. Yu, L. Novelli // *Pharmacoepidemiol. Drug Saf.* – 2005. – V. 14 (6). – P. 367–372.
10. Simultaneous quantification of venlafaxine and O-desmethylvenlafaxine in human plasma by ultra performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry and its application in a pharmacokinetic study / F. Qin, N. Li, T. Qin [et al.] // *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* – 2010. – V. 878 (7–8). – P. 689–694.