

DETERMINATION OF MEDICINES IN EPIDERMIS PRODUCTS AND THEIR USEFULNESS IN FORENSIC TOXICOLOGY

Ewa PUFAL

Chair and Department of Forensic Medicine, Ludwik Rydygier Medical Academy, Bydgoszcz

ABSTRACT: It would seem to be useful to work out methods of xenobiotic determination in epidermis products, e.g. hair and nails, as an alternative to such conventional materials as body fluids, widely used in forensic toxicology. A method of isolation and identification of acebutolol and salicylic acid (aspirin metabolite) from hair and nails was worked out during the presented study. Liquid chromatography with a mass detector was used as a method of investigation. The method was used to determine the level of acebutolol and salicylic acid in hair and nails obtained from people who take these medicines. The analytical conditions worked out enable determination of the medication content at levels higher than 25 pg/mg. The concentration of acebutolol in hair was, on average, 1.98 ng/mg and in nails – 2.2 ng/mg. The concentration of salicylic acid in hair was, on average, 0.65 ng/mg and in nails – 0.52 ng/mg.

KEY WORDS: Acebutolol; Salicylic acid; Hair; Nails; LC/ESI/MS.

Z Zagadnień Nauk Sądowych, z. LII, 2002, 7–20

Received 25 October 2002; accepted 18 December 2002

INTRODUCTION

When preparing a toxicological expert's report, one of the main elements to take into account is the results of chemical and toxicological research to establish the kind of xenobiotic used and its concentration in particular tissues and body fluids. It is generally considered that the best materials for examinations are blood and urine. However, everyday routine shows that these materials, though relatively available, quickly undergo decay. Moreover, during metabolic transformations, the given xenobiotic and its metabolites transfer to other tissues, where they accumulate and where they could possibly be detected even after the subject has stopped taking the medicine. Therefore, such biological matrices in which the xenobiotic does not decay but accumulates, remaining in them for a long time and giving an opportunity for their detection after the medicine has been stopped, have proved to

be valuable evidence material in toxicology. These conditions are fulfilled by products of the epidermis, such as hair and nails.

Until now examinations of hair have been applied mostly in order to determine the presence of drugs [5, 11, 12, 13, 14, 15] and of xenobiotics, being used mostly by drivers and sportsmen. On the basis of drug tests it has been shown that, in the case of sportsmen who used prohibited stimulating substances, such as cocaine, diuretics and steroids, these xenobiotics could have been detected in hair [1, 13]. In epidemiological research performed on drivers, the presence of drugs was ascertained in 100 out of 697 analysed hair samples (73.3% cocaine, 10% opiates and 16.7% other drugs) [12].

Similarly to hair on the head and on the body, nails are a biological matrix in which various substances, including pharmaceuticals, have a tendency to accumulate. Though nails are subjected to external impurities, they can be a material for detection of medicines used for a long time. It was ascertained that amongst heavy cocaine users, the level of cocaine in hair was comparable to the level of cocaine in nails, whereas the concentration of benzoiloeconine (metabolite of cocaine) in nails was higher than in hair [4]. It was also found that methamphetamine accumulates more and stays longer in nails than amphetamine [6].

Results of toxicological research carried out up till now on such biological materials as products of the epidermis are encouraging, and suggest that research should encompass other groups of pharmaceuticals. In recent years, cardiac medicines from the beta-blocker group, among them acebutolol, have been taken increasingly frequently. Analysis of these medicines in hair was performed by Kintz et al. [7] and Dumestre-Toulet et al. [2]. Using the gas chromatography method with mass spectrometry, they worked out conditions for analysis of cardiac medicines in hair, allowing detection of medicines from 10 pg/mg. In the literature on the subject one can find that other analytical methods such as high-performance liquid chromatography with a spectrophotometric detector [8] and liquid chromatography with a coulometric detector [9] have also been used to determine acebutolol in hair. However, there is no data in the literature on the possibility of detection of medicines from the beta-blocker group in nails.

Acebutolol is often used in treatment together with acetylsalicylic acid (ACA). ACA is used mainly as an analgesic, antifebrile, anti-inflammatory medicine, but it also shows anticoagulative activity, so it is used by many patients at low doses for a long time. In order to confirm the taking of ACA, analysis of biological material is performed with the aim of determining the presence of its metabolite – salicylic acid [10]. However, there is a lack of data in the literature about analysis of salicylic acid in products of the epidermis.

MATERIALS AND METHODS

Reagents

All reagents used in the extraction process and for chromatographic analysis were produced by Merck (Darmstadt, Germany). Acebutolol hydrochloride made by Radian International LLC was bought at Promochem (Poland). Salicylic acid was bought in POCh, Gliwice.

