

## ДІАГНОСТИКА ОТРУЄНЬ ЦИТАЛОПРАМОМ ЗА РЕЗУЛЬТАТАМИ ХІМІКО-ТОКСИКОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

С.В.Баюрка

Національний фармацевтичний університет

*Ключові слова: антидепресанти; циталопрам; біологічний матеріал; кольорові реакції; тонкошарова хроматографія; УФ-спектроскопія; екстракційна спектrophотометрія*

*Встановлено ступінь ізолювання циталопраму з біологічного матеріалу за допомогою ацетону та підкисленого ацетонітрилу, який становив  $15,6 \pm 1,6\%$  та  $35,8 \pm 2,3\%$  відповідно. Показана можливість використання кольорових реакцій, тонкошарової хроматографії, УФ-спектроскопії для виявлення циталопраму, виділеного з біологічного матеріалу, після додаткової очистки витяжок від супутніх домішок за допомогою методів екстракції та ТШХ. Кількісний вміст досліджуваного антидепресанта в екстрактах встановлювали екстракційно-спектrophотометричним методом у видимій області за реакцією утворення іонного асоціату з кислотним азобарвником метиловим оранжевим. Отримані результати можуть бути використані для судово-токсикологічних досліджень біологічного матеріалу при смертельних отруєннях циталопрамом.*

Препарати антидепресивної дії посідають одне з перших місць за кількістю отруєнь лікарськими засобами [6, 10, 14, 15]. Сучасним антидепресантом, який знайшов широке застосування в медичній практиці для лікування ендогенних депресій [4, 5], є циталопрам — 1-[3-(диметиламіно)пропіл]-1-(4-фторофеніл)-1,3-дигідро-5-ізобензофуранкарбонітрилу гідробромід. Серед селективних інгібіторів зворотного захвату серотоніну циталопрам є найбільш токсичним при передозуванні [8] і неодноразово був причиною гострих та смертельних отруєнь [12, 15, 16, 18]. Таким чином, розробка методів хіміко-токсикологічного аналізу циталопраму в біологічних об'єктах є актуальною задачею.

У літературі містяться дані стосовно аналізу циталопраму в біо-

логічних рідинах (крові, сечі) за допомогою методів газорідинної хроматографії [12], високоефективної рідинної хроматографії [7, 12, 13], поєднання рідинної хроматографії з тандемною мас-спектрометрією [11, 21], міцелярної електрокінетичної капілярної хроматографії [17]. Метод капілярного електрофорезу застосовано для кількісного аналізу циталопраму в грудному молоці [9]. Вищеперелічені методики характеризуються високою чутливістю та специфічністю, але потребують ретельної пробопідготовки (твердофазна екстракція [11, 13], рідиннофазна мікроекстракція [9]) та спеціального коштовного обладнання, що робить їх малодоступними.

Останнім часом як ефективні екстрагенти лікарських речовин з біологічного матеріалу використовуються апротонні розчинники

(ацетонітрил, ацетон), які до того ж за даними деяких авторів [3, 20] екстрагують порівняно невелику кількість співекстрактивних речовин з біологічного об'єкту.

Метою нашої роботи було встановлення роздільної спроможності щодо циталопраму методів ізолювання ацетоном (за методом Карташова В.А. [3]) та підкисленим ацетонітрилом (за методом Сшедзінські І. [20]).

Виявлення та кількісне визначення циталопраму в отриманих екстрактах проводили за допомогою розроблених нами раніше методів: кольорових реакцій, тонкошарової хроматографії (ТШХ), УФ-спектроскопії, екстракційної спектrophотометрії [1].

### Матеріали та методи

Брали 5 г (при ізолюванні ацетоном) та 20 г (при ізолюванні підкисленим ацетонітрилом) подрібненої печінки людини, яка загинула від травми, вміщували у

стакан, додавали 2 мл водного розчину циталопраму, який містив 500 мкг (при ізолюванні за методом Карташова В.А.) та 2000 мкг (при ізолюванні за методом Сшедзінські І.) препарату. Суміш ретельно перемішували і залишали на 24 год. Паралельно ставили “холості” досліди з біологічним матеріалом.

Виділення циталопраму з печінки зазначеними розчинниками проводили, як описано нами раніше в роботі [2].

