

## ДІАГНОСТИКА ОТРУЄНЬ ТРАЗОДОНОМ ЗА РЕЗУЛЬТАТАМИ СУДОВО-ТОКСИКОЛОГІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ

С.В.Баюрка, С.А.Карпушина

Національний фармацевтичний університет

*Ключові слова: гетероциклічні антидепресанти; тразодон; біологічний матеріал; тонкошарова хроматографія; кольорові реакції; УФ-спектроскопія; екстракційна фотоколориметрія*

*Вивчено розрізняючу спроможність відносно тразодону загальноприйнятих у судово-токсикологічному аналізі методів ізолювання лікарських речовин за методами О.О.Васильєвої, Стаса-Отто, В.П.Крамаренка, які дозволили виділити, відповідно, 25,9±3,6%, 27,9±2,2%, 39,4±3,4% досліджуваного антидепресанта. Показана можливість використання методу тонкошарової хроматографії, кольорових реакцій, УФ-спектроскопії для виявлення тразодону, виділеного з біологічного матеріалу, після попередньої додаткової очистки витяжок від супутніх домішок за допомогою методів екстракції та ТШХ. Кількісний вміст препарату в екстрактах встановлювали екстракційно-фотоелектроколориметричним методом за реакцією утворення іонного асоціату з кислотним азобарвником метиловим оранжевим. Світлопоглинання забарвлених розчинів підлягало закону Бугера-Ламберта-Бера в межах концентрацій від 10 до 150 мкг тразодону в 14 мл кінцевого об'єму. Відносна помилка кількісного визначення не перевищувала 1,05%. Отримані результати можуть бути використані для судово-токсикологічних досліджень біологічного матеріалу при смертельних отруєннях тразодоном.*

Тразодон — 2-[3-[4-(3-хлор-феніл)-1-піперазиніл]пропіл]-1,2,4-триазоло[4,3-а]піридин-3(2H)-ону гідрохлорид, похідне триазолопіридину, відноситься до гетероциклічних антидепресантів. У тразодону тимолептична дія поєднується з анксиолітичним та транквілізуючим ефектами [4]. Препарат слабо інгібує зворотній захват серотоніну та відноситься до антидепресантів з неповністю з'ясованим механізмом фармакологічної дії [3].

Тразодон застосовується в сучасній медичній практиці для лікування депресій різноманітного походження, що супроводжуються тривогою та напруженням [3, 4], а також як ефективний засіб для швидкого купірування психопатологічних симптомів у хворих з героїновою та опійною наркоманією [7].

За літературними даними, тразодон неодноразово був причиною смертельних отруєнь [11, 12, 13], в основному, з суїцидними намірами. При цьому летальні дози тразодону знаходились у межах 2-4 г при пероральному вживанні, смертельні концентрації препарату в крові становили 9-33 мг/л.

Слід відмітити, що певна кількість смертельних отруєнь антидепресантами є комбінованими та згадується у зв'язку з сумісним прийомом з алкоголем, героїном, метадоном та іншими психотропними речовинами [8, 9, 10]. Внаслідок того, що патоморфологічна картина отруєння тразодоном є нехарактерною, важливе значення мають результати судово-токсикологічних досліджень біологічного матеріалу на вміст у ньому токсичної речовини.

У літературі наведені дані про ізолювання тразодону з біологічного матеріалу ацетонітрилом та водою, підкисленою кислотою оцтовою [5]. Але при судово-токсикологічних дослідженнях біологічного матеріалу у випадках комбінованих лікарських отруєнь або при відсутності припущень про природу лікарського засобу доцільно використовувати загальноприйняті у судово-токсикологічному аналізі методи ізолювання лікарських сполук: екстракцією водою, підкисленою кислотою оксалатною (метод Васильєвої О.О.), екстракцією етанолом, підкисленим кислотою оксалатною (метод Стаса-Отто), екстракцією азотовмісних органічних основ водою, підкисленою кислотою сульфатною (метод Крамаренка В.П.) [2, 6].

Таким чином, метою наших досліджень було встановлення розрізняючої спроможності відносно тразодону загальноприйнятих у хіміко-токсикологічному аналізі

методів ізолювання лікарських сполук з біологічного матеріалу. Виявлення та кількісне визначення тразодону в отриманих екстрактах проводили за допомогою простих, доступних та ефективних стосовно судово-токсикологічного аналізу методів: тонкошарової хроматографії (ТШХ), УФ-спектроскопії, кольорових реакцій, екстракційної фотоелектроколориметрії.

### Матеріали та методи

Брали 20 г подрібненої печінки людини, яка загинула від травми, вміщували у стакан, додавали 2 мл водного розчину тразодону, який містив 2000 мкг препарату. Суміш ретельно перемішували і залишали на 24 години. Паралельно ставили “холості” досліди.