Biological materials

The examined material was hair and nails received from persons who had been taking acebutolol and acetylsalicylic acid in therapeutic doses for a long period of time (not less than 6 months). The collected samples of hair and nails were stored at room temperature.

Extraction

Samples of hair and nails of about 100 mg each were used for the extraction. Prior to the analysis, hair and nails were washed successively for 10 min in 5 ml of water and 5 ml of acetone in an ultrasound bath at room temperature. Dried hair and nails were cut up into little segments (1–2 mm). The extraction of acebutolol and salicylic acid from hair and nails was performed according to the outline in Figure 1.

Analysis by the LC/ESI/MS method

Qualitative and quantitative analysis was performed with the use of a liquid chromatograph with a mass spectrometer: 1100 Series by Agilent Technologies (Waldbronn, Germany) with ionisation by electrospraying (LC/ESI/MS). Examinations were performed in the following conditions: an RP-C8 column (Zorbax Eclipse XDB-C8; 150 mm × 4.6; 5 μm, Agilent Technologies), the moving phase – acetonitrile : 0.1% TFA (80:20, v/v), 0.4 ml/min flow, Diazepam internal standard, parameters of the mass detector: voltage of the fragmentor 70 V, voltage of the capillary 4000 V, flow of N₂ 10 l/min, temperature of N₂ 250°C, pressure of nebulyser 30 psig, the range of scanning of masses 50–1500 amu. Qualitative analysis was performed in the system of SIM $m/z = 377$ for acebutolol, $m/z = 121$ for salicylic acid, $m/z = 285$ for Diazepam (IS).

Validation of the method

For calibration of the method, control material was used – hair and nails obtained from persons (workers of the laboratory) who were not taking medicines. For this reason, the following quantities of acebutolol and salicylic

