

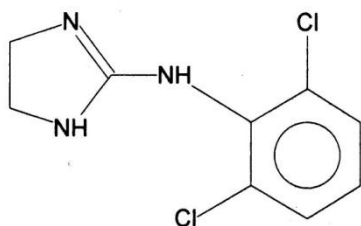
## ОСТРЫЕ ОТРАВЛЕНИЯ КЛОФЕЛИНОМ И ВОЗМОЖНОСТИ ИХ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

*Борисевич С. Н., Вергун О.М.\**

*Белорусский государственный медицинский университет, Минск*

*\*Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск*

Клофелин (синонимы: катапресан, гемитон, хлофазолин; МНН - клонидин) в химическом отношении представляет собой 2-(2,6-дихлорфениламино)-имидазолина гидрохлорид. Фармакокинетические параметры основания клофелина:  $pK_a = 8,25$ ;  $T_{1/2} = 12,7$  час.; связь с белком – 20% [1]. В соответствии с [2] клофелин является опасным психотропным веществом.



По химической структуре он имеет элементы сходства с нафтизином, глазолином, фентоламином.

Клофелин относится к гипотензивным средствам центрального действия. Препарат влияет на адренергические системы и является адреномиметическим и  $\alpha$ -адреноблокирующим средством. Выраженная и стойкая гипотензия связана со снижением как работы сердца (возникает брадикардия), так и общего периферического сопротивления сосудов. Падению артериального давления предшествует кратковременная гипертензия за счет возбуждения периферических  $\alpha$ -адренорецепторов.

Результатом угнетающего влияния клофелина на центральную нервную систему являются также анальгезирующий, седативный и снотворный эффекты, понижение температуры тела. Препарат эффективен в весьма малых дозах. Назначают клофелин внутрь (таблетки по 0,00015) и

парентерально (раствор для инъекций 0,01% в ампулах по 1 мл); раствор бесцветен, не имеет вкуса и запаха. При одновременном приеме снотворных и психотропных средств, этилового алкоголя наблюдается потенцирование центральных эффектов клофелина, что может привести к чрезвычайно опасному осложнению при отравлении - ортостатической гипотонии [3-5].

Несмотря на то, что токсическая концентрация клофелина в сыворотке крови (0,025 мг/л) значительно превышает терапевтическую (0,0003-0,0015 мг/л), существует риск острых отравлений препаратом в результате передозировки при его назначении врачом без подбора индивидуальной начальной дозы и без учета особенностей больного (у 1/5 больных прием клофелина вызывает тахикардию и повышение артериального давления). Описаны случаи отравления новорожденных после лечения артериальной гипертензии в родах, а также случайных бытовых отравлений детей при приеме от 6 мкг клофелина на килограмм массы тела (легкая степень отравления) до 35 мкг/кг (тяжелая степень отравления).

По данным литературы за 1991-1997 г.г. [6,7] отравления клофелином носят преимущественно криминальный характер в форме посягательств на личность с помощью лекарственных препаратов. Правонарушители добавляют клофелин (а также глазолин, нафтизин) в алкогольные напитки (что усиливает и удлиняет их одурманивающее действие), которыми «угощают» граждан для приведения их в бессознательное состояние с целью завладения имуществом, изнасилования и т.д.

Отравления клофелином характеризуются симптоматикой, сходной с отравлениями наркотиками, производными фенотиазина и барбитуровой кислоты, что затрудняет диагностику. Патологоанатомическая картина не характерна [8]. Решающее значение в экспертной оценке отравлений имеют результаты химико-токсикологического и судебно-химического исследования.

В работе [9] нами произведен сравнительный анализ методов фармацевтического и химико-токсикологического исследования клофелина.

По нормативным требованиям фармацевтического анализа подлинность клофелина в субстанции устанавливают по ИК- и УФ-спектрам поглощения и реакции обнаружения хлорид-иона [10-12], количественное содержание определяют титрованием в неводных растворителях [12]. Идентификацию в лекарственных формах осуществляют по УФ-спектру поглощения водного и щелочного раствора и методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), количественный анализ проводят УФ-спектрофотометрическим методом и методом ВЭЖХ [13, 14].

