

ДОКАЗАТЕЛЬСТВО ОТРАВЛЕНИЯ ЦИКЛОПЕНТОЛАТОМ, ВВЕДЕННЫМ В ЖЕЛУДОК ТЕПЛОКРОВНЫХ, НА ОСНОВЕ ОБНАРУЖЕНИЯ В ОРГАНИЗМАХ ИСХОДНОГО ОТРАВЛЯЮЩЕГО АГЕНТА И ПРОДУКТА ЕГО ТРАНСФОРМАЦИИ

© Шорманов В.К.¹, Правдюк М.Ф.²

¹ Кафедра фармацевтической, токсикологической и аналитической химии
Курского государственного медицинского университета, Курск; ² Республиканский наркологический
диспансер Минздрава Республики Северная Осетия-Алания, Владикавказ
E-mail: R-WLADIMIR@yandex.ru

Рассмотрена возможность доказательства отравления циклопентолатом после его введения в желудок теплокровным животным на основе обнаружения в отравленных организмах как исходного токсичного вещества, так и близких к нему по структуре соединений (продуктов трансформации). Через ряд заданных промежутков времени после внутрижелудочного введения полутонной ЛД₅₀ циклопентолата в организм теплокровных (крысы) проводился поиск в органах и крови отравленных организмов исходного отравляющего агента и возможных продуктов его трансформации. Установлено присутствие циклопентолата во всех исследованных органах и крови отравленных животных. В печени, почках, крови, селезенке, мышцах и сердце обнаружено и идентифицировано близкое по структуре к циклопентолату вещество – 2-(диметиламино)этил-(1,2-дегидроцикло-пентил)(фенил)ацетат. Обоснована возможность доказательства отравления циклопентолатом на основе обнаружения в отравленных организмах исходного отравляющего агента и возможного продукта его трансформации – 2-(диметиламино)этил-(1,2-дегидроцикло-пентил)(фенил)ацетата.

Ключевые слова: циклопентолат, 2-(диметиламино)этил-(1,2-дегидроцикло-пентил)(фенил)ацетат, обнаружение в организме и идентификация, доказательство отравлений.

EVIDENCE OF POISONING WITH CYCLOPENTOLATE INTRODUCED INTO THE STOMACH OF WARM-BLOODED ANIMALS ON THE BASIS OF DETECTING INITIAL POISONING AGENTS AND PRODUCTS OF ITS TRANSFORMATION IN THE ORGANISMS

Shormanov V.K.¹, Pravdyuk M.F.²

¹ Department of Pharmaceutical, Toxicological and Analytical Chemistry of Kursk State Medical University, Kursk;

² National Narcological Dispensary of Ministry of Health of Republic of North Ossetia-Alania, Vladikavkaz

The evidence of poisoning with cyclopentolate after its introduction into the stomach of warm-blooded animals on the basis of detecting the initial toxic substance and its structurally related compounds (transformation products) in poisoned organisms was considered. After the intragastric administration of 1.5 LD₅₀ of cyclopentolate into the body of warm-blooded animals (rats), the initial toxic agent and possible products of its transformation in the organs and blood of poisoned organisms were searched for in a series of predetermined time intervals. The presence of cyclopentolate in all the investigated organs and blood of poisoned animals was established. The substance structurally similar to cyclopentolate – 2-(dimethylamino)ethyl-(1,2-dehydrocyclo-pentyl)(phenyl)acetate – was observed and identified in the liver, kidneys, blood, spleen, heart, and muscles. The possibility to prove the poisoning with cyclopentolate on the base of detecting the initial poisoning agent and the possible product of its transformation – 2-(dimethylamino)ethyl-(1,2-dehydrocyclo-pentyl)(phenyl)acetate – in poisoned organisms was substantiated.

Keywords: cyclopentolate, 2-(dimethylamino)ethyl-(1,2-dehydrocyclo-pentyl)(phenyl)acetate, detection in the organism and identification, the evidence of the poisoning.