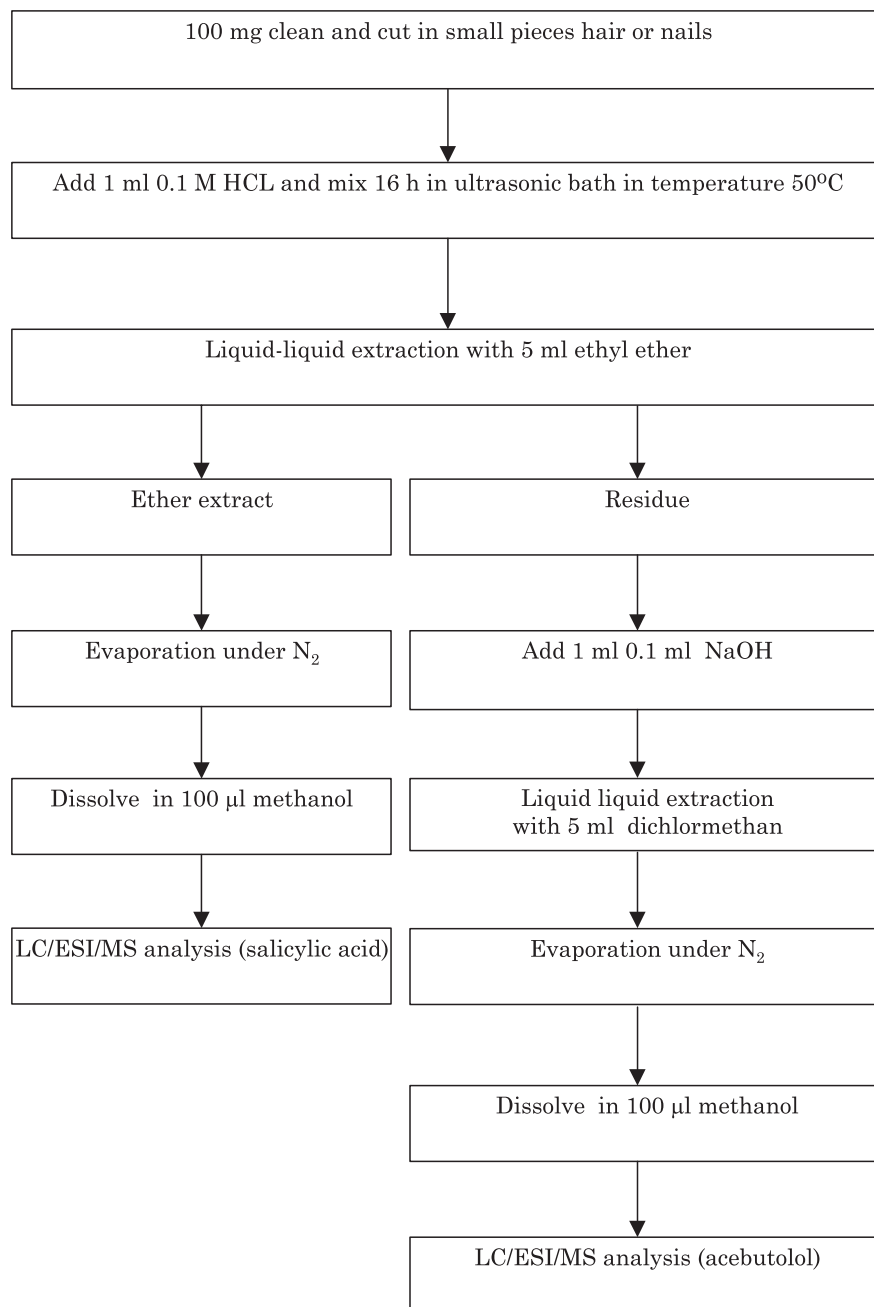


Fig. 1. The outline of extraction of acebutolol and salicylic acid from hair and nails.

acid were added to 100 mg portions of the biological material (hair, nails): 2.5 ng (25 pg/mg), 10 ng (100 pg/mg), 25 ng (250 pg/mg), 50 ng (500 pg/mg), 200 ng (2 ng/mg) and 1000 ng (10 ng/mg). Samples prepared in such a manner were analysed under identical conditions to the investigated material.

RESULTS

Analysis of acebutolol and salicylic acid in hair and nails was performed by liquid chromatography with mass spectrometry. Examples of chromatograms obtained as a result of analysis of extracts of hair and nail samples that did not contain acebutolol and salicylic acid, control samples to which were added known quantities of both medicines, and samples of hair and nails obtained from people who were taking acebutolol and acetylsalicylic acid, are presented in Figures 2 and 3. Validation parameters of the method of determination of acebutolol and salicylic acid in hair and nails are presented in Table I and II.

TABLE I. VALIDATION PARAMETERS OF THE METHOD OF DETERMINATION OF ACEBUTOLOL AND SALICYLIC ACID IN HAIR

Analyte	Linearity (<i>r</i>)	Intra day precision CV [%] (<i>n</i> = 3, 2 ng/mg)	Day to day precision CV [%] (<i>n</i> = 3 × 3, 2 ng/mg)	LOD [pg/mg]
Acebutolol	0.999	7.8	8.2	25
Salicylic acid	0.997	6.3	7.4	20

TABLE II. VALIDATION PARAMETERS OF THE METHOD OF DETERMINATION OF ACEBUTOLOL AND SALICYLIC ACID IN NAILS

Analyte	Linearity (<i>r</i>)	Intra day preci- sion CV [%] (<i>n</i> = 3, 2 ng/mg)	Day to day precision CV [%] (<i>n</i> = 3 × 3, 2 ng/mg)	LOD [pg/mg]
Acebutolol	0.999	6.9	7.2	25
Salicylic acid	0.998	6.5	7.3	20

The worked out method was used to determine the level of acebutolol and salicylic acid in hair and nails obtained from persons simultaneously taking acebutolol and acetylsalicylic acid. 30 samples of hair and nails were exam-

ined, which were obtained from persons taking these medicines for longer than 6 months. The obtained results are displayed in Table III.