Для анализа лекарственных форм описаны химические микрокристаллоскопические реакции с реактивами Марме, Зонненштейна, Рейнеке и раствором комплекса тетраидоплюмбата (II) калия [15], пикриновой и пикролоновой кислотами [16], а также реакции окрашивания реактивом на основе нитрата серебра после тонкослойнохроматографического разделения смеси [17] и реактивом Драгендорфа после проведения электрофореза на бумаге [18]. Количественное определение клофелина в субстанции и лекарственных формах предложено проводить методом фотоэлектроколориметрии на основе реакции с нитропруссидом натрия [16,19]; экстракционно-фотометрическим методом, основанным на образовании ионных ассоциатов с метиловым оранжевым [20] и бромфеноловым синим [16,18]; и экстракционно-спектрофотометрически в пределах концентраций 2-40 мг/л экстрагента [18].

Однако из-за низкой чувствительности и неспецифичности большинства предложенных в фармацевтическом анализе методов они непригодны для проведения химико-токсикологического исследования.

В нашей стране в последние годы наблюдается спад числа острых отравлений клофелином (диаграмма 1), вероятно, в связи со строгим учетом назначения и реализации препарата через аптечную сеть.

Целью проведённого нами исследования была оценка выявляемости острых отравлений клофелином по г. Минску и оценка характера таких отравлений.

### **Материалы и методы**

Нами проанализирована группа пациентов, поступивших с предварительным диагнозом «Острое отравление клофелином» в Республиканский токсикологический центр по лечению острых отравлений химической этиологии психических больных УЗ «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи» в течение 1 квартала 2009 года. В состав основной группы вошли 91 пациент в возрасте от 18 до 40 лет. Биологическим материалом являлась моча пациентов.

### **Результаты и обсуждение**

Взятие биологического материала производилось не позднее, чем через 1 час после поступления больного в отделение. Указанный диагноз подтверждался данными метода тонкослойной хроматографии (предварительный метод) и методом газовой хромато-масс-спектрометрии на приборе Agilent - 6890N, США (подтверждающий метод). При исследовании методом ТСХ из 91 случая диагноз отравления клофелином подтвердился в 62 случаях, что составляет 68%; при исследовании биоматериала подтверждающим методом ГХ/МС диагноз «Острое отравление клофелином» подтвердился в 91 случае, что составляет 100%.

Как видно из диаграммы 2, чаще (69%) с острым отравлением клофелином поступают женщины (63 пациентки в исследуемой группе). Число пациентов мужчин - 28 человек, что составляет 31%.

При анализе причин отравлений (диаграмма 3) оказалось, что в подавляющем большинстве случаев это суицидальные попытки (63 случая - 69%), вторую по численности группу составляют случайные отравления (26 случаев - 29%), и отравления, которые носят криминальный характер, составили 2% (2 пациента).

Особенностью химико-токсикологического анализа клофелина является низкий уровень концентраций в биожидкостях и тканях организма даже при приеме токсической дозы препарата. Это вызывает необходимость применения высокочувствительных и селективных физико-химических методов анализа, к числу которых относятся хроматография (ТСХ, ГЖХ, ВЭЖХ, ГХ/МС), УФ- и ИК-спектроскопия, а также иммунохимических методов.

Для проведения ТСХ-исследования клофелина предложено 9 систем растворителей (1. метанол – аммиак (100:1,5), 2. хлороформ – ацетон (1:9), 3. хлороформ – метанол – ацетон (7:2:1), 4. бензол – диоксан – аммиак (60:35:5), 5. хлороформ – аммиак (25:3), 6. хлороформ – метанол (9:1), 7. хлороформ – ацетон – диоксан – аммиак (45:5:47,5:2,5), 8. циклогексан – толуол – диэтиламин (75:15:100), 9. гексан – ацетон – аммиак (2:2:0,1)) и 7 способов детекции (1. в УФ-свете, 2. в УФ-свете после солянокислого гидролиза при  $120^{\circ}$  30', 3. реактивом Драгендорфа, 4. раствором нингидрина, 5. йодплатиновым реактивом, 6. в йодной камере, 7. раствором роданида кобальта) [6, 21–23]. Система хлороформ – метанол – аммиак (80:30:1) позволяет разделить клофелин и его основной метаболит 2,6-дихлорфенилгуанидин [8].

Разработаны методики ГЖХ на высокотемпературных жидких фазах различной полярности (OV-17, OV-101, SE-30 и др.) как на капиллярных, так и на набивных колонках с использованием пламенно-ионизационного и масс-спектрального детекторов [6,16,21,24] и имеющие диапазон количественного определения 0,5 – 50 мкг/л.