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

За даними, отриманими нами при вивченні екстракції циталопраму з водних розчинів органічними розчинниками, було встановлено, що з кислого середовища (рН 1-2) вказана речовина у найменшій мірі екстрагується діетиловим етером (ступінь однофазової екстракції складає близько 11,4%). Циталопрам екстрагується хлороформом як з кислого, так і з лужного середовища. Ступінь екстракції складає, відповідно, 24,4 та 47,5% (рН 2 та 3 відповідно) та 96-100% (рН 9-11). Таким чином, для видалення співекстрактивних речовин з біологічних витяжок найбільш придатним екстрагентом є діетиловий етер (при рН 1-2), а для екстракції циталопраму з водно-ацетонних (або водно-ацетонітрильних) розчинів органічним розчинником — хлороформ (при рН 9-11).

Для видалення домішок екстракційним методом хлороформні екстракти, отримані з лужного середовища, переносили до фарфорової чашки, випаровували їх на водяній бані при температурі не вище, 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 діляльної лійки і кислий розчин збовтували з 20 мл діетилового етеру, відкидаючи фазу органічного розчинника. Після цього кислий водний залишок підлу-

говували 20% розчином натрію гідроксиду до рН 9-11 і тричі екстрагували циталопрам хлороформом по 10 мл кожного разу. Хлороформні витяжки фільтрували через фільтр з 0,5 г безводного натрію сульфату у мірну колбу об'ємом 50 мл і доводили до позначки хлороформом.

### Результати та їх обговорення

Виявлення та кількісне визначення циталопраму в очищених таким чином екстрактах проводили за допомогою кольорових реакцій, ТШХ, УФ-спектроскопії, екстракційної спектрофотометрії з метиловим оранжевим.

Було встановлено, що додаткового екстракційного очищення було достатньо для проведення кольорових реакцій та екстракційно-спектрофотометричного визначення циталопраму в екстрактах, яке проводили на фоні “холостих” дослідів. Їх оптична густина після додаткового екстракційного очищення не перевищувала 0,025-0,048 в області спектра, що відповідала максимуму світлопоглинання забарвлених розчинів іонних асоціатів циталопраму з метиловим оранжевим (до очищення результати вимірювань відповідних показників оптичної густини екстрактів, отриманих з “холостих” дослідів, становили 0,068-0,095 (за методом Карташова В.А.) та 0,12-0,16 (за методом Сшедзінські І.).

При виявленні циталопраму у витяжках за допомогою кольорових реакцій використовували кислоту сульфатну концентровану (жовте забарвлення), реактиви Маркі (жовтувато-зелене забарвлення, що переходило у коричневе), Манделіна (зелене забарвлення), Фреде (жовте забарвлення), Лібермана (лимонно-жовте забарвлення, що переходило у коричневе), Ердмана (світло-коричневе забарвлення); чутливість вказаних реакцій становила 3,0-6,0 мкг у пробі. Паралельно проводили контрольні досліди зі стандартним розчином циталопраму в хлороформі (10 мкг/мл) та витяжкою з “холостого” дослідів.

Виявлення циталопраму в екстрактах за методом ТШХ проводили з використанням хроматографічних пластинок Сорбфіл (сілікагель ПТСХ-П-А, фракція 5-17 мкм, розмір 10x10 см) та Merck (Silica gel 60 F254, розмір 10x20 см). Від 2 до 10 мл хлороформної витяжки випаровували до мінімального об'єму (0,05 мл) і наносили в одну точку на лінію старту хроматографічної пластинки. На відстані 2 см від вказаної точки наносили розчин “свідка” циталопраму (10 мкг у пробі). У третю точку наносили 5 мл випареної витяжки, одержаної у “холостому” досліді. Спочатку хроматограми розвивали у рухомій фазі хлороформ для відокремлення домішок з біологічного матеріалу від препарату (домішки мігрували з фронтом розчинника до лінії фінішу, а циталопрам залишався на лінії старту). Після ТШХ-очистки екстракти досліджували у рухомих фазах: метанол — амонію гідроксиду 25% розчин (100:1,5) та толуен-ацетон-етанол-амонію гідроксиду 25% розчин (45:45:7,5:2,5). Потім пластинки висушували на повітрі і проявляли за допомогою реактиву Драгендорфа у модифікації за Мунье (жовтогарячий колір плям циталопраму на жовтому фоні; чутливість виявлення циталопраму на вказаних пластинках складала 0,5-1,0 мкг препарату у пробі, відповідно). Плями циталопраму, виділеного з біологічного матеріалу, та циталопраму-стандарту за величинами R<sub>f</sub> співпадали та складали у рухомих фазах: метанол — амонію гідроксиду 25% розчин (100:1,5) 0,50±0,02 (для пластинок Сорбфіл) та 0,38±0,02 (для пластинок Merck), толуен-ацетон-етанол-амонію гідроксиду 25% розчин (45:45:7,5:2,5) 0,70±0,02 (для пластинок Сорбфіл) та 0,59±0,02 (для пластинок Merck). Витяжки з “холостих” дослідів не давали плям з вказаними значеннями R<sub>f</sub>.