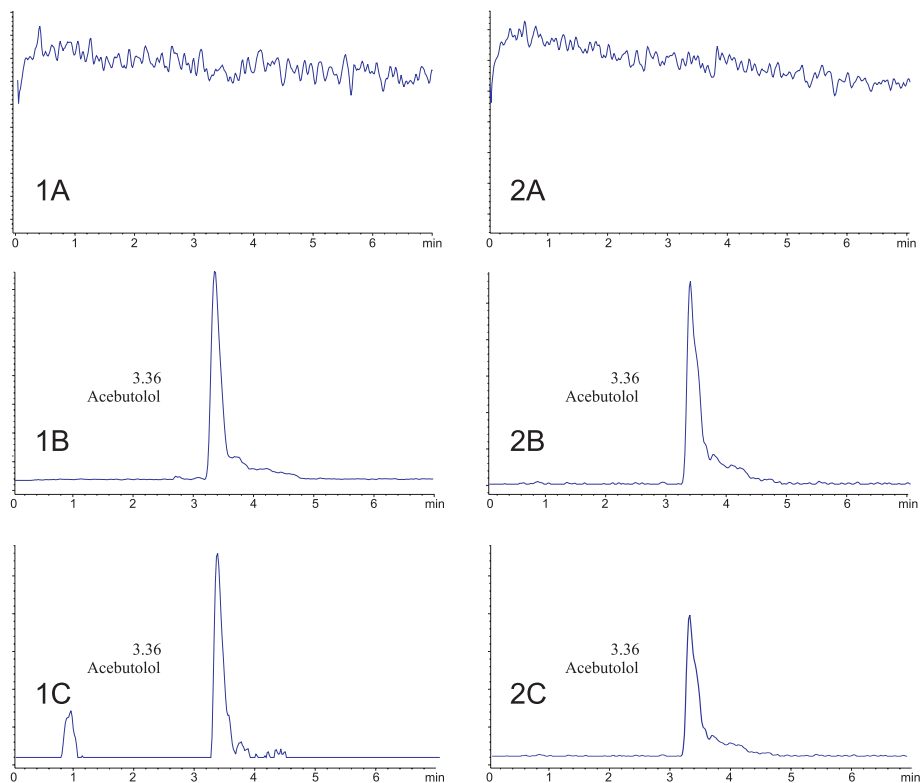


Fig. 2. Examples of chromatograms of LC/ESI/MS analysis of hair (1) and nails (2). A – blank sample, B – drug free sample spiked with acebutolol, C – positive sample from patient who has been taking acebutolol.

TABLE III. THE CONCENTRATIONS OF ACEBUTOLOL AND SALICYLIC ACID IN HAIR AND NAILS FROM PATIENTS WHO TAKE ACEBUTOLOL AND ACETYLSALICYLIC ACID

<i>n</i> = 30	Concentration [ng/mg]			
	Hair		Nails	
	Acebutolol	Salicylic acid	Acebutolol	Salicylic acid
Range	0.229–5.620	0.070–1.250	0.236–7.370	0.084–1.120
Mean	1.983	0.651	2.221	0.520
Median	1.020	0.715	1.800	0.450

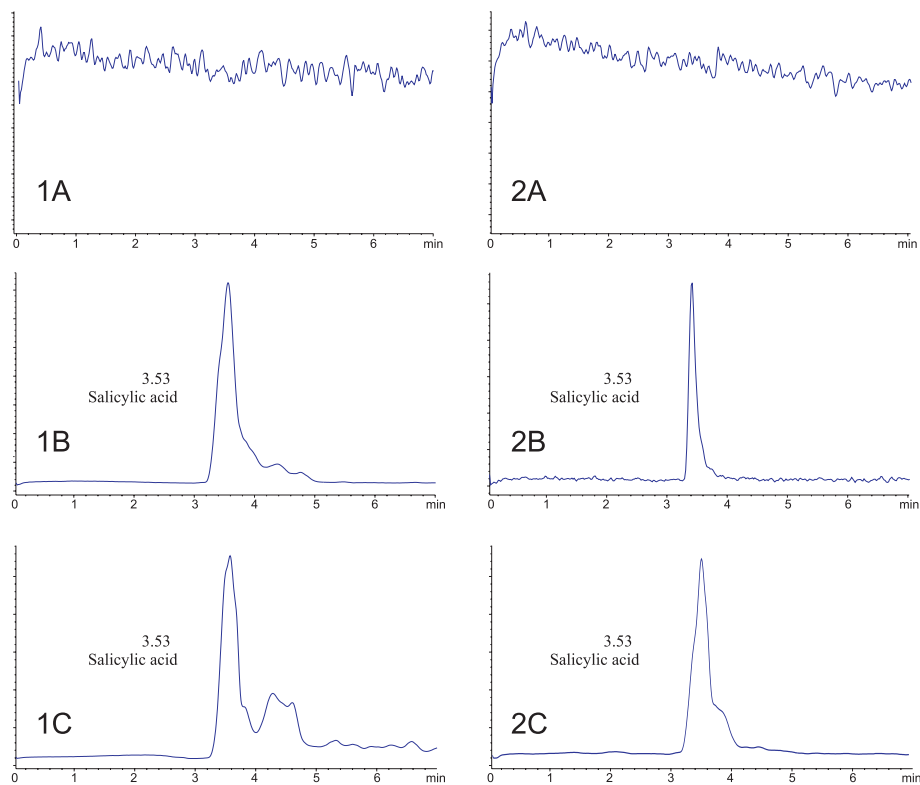


Fig. 3. Examples of chromatograms of LC/ESI/MS analysis of hair (1) and nails (2). A – blank sample, B – drug free sample spiked with salicylic acid, C – positive sample from patient who has been taking acetylsalicylic acid.