Циклопентолат (2-(диметиламино)этил-(1-гидроксициклопентил)-(фенил)ацетат) (синоним: 2-(диметиламино)этиловый эфир альфа-(1-гидроксициклопентил)-бензолуксусной кислоты) – соединение, обладающее м-холинолитическими свойствами и активно использующееся в офтальмологии для диагностических исследований, при лечении воспалительных заболеваний переднего глаза, а также в подготовительный период, предшествующий оперативным вмешательствам по поводу катаракты [1, 6, 10].

По своим физическим характеристикам циклопентолат (M_r = 291,385) – это кремоватые кри-

сталлы или густая жидкость, у которых возможно появление запаха в условиях хранения. Циклопентолат плохо растворим в воде (0,15 г в 100 мл воды), хорошо – в ряде гидрофобных и гидрофильных растворителей (хлороформ, ацетон, этанол). Соль циклопентолата и хлороводородной кислоты – белый кристаллический порошок, плавящийся при 134-136°C и обладающий хорошей растворимостью в воде. Он также растворим в низших спиртах и нерастворим в диэтиловом эфире [1, 8].

Циклопентолат является веществом, оказывающим определенное токсическое действие на теплокровные организмы. LD₅₀ хлороводородной

соли циклопентолата для мышей при введении через рот составляет 960 мг/кг, при введении внутривенно – 63 мг/кг.

Высокие дозы циклопентолата при попадании в организм человека могут обуславливать спастический эффект со стороны дыхательной мускулатуры, а в дальнейшем – коматозное состояние и возможный смертельный исход [7, 9].

В последнее время циклопентолат все в большей степени интересует наркозависимых людей, которые применяют его в немедицинских целях обычно интраназально или перорально [2, 3].

До настоящего времени в химико-токсикологическом аспекте рассматриваемое соединение изучалось недостаточно.

На современном этапе важное значение приобретает разработка и совершенствование способов доказательства отравлений циклопентолатом при проведении судебно-химических исследований.

Цель исследования – изучение возможности доказательства отравления циклопентолатом при его пероральном введении теплокровным животным на основе обнаружения в отравленных организмах как самого исходного токсического агента, так и близких к нему по структуре соединений (возможных продуктов трансформации).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объект исследования – 2-(диметиламино)этил-(1-гидрокси-циклопентил)(фенил)ацетат (циклопентолат) (PCO с содержанием основного вещества не менее 99,0% (определено методом неводного титрования)).

Проведено изучение возможности присутствия в органах и крови теплокровных (на примере крыс-самцов породы Wistar 5-месячного возраста) исходного отравляющего соединения и близких к нему по структуре веществ (вероятных продуктов трансформации) через определенные интервалы времени после внутрижелудочного введения циклопентолата (20, 90 и 360 минут). При этом в каждом случае 25 животным (5 опытных групп по 5 особей в каждой) с массой от 290 до 305 г вводили однократно дозу 2-(диметиламино)этил-(1-гидроксициклопентил)(фенил)ацетата, составляющую 1300 мг/кг массы животного (1,5 LD₅₀), в виде смеси водного раствора и водной суспензии. Спустя определенный промежуток времени животных подвергали декапитации, их трупы вскрывали, одинаковые органы или кровь, взятые от животных внутри каждой из групп, объединяли и исследовали на наличие в них 2-(диметиламино)этил-(1-гидрокси-циклопентил)(фенил)

ацетата (циклопентолата) и сходных по структуре соединений (продуктов трансформации).

Параллельно исследованию подвергали органы и кровь, взятые у животных контрольной группы (5 особей), которым вводили в желудок дистиллированную воду, не содержащую анализируемое вещество [4, 5].

Изолирование. В каждом случае ткань органа, измельченную до размеров частиц 0,2-0,5 см, или кровь настаивали двукратно (по 45 минут) при периодическом перемешивании с порциями ацетона, масса каждой из которых в два раза превышала массу биоматериала. Отдельные ацетоновые извлечения объединяли в выпарительной чашке, растворитель испаряли в токе воздуха при температуре 18-22°C до получения остатка.