Виділення тразодону з печінки водою, підкисленою кислотою оксалатною, проводили за методом Васильєвої О.О.; етанолом, підкисленим кислотою оксалатною — за методом Стаса-Отто; водою, підкисленою кислотою сульфатною — за методом Крамаренка В.П. [2]. При цьому, зменшивши наважку біологічного об'єкта в п'ять разів, об'єми органічних розчинників зменшували вдвічі.

Отримані таким чином екстракти з біологічного матеріалу містили значну кількість супутніх домішок, які потім видаляли за допомогою додаткової екстракційної очистки.

За літературними даними, у найбільшій кількості тразодон екстрагує хлороформ з лужного середовища при рН 12 (ступінь екстракції складає 96%). Видалення ж співекстрактивних речовин краще проводити за допомогою діетилового етеру з кислого середовища при рН 2 [5].

З метою очистки ми переносили хлороформні екстракти до фарфорової чашки, випаровували їх на водяній бані при температурі, не вищій, ніж 40°C до видалення органічного розчинника. Потім до сухого залишку у фарфоровій чашці додавали 20 мл 0,1 М розчину кислоти хлоридної, вміст чашки ретельно перемішували, перенесли до ділильної лійки і кислий

розчин двічі (по 10 мл) збовтували з діетиловим етером, відкидаючи фазу органічного розчинника. Після цього кислий водний залишок підлужували 20% розчином натрію гідроксиду до рН 12 і тричі екстрагували тразодон хлороформом по 10 мл кожного разу. Хлороформні витяжки фільтрували через паперовий фільтр з 0,5 г безводного натрію сульфату у мірну колбу об'ємом 50 мл і доводили до позначки хлороформом.

Після цього проводили ідентифікацію та кількісне визначення тразодону в отриманих екстрактах.

При виявленні тразодону у витяжках за допомогою кольорових реакцій використовували кислоту нітратну концентровану (спостерігали жовте забарвлення), реактиви Лібермана (фіолетове забарвлення, яке зникає), Манделіна (сіре забарвлення, яке переходить у фіолетове). Паралельно проводили контрольні досліди зі стандартним розчином тразодону в хлороформі (10 мкг/мл) та витяжкою з “холостого” досліді.

Виявлення тразодону в екстрактах за методом ТШХ проводили з використанням хроматографічних пластинок Merck (Silica gel 60 F254, розмір — 10x20 см); 5-10 мл хлороформної витяжки випаровували до мінімального об'єму (0,05 мл) і наносили в одну точку на лінію старту хроматографічної пластинки. Нанесений об'єм відповідав від 2 до 4 г досліджуваного біологічного об'єкта. На відстані 2 см від вказаної точки наносили розчин “свідка” тразодону (10 мкг у пробі). У третю точку наносили 5 мл випареної витяжки, одержаної у “холостому” досліді. Хроматограми розвивали послідовно у двох рухомих фазах: хлороформ (з метою розділення досліджуваної речовини та супутніх домішок з біологічного матеріалу) та метанол — амонію гідроксид 25% розчин (100:1,5). Після цього пластинки висушували на повітрі і плями тразодону проявляли в УФ-світлі за блакитною флюоресценцією (чутливість 1,0 мкг препарату в пробі) та за допомогою реактиву

Драгендорфа у модифікації за Мунье (оранжевий колір плям препарату на жовтому фоні; чутливість — 1,0 мкг тразодону в пробі). Плями тразодону, виділеного з печінки, та тразодону “свідка” співпадали за величинами  $R_f$  і становили  $0,58 \pm 0,02$ . Витяжки, отримані з “холостих” дослідів, не давали плям з вказаними значеннями  $R_f$ .

Підтвердження присутності тразодону в екстрактах проводили також УФ-спектроскопічним методом. Для цього з не проявленої смуги хроматограми на рівні, що відповідав місцю знаходження плями “свідка” тразодону, знімали шар сорбенту, який двічі збовтували з метанолом та фільтрували. Ступінь елюювання тразодону при цьому становив  $97,8 \pm 1,0\%$ . Отриманий елюат випаровували, сухий залишок розчиняли в 4 мл кислоти хлоридної 0,1 М розчині. Як розчин порівняння використовували кислоту хлоридну 0,1 М розчин. УФ-спектр елюату був аналогічним спектру стандартного розчину тразодону в кислоті хлоридній 0,1 М розчині та мав три смуги поглинання при довжинах хвиль  $247 \pm 2$ ,  $274 \pm 2$  та  $310 \pm 2$  нм. Кількісний вміст тразодону у витяжках встановлювали екстракційно-фотоелектроколориметричним методом за реакцією утворення іонних асоціатів препарату з метиловим оранжевим за допомогою градуовального графіка.