DISCUSSION OF RESULTS

Calibration curves for acebutolol and salicylic acid showed a linear course in the examined range of concentrations (25 pg/mg–10 ng/mg). The correlation coefficient in the case of determination of acebutolol in hair and nails was 0.999 and for salicylic acid was 0.997 (when the matrix was hair) and 0.998 (when the matrix was nails).

In all of the examined samples, the presence of acebutolol and salicylic acid was ascertained. From the performed research it was found that in the case of acebutolol a somewhat higher concentration of the medicine was observed in nails (an average value of 2.221 ng/mg) than in hair (an average value of 1.983 ng/mg). On the other hand, in the case of salicylic acid in hair, the average concentration was 0.651 ng/mg, and in nails was lower (0.520 ng/mg).

In the course of realisation of the current study, urine, hair and nails obtained from a person who had been taking acebutolol for 2 years at a dose of 200 mg daily were also examined. The performed examinations revealed the presence of acebutolol in the following quantities: urine – 3.8 µg/ml, hair – 0.318 ng/mg, nails – 6.32 ng/mg.

In the accessible literature, there is a lack of data concerning determination of acebutolol and salicylic acid in hair and nails. Until now, studies concerning determination of some medicines from the group of beta-blockers in hair have been carried out. For example, Kintz et al. [7] dealt with determination of sotalol and metoprolol in hair.

In the course of their research Kintz et al. showed the presence of sotalol – 261 pg/mg in hair received from a person who was taking 80 mg sotalol daily. In another person who was taking Seloken (100 mg of metoprolol daily), the authors ascertained the presence of metoprolol in hair at a concentration of 8.41 ng/ml. Gleixner et al. [3] presented results of analysis of hair received from two persons taking clenbuterol. The research revealed the presence of the medicine in quantities of 50 and 92 pg/mg.

The above-mentioned research shows that concentrations of medicines in hair, as well as in nails, tend to be at a low level (below 10 ng/mg). Thus, it would seem to be necessary to apply such methods as liquid or gas chromatography coupled with mass spectrometry for their determination.

SUMMARY

The analytical method presented in this paper makes possible the determination of acebutolol and salicylic acid in hair and nails. Conditions of analysis allow identification of these compounds at a level of 25 pg/mg.

Products of the epidermis, such as hair and nails, can be a good biological material for use in forensic toxicological examinations, both from living persons and in post mortems, due to the fact that they do not undergo the same decaying processes as blood or urine, and are easier to collect and secure for examinations than samples of blood and urine. Collecting samples of hair and nails for examinations is a non-invasive method ensuring greater reliability of the material received for examinations (in the case of any uncertainty there is a possibility of repeated collection of a sample or of its comparison). Moreover, the collected samples do not require special conditions of storage and transportation.

In addition, the ability to determine the type and level of xenobiotic in nails is especially important, when – for reasons of fashion or otherwise – a given person lacks hair.

References:

1. Deng X-S., Pounder D. J., Detection of endogenous sex hormones in human hair by gas chromatography-mass spectrometry, *Problems of Forensic Sciences* 1998, vol. 37, pp. 111–121.
2. Dumestre-Toulet V., Crimele V., Gouille J. P. [et al.], Beta- adrenergic compounds through hair analysis, *Problems of Forensic Sciences* 2000, vol. 42, pp. 82–89.
3. Gleixner A., Sauerwein H., Meyer H. H. D., Detection of the anabolic beta 2 adrenoreceptor agonist clenbuterol in human scalp hair by HPLC/EIA, *Clinical Chemistry* 1996, vol. 42, pp. 1869–1871.
4. Henderson G. L., Harkey M. R., Analysis of hair for cocaine, NIH Publication, Rockvill 1995.
5. Kidwell D. A., Blanco M. A., Cocaine detection in university population by hair analysis and skin swab testing, *Forensic Science International* 1997, vol. 84, pp. 75–86.
6. Kikura R., Nakahara Y., Mieczkowski T., Hair analysis for drug abuse XV. Disposition of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) and its related compounds into rat hair and application to hair analysis for MDMA abuse, *Forensic Science International* 1997, vol. 84, pp. 165–177.
7. Kintz P., Dumestre-Toulet V., Jamey C. [et al.], Doping control for beta-adrenergic compounds through hair analysis, *Journal of Forensic Science* 2000, vol. 45, pp. 170–174.
8. Kintz P., Mangin P., Hair analysis for detection of beta-blockers in hypertensive patients, *European Journal of Clinical Pharmacology* 1992, vol. 42, pp. 351–352.
9. Mc Gath G. J., O’Kane E., Smyth W. F. [et al.], Investigation of the electrochemical oxidation of clenbuterol at a porous carbon electrode, and its application to the determination of this beta-agonist in bovine hair by the liquid chromatography with coulometric detection, *Annales Chimical Acta* 1996, vol. 332, pp. 159–166.
10. Moffat A. C., Clarke’s isolation and identification of drugs, The Pharmaceutical Press, London 1986.
11. Piekoszewski W., Janowska E., Stanaszek R. [et al.], Determination of opiates in serum, saliva and hair of addicted persons, *Przegląd Lekarski* 2001, vol. 58, pp. 287–289.
12. Ricossa M. C., Bernini M., Hair analysis for driving license in cocaine and heroin users. An epidemiological study, *Forensic Science International* 2000, vol. 107, pp. 301–308.
13. Smith F. P., Kidwell D. A., Cocaine in hair, saliva, skin swabs and urine of cocaine user’s children, *Forensic Science International* 1996, vol. 83, pp. 179–189.
14. Stanaszek R., Piekoszewski W., Karakiewicz B. [i in.], Zgodność wyników analizy włosów z wywiadem lekarskim pacjentów poddanych detoksykacji i terapii substytucyjnej metadonem, *Przegląd Lekarski* 2001, t. 59, s. 347–350.