Качественный и количественный анализ клофелина методом ВЭЖХ проводят с использованием в качестве элюентов 0,01 моль/л раствор перхлората аммония в метаноле [21], смесь метанола и фосфатного буфера (55:45) [6, 25], смесь ацетонитрил – вода (5:15) [16] и др. [14]. Предел обнаружения составляет 1-2 мкг в анализируемой пробе. Метод позволяет

обнаруживать и определять количество клофелина в биоматериале в течение 7 суток после смерти [26].

В [16] показана возможность идентификации производных имидазолина методом УФ-спектроскопии: в 0,1 моль/л растворе соляной кислоты клофелин имеет поглощение при длине волны 271 и 278 нм, нафтизин — 260 нм, глазолин — 265 нм.

За рубежом широко применяется радиоиммунный метод исследования клофелина в биообъектах [27]. Перспективным методом химико-токсикологического анализа, не требующим специальной очистки и концентрирования биопробы, является иммуноферментный метод. В настоящее время в Российской Федерации выпускаются готовые коммерческие наборы реагентов для скрининг-диагностики основных классов одурманивающих средств с гарантированным пределом их обнаружения 300-500 мкг/л [1]. Институт физиологически активных веществ РАН производит диагностикумы для обнаружения клофелина на основе гетерогенного иммуноанализа.

Актуальной проблемой является разработка отечественных диагностикумов для иммуноферментного исследования. Это направление анализа может обеспечить снижение материальных и временных затрат на определение клофелина и других одурманивающих веществ в образцах различных типов.

#### **Заключение:**

1. К настоящему времени в нашей стране сложилась устойчивая тенденция снижения числа острых отравлений клофелином.

2. Превалируют отравления с суицидальной целью и преимущественно у женщин в возрасте от 18 до 40 лет.

3. Используемые в настоящее время в химико-токсикологической службе методы анализа биоматериала на наличие клофелина являются чувствительными, высокоспецифичными и надежными, однако требующими процедуры пробоподготовки и дорогостоящими. Перспективным с нашей

точки зрения является метод иммуноферментного анализа. Это направление анализа может обеспечить снижение материальных и временных затрат на определение клофелина и других одурманивающих веществ в образцах различных типов.

### Литература

1. Еремин С.К., Изотов Б.Н., Веселовская Н.В. Анализ наркотических средств. – М.– Мысль.– 1993.– 260с.
2. Постановление МЗ РБ от 28 мая 2003 г. № 26 «Об утверждении республиканского перечня наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, подлежащих государственному контролю в Республике Беларусь».
3. Попов И.М., Семененко Л.А. Отравление гемитоном. // Судебно-медицинская экспертиза, 1981.– №3.– С.55.
4. Томилин В.В., Лужников Е.А., Остапенко Ю.Н. Экспертиза острых отравлений клофелином. // Судебно-медицинская экспертиза, 1991. – №2. – С.30-34.
5. Кичигина Л.С., Козловский В.И., Александрова Л.С. Неотложные состояния при передозировках и отравлениях клофелином. // Анестезиологическое обеспечение и интенсивная терапия критических состояний: Тез.докл.-Минск.– 1995.– С.70-71.
6. Агинский В.Н., Зибров Т.С., Камаев А.В., Сорокин В.И., Сорокина Т.И. Криминалистическое исследование материалов, содержащих клофелин. // Метод. рекомендации. — М.: ВНКЦ, 1991. — 5с.
7. Кедров В.С., Бажанов Н.О. Судебно-медицинские аспекты острых отравлений клофелином. // Судебно-медицинская экспертиза, 1997. – №3. – С.18-20.