Для виявлення циталопраму УФ-спектроскопічним методом використовували елюати з хроматограм. Для цього з непроявленої смуги хроматограми на рівні, що відповідав місцю знаходження пля-

Таблиця

**Результати екстракційно-фотометричного визначення циталопраму, виділеного з печінки ацетоном (за методом Карташова В.А.) та підкисленим ацетонітрилом (за методом Шведзінські І.)**

Метод ізолювання	Додано циталопраму, мкг (до m г печінки)	Виділено циталопраму		Метрологічні характеристики
		мкг	%	
Ацетоном (метод Карташова В.А.)	500 (m = 5)	73,5	14,7	$\bar{X} = 15,6$ $S = 1,3$ $S_{\bar{X}} = 0,6$ $\Delta X = 1,6$ $\epsilon = 10,5$ $\bar{X} \pm \Delta \bar{X} = 15,6 \pm 1,6$
		75,5	15,1	
		87,5	17,5	
		71,0	14,2	
		81,5	16,3	
Підкисленим ацетонітрилом (метод Шведзінські І.)	2000 (m = 20)	744,0	37,2	$\bar{X} = 35,8$ $S = 1,8$ $S_{\bar{X}} = 0,8$ $\Delta X = 2,3$ $\epsilon = 6,3$ $\bar{X} \pm \Delta \bar{X} = 35,8 \pm 2,3$
		690,0	34,5	
		706,0	35,3	
		764,0	38,2	
		676,0	33,8	

ми "свідка" циталопраму, знімали шар сорбенту, який двічі збовтували з метанолом та фільтрували. Ступінь елюювання циталопраму при цьому становив  $99,0 \pm 1,0\%$ . 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 циталопраму в кислоті хлоридній 0,1 М розчині та мав п'ять смуг поглинання при таких довжинах хвиль:  $206 \pm 2$ ,  $239 \pm 2$ ,  $270 \pm 2$ ,  $276 \pm 2$  та  $285 \pm 2$  нм.

Для кількісного визначення циталопраму у витяжках екстракційно-спектрофотометричним методом у видимій області з метиловим оранжевим використовували рівняння залежності оптичної густини від концентрації:  $A = 0,00554 \cdot C + 0,02$  ( $r = 0,99945$ ;  $S^2 = 1,5 \cdot 10^{-4}$ ) [1].

Оптичну густину розчинів, забарвлених у червоний колір, вимірювали за допомогою УФ-спектрофотометра СФ-46 (світлофільтр з  $\lambda_{\text{max}} = 540 \pm 2$  нм; кювета з товщиною шару рідини 10 мм). Світлопоглинання забарвлених розчинів підлягало закону Бугера-

Ламберта-Бера в межах концентрацій від 10 до 200 мкг циталопраму в 14 мл кінцевого об'єму. Відносна помилка кількісного визначення не перевищувала  $2,4\%$ .

Результати кількісного визначення циталопраму, виділеного з печінки за методами Карташова В.А. та Шведзінські І., наведені в таблиці.

Як видно, за допомогою запропонованих методик з печінки можна виділити  $15,6 \pm 1,6\%$  та  $35,8 \pm 2,3\%$  циталопраму відповідно.

**ВИСНОВКИ**

1. Вивчено розрізняльну спроможність відносно циталопраму методів ізолювання лікарських речовин ацетоном (за методом Карташова В.А.) та підкисленим ацетонітрилом (за методом Шведзінські І.), які дозволили виділити, відповідно,  $15,6 \pm 1,6\%$  та  $35,8 \pm 2,3\%$  досліджуваного антидепресанта.

2. Показана можливість використання методу тонкошарової хроматографії, кольорових реакцій, УФ-спектроскопії для виявлення циталопраму, виділеного з біологічного матеріалу, після попередньої додаткової очистки витяжок від супутніх домішок за допомогою поєднання методів екстракції та ТШХ.