15. Stanaszek R., Piekoszewski W., Karakiewicz B. [et al.], Using hair analysis to monitor abstinence in patients on a methadone treatment programme, *Problems of Forensic Sciences* 2002, vol. 50, pp. 17–34.

BADANIA NAD OZNACZANIEM LEKÓW W WYTWORACH NASKÓRKA I ICH PRZYDATNOŚĆ W TOKSYKOLOGII SĄDOWEJ

Ewa PUFAL

WSTĘP

Zasadniczym elementem przy opracowywaniu opinii toksykologicznej jest wynik badania chemiczno-toksykologicznego określającego rodzaj użytego ksenobiotyku oraz jego stężenie w poszczególnych tkankach i płynach ustrojowych. Panuje powszechne przekonanie, że najlepszym materiałem do badań jest krew i moc. Tymczasem praktyka wykazuje, że materiał ten, chociaż jest stosunkowo łatwo dostępny, to ulega szybko rozkładowi. Ponadto w czasie przemian metabolicznych ksenobiotyku i jego metabolity przemieszczają się do innych tkanek, gdzie zostają skumulowane i tam istnieje możliwość wykrycia ich nawet po zaprzestaniu przyjmowania leku. Dlatego też cennym materiałem dowodowym w toksykologii okazały się takie matryce biologiczne, w których ksenobiotyku nie ulega rozkładowi, a kumuluje się, pozostając w nich przez dłuższy czas i dając szansę jego wykrycia po zaprzestaniu przyjmowania leku. Warunkom takim odpowiadają wytwory naskórka, takie jak włosy i paznokcie.

Dotychczas badania włosów wykorzystywano głównie w celu stwierdzenia w nich obecności narkotyków [5, 11, 12, 13, 14, 15] oraz ksenobiotyków używanych głównie przez kierowców i sportowców. Z badań antydopingowych wynika, że u sportowców, którzy stosowali niedozwolone środki stymulujące, takie jak kokaina, diuretyki oraz sterydy, można było te ksenobiotyki wykryć we włosach [1, 13]. W wyniku badań epidemiologicznych prowadzonych wśród kierowców ustalono, że spośród 697 analizowanych prób włosów w 100 próbach stwierdzono obecność narkotyków (73,3% kokainy, 10% opiatów, 16,7% innych) [12].

Podobnie jak włosy na głowie i na ciele, paznokcie są biologiczną matrycą, w której różne substancje, w tym farmaceutyki, mają tendencję do kumulowania się. Chociaż paznokcie są obiektem zanieczyszczeń zewnętrznych, mogą być jednak materiałem stosowanym do wykrywania używanych przez dłuższy czas leków. I tak stwierdzono, że u nałogowych kokainistów poziom kokainy we włosach był porównywalny do poziomu kokainy w paznokciach, natomiast stężenie benzoiloeckgoniny (metabolitu kokainy) w paznokciach było wyższe niż we włosach [4]. Stwierdzono również, że bardziej kumuluje się i dłużej pozostaje w paznokciach metamfetamina niż amfetamina [6].