8. Вольграм Е.Н., Ходасевич Т.А. К вопросу об отравлении клонидином. // Судебно-медицинская экспертиза, 1990. – №4. – С.47-49.
9. Борисевич С.Н. Клофелин. Методы фармацевтического и химико-токсикологического исследования. // Здоровье и окружающая среда: Сб. науч. тр. Вып. 10 / М-во здравоохранения Респ. Беларусь. – Минск: Науч. практ. центр гигиены, 2007. – С.690-694.
10. British Pharmacopoeia, 2000, v.4.
11. The United States Pharmacopoeia USP24-NF19 Supplement 2.
12. Нормативный Документ Республики Беларусь 0404С-2008. Клофелин.
13. Нормативный Документ Республики Беларусь 4300-2002. Клофелина раствор для инъекций 0,01% в ампулах №10.
14. Аналитический нормативный документ П.01.03/05699. Клофелина таблетки 0,00015 г № 30 и № 50.
15. Болотов В.В., Бондар В.С., Маміна О.О., Стадниченко Е.І., Чубенко В.О. Мікрокрісталічні реакції клофеліну. // Фармац. ж., 1988. – №5. – С.45-47
16. Саеб А.С. Химико-токсикологическое исследование клофелина. // Автореф. дис... канд. фармац. наук. Л., 1991 – 21с.
17. Кобзар Я.В., Котенко О.М., Святненко Б.О. До питання ідентифікації клофеліну методом хроматографії в тонком шарі сорбенту.// Фармац. ж., 1995. – №2. –С.101.
18. Лисионкова Г.А. Биофармацевтический анализ клофелина. // Автореф.дис... канд. фармац. наук. Уфа, 1996. – 16с.
19. Гусева Л.Н., Сивицкая. О.К. Определение клофелина в глазных каплях, изготовленных в аптеках. // Фармация, 1988. – №5. – С.75-76.



20. Болотов В.В., Маміна О.О., Бондар В.С., Стадниченко Е.І. Екстракційно-фотометричне визначення клофеліну. // Фармац. ж., 1989. – №4. – С.57-58.
21. Clarke E.G.C. Isolation and identification of drugs in pharmaceutical, body fluids and post-mortem material. — London. — Pharmpress. — 1986. — p.481-482.
22. Безина А.А., Салтыков Н.С., Федоров Ю.Н. Обнаружение гемитона в биологическом материале. // Судебно-медицинская экспертиза, 1983. – №4. – С.36-38.
23. Борисевич С.Н., Драбень Н.Н. Изучение условий ТСХ–обнаружения клофелина в биологических средах // Клиническая лабораторная диагностика в XXI веке: материалы 7 съезда специалистов по клинической лабораторной диагностике, 25-26 окт.2007, Минск. — С.21-22.
24. Мелентьев А.Б. Определение клофелина в крови методом газовой хроматографии — масс-спектрометрии. / СМЭ, 2001. — №4. — С.28-31.
25. Савчук С.А., Веселовская Н.В., Бродский Е.С., Формаковский А.А., Чистяков В.В., Изотов Б.Н. Применение хроматографии и хромато-масс-спектрометрии для изучения фармакокинетики и метаболизма пропофола, клофелина, фенциклидина и трамадола. // ХФЖ, 1999. — №10. — С.29-52.
26. Орестов С.М. Острые интоксикации клофелином. // Автореф. дис... канд.мед.наук. — Л.,1996. — 22с.
27. Jarrot V., Spector S., J. // Pharmacol. Exp. Ther., 1978. — Vol.207, №1. — p.195-202.

## Резюме

Целью исследования явилась оценка выявляемости острых отравлений клофелином в г. Минске и оценка характера таких отравлений.

Проанализирована группа пациентов из 91 человека в возрасте от 18 до 40 лет, поступивших с предварительным диагнозом «Острое отравление клофелином» в Городскую клиническую больницу скорой медицинской помощи в течение 1 квартала 2009 года. Биологическим материалом являлась моча пациентов. Для химико-токсикологического исследования биообъекта использовался метод тонкослойной хроматографии в качестве предварительного метода и газовой хромато-масс-спектрометрии в качестве подтверждающего метода.

К настоящему времени в нашей стране сложилась устойчивая тенденция снижения числа острых отравлений клофелином. Среди них преобладают отравления с суицидальной целью и преимущественно у женщин в возрасте от 18 до 40 лет. Используемые в настоящее время в химико-токсикологической службе методы анализа биоматериала на наличие клофелина являются чувствительными, высокоспецифичными и надежными, однако требующими процедуры пробоподготовки и дорогостоящими. Перспективным с нашей точки зрения является метод иммуноферментного анализа. Это направление анализа может обеспечить снижение материальных и временных затрат на определение клофелина и других одурманивающих веществ в образцах различных типов.