Отримані результати можуть бути використані для судово-токсикологічних досліджень біологічного матеріалу при смертельних отруєннях циталопрамом.

**ЛІТЕРАТУРА**

1. Баюрка С.В., Бондар В.С., Болотов В.В. та ін. //Вісник фармації. — 2010. — №4 (64). — С. 33-37.
2. Баюрка С.В., Карпушина С.А., Бондар В.С. //Вісник фармації. — 2009. — №1 (57). — С. 19-22.
3. Карташов В.А., Кнауб В.А., Чернова Л.В. //СМЭ.— 1988.— №1. — С. 33-35.
4. Крылов В.И. //ФАРМиндекс-Практик. — 2003. — Вып. 5 — С. 22-32.
5. Машковский М.Д. Лекарственные средства: 15-е изд. — М.: ООО "Изд-во Новая Волна", 2006. — С. 106.
6. 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.
7. Bartolincic A., Sporec A., Druskovic V. et al. //Chem. anal. — 2006. — Vol. 51, №4. — P. 509-526.
8. Bateman N.D. Antidepressants: Poisonous substances. — Amsterdam: Elsevier, 2007. — P. 587-589.
9. BJORHOVDE A., HALVORSEN G.T., RASMUSSEN K.E. et al. //Anal. chim. acta. — 2003. — Vol. 491, №2. — P. 155-161.
10. Carson H.J. //Leg. Med. — 2007. — Vol. XXX. — P. 1-4.
11. Castro A., Fernandez M.d.M.R., Laloup M. et al. //J. Chromatogr. A. — 2007. — Vol. 1160, №1. — P. 3-12.

12. *Clark's analysis of Drugs and Poisons: Third edition [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. *Frahnet Ch., Luise R.M., Grasmader K. //J. Chromatogr. B. — 2003. — Vol. 794, №1. — P. 35-47.*
14. *Global Burden of Disease: A comprehensive assessment of mortality and disability from diseases, injuries, and risk factors in 1990 and projected to 2020 / C.J.L.Murray, A.D.Lopez. — Harvard: Harvard University Press, 1996. — P. 5.*
15. *Isbister G.K., Bowe S.J., Dawson A. et al. //J. Toxicol. Clin. Toxicol. — 2004. — №42. — P. 277-285.*
16. *Jenkins A.J., Gubanich K.M. //J. For. Sci. — 2002. — №47. — P. 159-164.*
17. *Labat L., Deveaux M., Dallet P. et al. //J. Chromatogr. B. — 2002. — Vol. 773, №1. — P. 17-23.*
18. *Levine B., Zhang X., Smialek J.E. et al. //J. Anal. Tox. — 2001. — №25. — P. 641-644.*
19. *Okulicz-Kozaryn K., Borucka A., Koson K. //Alk. i narkomania. — 2006. — Vol. 19, №1. — С. 35-52.*
20. *Szrzedzinski I. //Arch. Med. Sad. Kryminal. — 1978. — Vol. 28. — P. 199.*
21. *Thieme D., Sachs H. //Anal. chim. acta. — 2003. — Vol. 492. — P. 171-186.*

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

Надійшла до редакції 30.03.2011 р.

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

Про підозрювану побічну дію **комбінованого гомеопатичного лікарського засобу** (Засоби, що впливають на статеву сферу. Код АТС G03X A50\*\*) )

Хворій Н. (47 років) на фіброзно-кістозну мастопатію було призначено комбінований гомеопатичний лікарський засіб (перорально по 1 таблетці 2 рази на добу). На другу добу після першого прийому у хворої з'явився бронхоспазм, відчуття жару шкіри обличчя, набряк слизових верхніх дихальних шляхів. Комбінований гомеопатичний лікарський засіб було відмінено, реакцію купірували за допомогою кетотифену, теопеку. 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 Чернівецького регіонального відділення ДФЦ МОЗ України.

---

Просимо про виникнення будь-якої підозрюваної побічної дії при застосуванні ліків обов'язково повідомляти у відділ фармакологічного нагляду Державного фармакологічного центру МОЗ України за адресою: 01042, м. Київ, вул. Чигоріна, 18, тел./факс 286-7505, email: [vigilance@pharma-center.kiev.ua](mailto:vigilance@pharma-center.kiev.ua).