Wyniki dotychczasowych badań toksykologicznych takiego materiału biologicznego, jakim są wytwory naskórka, zachęcają do rozszerzenia badań na inne grupy farmaceutyków. W ostatnim czasie coraz częściej przyjmowanymi lekami są leki nasercowe z grupy beta-blokerów, a wśród nich acebutolol. Analizą tych leków we włosach zajmował się Kintz i in. [7] oraz Dumestre-Toulet i in. [2]. Wykorzystując metodę chromatografii gazowej z detektorem masowym, opracowali oni warunki analizy grupy leków nasercowych we włosach z możliwością wykrycia leków od

10 pg/mg. Z danych zawartych w literaturze przedmiotu wynika, że w celu oznaczenia acebutololu we włosach stosowano również inne metody analityczne, takie jak wysokosprawna chromatografia cieczowa z detektorem spektrofotometrycznym [8] oraz chromatografia cieczowa z detektorem kulometrycznym [9]. W literaturze brak jednak danych o możliwości wykrycia leków z grupy beta-blokerów w paznokciach.

Często w leczeniu acebutolol jest stosowany łącznie z kwasem acetylosalicylowym (ACA). ACA jest stosowany głównie jako środek przeciwbólowy, przeciwgorączkowy, przeciwzapalny, ale wykazuje on również działanie przeciwkrzepliwe. Dlatego też jest stosowany przez wielu pacjentów w niskich dawkach przez długi czas. W celu potwierdzenia zażywania ACA, analizę materiału biologicznego przeprowadza się w kierunku stwierdzenia obecności jego metabolitu – kwasu salicylowego [10]. W literaturze brak jednak danych o analizie kwasu salicylowego w wytworach naskórka.

MATERIAŁY I METODA

Odczynniki

Wszystkie odczynniki użyte w procesie ekstrakcji i do analizy chromatograficznej zostały wyprodukowane przez firmę Merck (Darmstadt, Niemcy). Chlorowodorek acebutololu firmy Radian International LLC zakupiono w przedsiębiorstwie Promochem (Polska). Kwas salicylowy zakupiono w POCh Gliwice.

Materiał biologiczny

Materiał do badań stanowiły włosy i paznokcie pobrane od osób, które przyjmowały acebutolol i kwas acetylosalicylowy w dawkach terapeutycznych przez dłuższy czas (nie mniej niż 6 miesięcy). Pobrane próby włosów i paznokci przechowywano w temperaturze pokojowej.

Ekstrakcja

Do ekstrakcji użyto włosy i paznokcie o wadze po 100 mg każdy. Przed analizą włosy i paznokcie myto kolejno przez 10 min w 5 ml wody i 5 ml acetonu w łaźni ultradźwiękowej w temperaturze pokojowej. Wyszuszone włosy i paznokcie pocięto na małe segmenty (1–2 mm). Ekstrakcję acebutololu i kwasu salicylowego z włosów i paznokci przeprowadzono według schematu przedstawionego na rycinie 1.

Analiza metodą LC/ESI/MS

Analizę jakościową i ilościową przeprowadzono z wykorzystaniem chromatografu cieczowego z detektorem masowym 1100 Series firmy Agilent Technologies (Waldbronn, Niemcy) z jonizacją przez elektrorozpylanie (LC/ESI/MS). Badania wykonano w następujących warunkach: kolumna RP-C8 (Zorbax Eclipse XDB-C8; 150 mm × 4,6; 5 μm, Agilent Technologies), faza ruchoma – acetonitryl : 0,1% TFA (80:20, v/v), przepływ 0,4 ml/min, standard wewnętrzny Diazepam, parametry detektora masowego: napięcie fragmentatora 70 V, napięcie kapilary 4000 V, przepływ N₂ 10 l/min, temperatura N₂ 250°C, ciśnienie nebulizera 30 psig, zakres skanowania

mas 50–1500 amu. Analizę jakościową przeprowadzono w układzie SIM $m/z = 377$ dla acebutololu, $m/z = 121$ dla kwasu salicylowego, $m/z = 285$ dla Diazepamu (IS).

Walidacja metody

Do kalibracji metody wykorzystano materiał kontrolny – włosy i paznokcie pobrane od osób (pracowników laboratorium), które nie przyjmowały leków. W tym celu do 100 mg materiału biologicznego (włosy, paznokcie) dodano odpowiednio po 2,5 ng (25 pg/mg), 10 ng (100 pg/mg), 25 ng (250 pg/mg), 50 ng (500 pg/mg), 200 ng (2 ng/mg), i 1000 ng (10 ng/mg) acebutololu i kwasu salicylowego. Tak przygotowane próby poddano analizie w identycznych warunkach jak materiał badany.

WYNIKI

Analizę acebutololu i kwasu salicylowego we włosach i paznokciach przeprowadzono metodą chromatografii cieczowej z detektorem masowym. Przykładowe chromatogramy, uzyskane w wyniku analizy ekstraktów prób włosów i paznokci nie zawierających acebutololu i kwasu salicylowego, prób kontrolnych, do których dodano znane ilości obu leków oraz prób włosów i paznokci pobranych od osób, które przyjmowały acebutolol i kwas acetylosalicylowy, przedstawiono na rycinie 2 i 3. Parametry walidacyjne metody oznaczania acebutololu i kwasu salicylowego we włosach i paznokciach przedstawiono w tabeli I i II.