Градуовальний графік будували з використанням стандартного розчину тразодону у воді, що містив 100 мкг препарату в 1 мл. Кількісне визначення проводили згідно з методикою, наведеною нами раніше [1].

Світлопоглинання забарвлених розчинів підлягало закону Бугера-Ламберта-Бера в межах концентрацій від 10 до 150 мкг тразодону в 14 мл кінцевого об'єму. Відносна помилка кількісного визначення не перевищувала 1,05%.

### Результати та їх обговорення

При розробці методів аналізу тразодону в біологічному матеріалі було встановлено, що після

Таблиця

**Результати екстракційно-фотометричного визначення тразодону, виділеного з печінки за методами Васильєвої О.О., Стаса-Отто, Крамаренка В.П. (середнє з п'яти визначень)**

Метод ізолювання	Додано тразодону до 20 г печінки, мкг	Виділено тразодону		Метрологічні характеристики
		мкг	%	
Настоювання з водою, підкисленою кислотою оксалатною (метод Васильєвої О.О.)	2000	522	26,1	$\bar{X} = 25,9$ $S = 2,9$ $S_x = 1,3$ $\Delta X = 3,6$ $\epsilon = 13,9$ $X \pm \Delta X = 25,9 \pm 3,6$
		442	22,1	
		548	27,4	
		486	24,3	
		594	29,7	
Настоювання з етанолом, підкисленим кислотою оксалатною (метод Стаса-Отто)	2000	604	30,2	$\bar{X} = 27,9$ $S = 1,7$ $S_x = 0,8$ $\Delta X = 2,2$ $\epsilon = 7,9$ $X \pm \Delta X = 27,9 \pm 2,2$
		546	27,3	
		584	29,2	
		512	25,6	
		548	27,4	
Настоювання з водою, підкисленою кислотою сульфатною (метод Крамаренка В.П.)	2000	768	38,4	$\bar{X} = 39,4$ $S = 2,7$ $S_x = 1,2$ $\Delta X = 3,4$ $\epsilon = 8,6$ $X \pm \Delta X = 39,4 \pm 3,4$
		804	40,2	
		870	43,5	
		720	36,0	
		782	39,1	

ізолювання зазначеного препарату за методами Васильєвої О.О., Стаса-Отто, Крамаренка В.П. отримані біологічні екстракти вміщували значну кількість домішок, які заважали подальшому виявленню та кількісному визначенню досліджуваної "лікарської" отрути. Так, результати вимірювань показників оптичної густини, отримані екстракційно-фотометричним методом з метиловим оранжевим для екстрактів з "холостих" дослідів за наведеними

вище методами ізолювання, становили, відповідно, 0,055-0,10; 0,09-0,12; 0,06-0,12.

Для видалення супутніх домішок проводили додаткову екстракційну очистку витяжок за методикою, наведеною вище. Отримані таким чином очищені екстракти використовували для виявлення в них тразодону за методами ТШХ та кольорових реакцій. Ідентифікацію препарату за УФ-спектрами проводили тільки після додаткової очистки екстрак-

тів методом ТШХ, аналізуючи елюати з хроматограм.

Екстракційно-фотометричне визначення тразодону в одержаних після екстракційної очистки хлороформних екстрактах проводили на фоні "холостих" дослідів, оптична густина яких після додаткового екстракційного очищення не перевищувала 0,02-0,05 в області спектра, що відповідала максимуму світлопоглинання забарвлених розчинів іонних асоціатів тразодону з метиловим оранжевим.

Результати кількісного визначення тразодону, виділеного з печінки за методами Васильєвої О.О., Стаса-Отто, Крамаренка В.П., наведені в таблиці.

Як видно з викладеного вище, за допомогою запропонованих методик з печінки можна виділити 25,9±3,6%, 27,9±2,2%, 39,4±3,4% тразодону, відповідно.

**ВИСНОВКИ**

1. Вивчено розрізняючу спроможність відносно тразодону загальноприйнятих у судово-токсикологічному аналізі методів ізолювання "лікарських" отрут за методами Васильєвої О.О., Стаса-Отто, Крамаренка В.П., які дозволили виділити, відповідно, 25,9±3,6%, 27,9±2,2%, 39,4±3,4% тразодону.

2. Показана можливість використання кольорових реакцій, ТШХ, УФ-спектроскопії, екстракційної фотоелектроколометрії для виявлення та кількісного визначення тразодону в екстрактах з біологічного матеріалу.