## SHARP POISONINGS WITH CLOPHELINE AND POSSIBILITIES OF THEIR LABORATORY DIAGNOSTICS.

**Borisevitch S.N. , Viarhun O.M.\***

*State Educational Establishment “Belarussian State Medical University”*

*\*State Educational Establishment “Belarusian Medical Academy of Post-  
Graduate Education” Minsk.*

By present time in our country there was a steady tendency of decrease in number of sharp poisonings with clonidine. Among them poisonings with the suicide purpose and mainly at women at the age from 18 till 40 years prevail. Now in use in himiko-toxicological service methods of the analysis of a biomaterial on clonidine presence are sensitive and reliable, however demanding procedure Test preparations and expensive. From our point of view the method иммуноферментного the analysis is perspective. This direction of the analysis can provide decrease in material and time expenses for definition of clonidine and other stupefying substances in samples of various types.

We analyse a situation with sharp poisonings with clopheline on to Minsk.

Диаграмма №1



Диаграмма №2.



Диаграмма №3



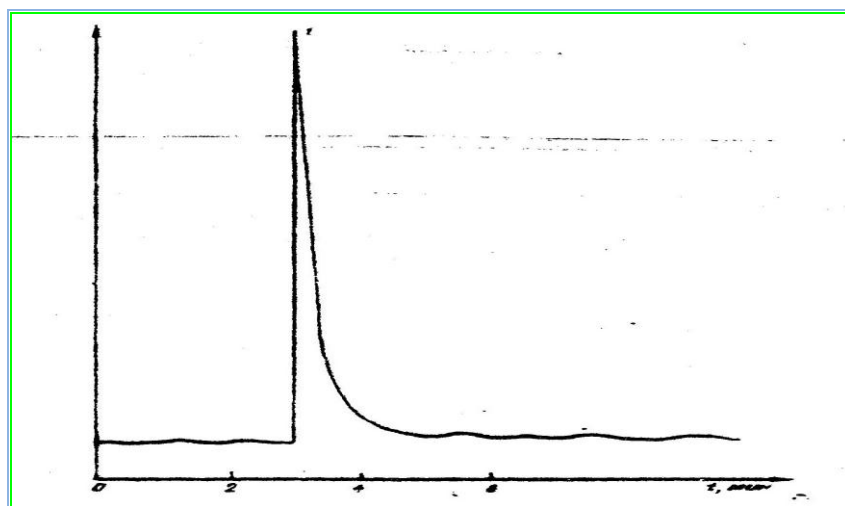


Рисунок №1 Хроматоргама клофелина, полученная на газо-жидкостном хроматографе.

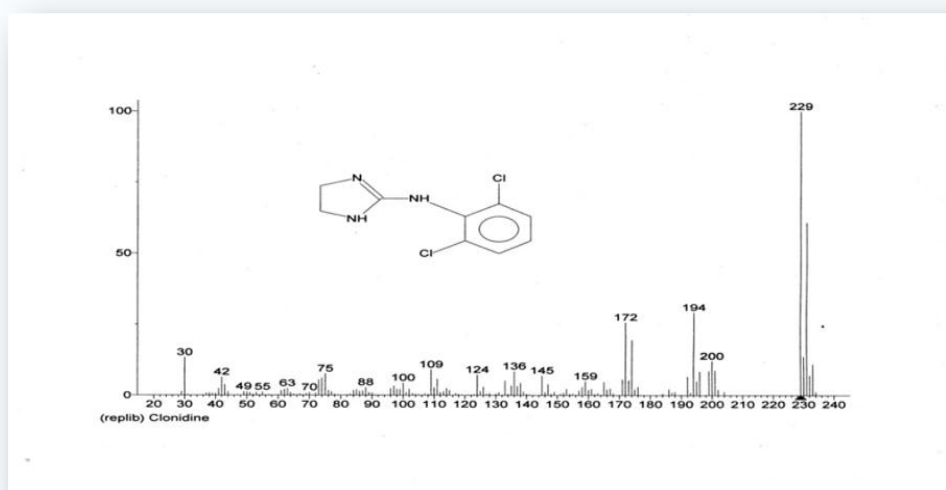


Рисунок №2 Масс-спектры клофелина при газовой хромато-масс-спектрометрии.

**Борисевич С. Н., Вергун О.М. Острые отравления клофелином и возможности их лабораторной диагностики / Здоровоохранение, 2010, №2, с.51-53.**