Opracowaną metodę wykorzystano w celu oznaczenia poziomu acebutololu i kwasu salicylowego we włosach i paznokciach pobranych od osób przyjmujących jednocześnie acebutolol i kwas acetylosalicylowy. Przebadano 30 prób włosów i paznokci, które pobrano od osób przyjmujących leki przez czas dłuższy niż 6 miesięcy. Otrzymane wyniki przedstawiono w tabeli III.

DYSKUSJA WYNIKÓW

Krzywe kalibracyjne dla acebutololu i kwasu salicylowego wykazywały liniowy przebieg w badanym zakresie stężeń (25 pg/mg–10 ng/mg). Współczynnik korelacji w przypadku oznaczania acebutololu we włosach i paznokciach wynosił 0,999, natomiast dla kwasu salicylowego wynosił odpowiednio 0,997 (gdy matrycą były włosy) oraz 0,998 (w przypadku, gdy matrycą były paznokcie).

We wszystkich badanych próbach stwierdzono obecność acebutololu i kwasu salicylowego. Z przeprowadzonych badań wynika, że w przypadku acebutololu nieco wyższe stężenie leku zaobserwowano w paznokciach (średnia 2,221 ng/mg) niż we włosach (średnia 1,983 ng/mg). Natomiast w przypadku kwasu salicylowego we włosach średnie stężenie wynosiło 0,651 ng/mg, a w paznokciach było niższe (0,520 ng/mg).

W toku realizacji niniejszej pracy badaniom poddano również mocz, włosy i paznokcie pobrane od osoby, która przyjmowała acebutolol przez 2 lata w dawce 200 mg dziennie. Przeprowadzone badania wykazały obecność acebutololu w następujących ilościach: mocz – 3,8 $\mu\text{g/ml}$, włosy – 0,318 ng/mg, paznokcie – 6,32 ng/mg.

W dostępnej literaturze brak danych dotyczących oznaczania acebutololu i kwasu salicylowego we włosach i paznokciach. Dotychczas przeprowadzono badania

dotyczące oznaczania we włosach leków z grupy beta-blokerów. Na przykład oznaczeniem sotalolu i metoprololu we włosach zajmował się Kintz i in [7]. W toku przeprowadzonych badań Kintz i in. wykazali obecność sotalolu – 261 pg/mg we włosach pobranych od osoby, która przyjmowała sotalol w ilości 80 mg/dobę. U innej osoby, która przyjmowała Seloken (100 mg metoprololu na dobę), autorzy stwierdzili we włosach obecność metoprololu w ilości 8,41 ng/ml. Gleixner i in. [3] przedstawił wyniki analizy włosów pobranych od dwóch osób zażywających clenbuterol. Badania wykazały obecność leku w ilościach 50 i 92 pg/mg.

Jak wynika z powyższych badań, stężenia leków we włosach, jak również w paznokciach, kształtują się na niskim poziomie (poniżej 10 ng/mg), dlatego też w celu ich oznaczenia konieczne wydaje się zastosowanie takich metod analitycznych, jak chromatografia cieczowa bądź gazowa sprzężona z detektorem masowym.

PODSUMOWANIE

Przedstawiona w niniejszej pracy metoda analityczna umożliwia oznaczanie acebutololu i kwasu salicylowego we włosach i paznokciach. Warunki analizy umożliwiają identyfikację tych związków na poziomie 25 pg/mg.

Wytwory naskórka, takie jak włosy i paznokcie, mogą być dobrym materiałem biologicznym wykorzystywanym w toksykologii sądowej do badań prowadzonych zarówno za życia, jak również po śmierci osoby, ze względu na to, że nie ulegają one takim zmianom rozkładowym, jak krew czy mocz, łatwiej je pobrać i zabezpieczyć do badań w przeciwieństwie do prób krwi czy moczu. Pobieranie włosów i paznokci do badań jest metodą nieinwazyjną zapewniającą większą wiarygodność otrzymanego materiału do badań (w przypadku niepewności istnieje możliwość ponownego pobrania próby lub jej porównania). Próby nie wymagają ponadto szczególnych warunków w czasie przechowywania i transportu.

Ponadto umiejętność oznaczania rodzaju i poziomu ksenobiotyku w paznokciach jest szczególnie istotna wtedy, gdy – z uwagi na modę lub inne uwarunkowania – u danej osoby brak włosów.