**ЛІТЕРАТУРА**

1. Баюрка С.В., Бондар В.С., Карпушина С.А. // *Вісник фармації*. — 2009. — Т. 59, №3. — С. 23-26.
2. Вергейчик Т.Х. *Токсикологическая химия*. — М.: МЕДпресс-информ, 2009. — 400 с.
3. Крылов В.И. // *ФАРМиндекс-Практик*. — 2003. — Вып. 5 — С. 22-32.
4. Машковский М.Д. *Лекарственные средства: 15-е изд.* — М.: ООО "Изд-во Новая Волна", 2006. — С. 106-107.
5. Миронова Т.В. // *СМЭ*. — 1989. — Т. 32, №2. — С. 34-35.
6. *Токсикологическая химия: Учеб. для вузов / Т.В.Плетенева, Е.М.Саломатин, А.В.Сыроежкин и др.* — М.: ТЭОТАР-Медиа, 2005. — 512 с.
7. Урываев Ю.В., Надеждин А.В., Иванов А.И. и др. // *Нарколог*. — 2005. — №4. — С. 20-23.
8. Элленхорн М.Дж. *Медицинская токсикология: Диагностика и лечение отравлений у человека. В 2-х т. / Пер. с англ.* — М.: Медицина, 2003. — Т. 1. — С. 647-697.

9. Carson H.J. // *J. Leg. Med.* — 2007. — Vol. XXX. — P. 1-4.
10. Cheeta S., Schifano F., Oyefeso A. et al. // *Brit. J. Psychiatry.* — 2004. — №184. — P. 41-47.
11. Clark's analysis of Drugs and Poisons. 3-rd Ed. [Електронний ресурс] / Laurent Y. Galichet. — 80 Min / 700 MB. — Pharmaceutical Press, 2005. — 1 електрон. опт. диск (CD-ROM); 12 см. — Систем. вимоги: Pentium; 128 Mb RAM; CD-ROM Windows XP / Vista. — Назва з титул. екрану.
13. Goeringer K.E. // *J. Forens. Sci.* — 2000. — Vol. 45. — P. 850-856.
14. Martin A., Pounder D.J. // *Forens. Sci. Int.* — 1992. — Vol. 56. — P. 201-207.

Адреса для листування: 61168, м. Харків,  
вул. Блюхера, 4. Тел. (572) 67-91-92.  
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 22.01.2010 р.

### Інформаційне повідомлення відділу фармакологічного нагляду ДП “Державний фармакологічний центр” МОЗ України

Про підозрювану побічну дію препарату, діючою речовиною якого є **преднізолон** (Кортикостероїд для системного застосування. Код АТС Н02АВ06)

Хворому С. (68 років) з діагнозом: ІХС, кардіосклероз, тріпотіння передсердь СН ІА, ХОЗЛ, легенева недостатність І-ІІ ст. було призначено препарат, діючою речовиною якого є ПРЕДНІЗОЛОН (внутрішньовенно по 25 мг один раз на добу). Під час введення препарату, діючою речовиною якого є преднізолон, у нього виник бронхоспазм, свистяче дихання, ціаноз, задишка. Одночасно приймав верошпірон, дигоксин, кордарон, каліпоз, фуросемід, гепарин, еуфілін. Препарат, діючою речовиною якого є преднізолон, було відмінено, реакцію купірували за допомогою введення еуфіліну та інгаляції киснем. Після вжитих заходів зазначені явища минули без наслідків.

Алергологічний анамнез не обтяжений. Будь-які незвичайні реакції на ліки або хімічні речовини в минулому невідомі.

Інформація надійшла від регіонального відділення ДФЦ МОЗ України по АР Крим (Республіканський кардіологічний диспансер).

Про підозрювану побічну дію препарату, діючою речовиною якого є **гатифлоксацин** (Антибактеріальні засоби групи хінолонів — фторхінолони. Код АТС J01MA)

Хворій (21 рік) з діагнозом: серцева недостатність, анемія І ст., бактеріальний ендокардит було призначено препарат, діючою речовиною якого є гатифлоксацин (внутрішньовенно по 400 мг один раз на добу). Після другого введення у хворої з'явився головний біль, нудота, загальна слабкість, артеріальний тиск знизився до 80/50 мм рт. ст. Одночасно хвора отримувала метронідазол, бромокриптин, мілдронат. Препарат, діючою речовиною якого є гатифлоксацин, було відмінено, зазначені явища минули без наслідків.

Алергологічний анамнез не обтяжений. Будь-які незвичайні реакції на ліки або хімічні речовини в минулому невідомі.

Інформація надійшла від Донецького регіонального відділення ДФЦ МОЗ України (Донецька обласна клінічна лікарня).