Очистка извлечений. Остаток, полученный после испарения растворителя из объединенного ацетонового извлечения на стадии изолирования, растворяли в 5 мл 6% раствора этандиовой кислоты, к полученному раствору прибавляли 10% раствор гидроксида натрия, доводя значение pH до 9, и встряхивали образующийся водно-щелочной раствор с порциями хлороформа по 5 мл каждая. Хлороформные экстракты объединяли, удаляли остатки воды из объединенного хлороформного извлечения, фильтруя его через двух-трехслойный бумажный фильтр, фильтр промывали 2-3 мл хлороформа. Оба фильтрата и промывную жидкость объединяли в выпарительной чашке и упаривали в токе воздуха при температуре 18-22°C до получения сухого остатка.

Обнаружение и идентификация веществ методом хромато-масс-спектрометрии (ГХ МС). Сухой остаток, полученный в результате проведения очистки извлечений, растворяли в 2 мл хлороформа. При необходимости (в случае присутствия больших количеств анализируемого вещества) раствор разбавляли хлороформом. 2 мкл хлороформного раствора вводили в газовый хроматограф «Маэстро» ГХ модели 7820 с квадрупольным масс-селективным детектором «Agilent Technology» 5975. Введение пробы осуществляли без деления потока. Хроматографировали в кварцевой капиллярной колонке HP-5MS (30 м×0,25 мм×0,25 мкм) с неподвижной фазой (5%-фенил) метилполисилоксан. Температура инжектора составляла 260°C, интерфейса детектора – 280°C, начальная температура термостата колонки – 90°C, затем температура колонки изменялась от 90°C до 280°C со скоростью 20°C/мин. Температура квадрупольной была равна 150°C, источника ионов 230°C. Газом-носителем являлся гелий, подаваемый со скоростью 23,10 мл/мин с задержкой на растворитель в 3 минуты. Фрагментация молекул анализируемых веществ осуществлялась в режиме электронного удара (70 эВ). Сигнал регистри-

ровали по полному ионному току. Диапазон сканирования – 40-500 m/z . Цикломед и близкие к нему по структуре соединения обнаруживали на хроматограммах в виде пиков с определенными значениями времени удерживания и идентифицировали их по особенностям масс-спектров, совпадающих с масс-спектрами стандартных веществ электронной библиотеки на 86% и более.

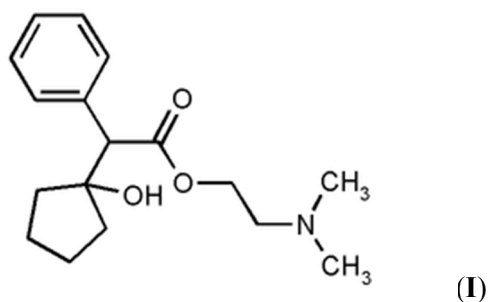
РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты обнаружения и идентификации циклопентолата, а также соединений близкой структуры в органах и крови отравленных животных, погибших через различные промежутки времени после введения отравляющего агента в желудок, приведены в таблице 1. Как свидетельствуют полученные результаты, циклопентолат через 20, 90 и 360 минут после его введения присутствовал во всех исследованных органах и крови отравленных организмов.

Из представленной таблицы также видно, что, помимо исходного отравляющего вещества (**I**), в ряде органов отравленных животных обнаруживалось вещество **II**, близкое по структуре к циклопентолату (возможно продукт его трансформации). Через 20 минут после введения циклопентолата (**I**) вещество **II** было найдено в печени, через 90 минут – в печени, почках, крови, а спустя 360 минут – в печени, почках, крови, селезенке, мышцах и сердце.

Хроматограммы циклопентолата (**I**) и близкого по структуре соединения **II** (возможного продукта его трансформации), извлеченных из печени и из селезенки через 360 мин после введения отравляющего вещества, представлены на рис. 1 и 2.

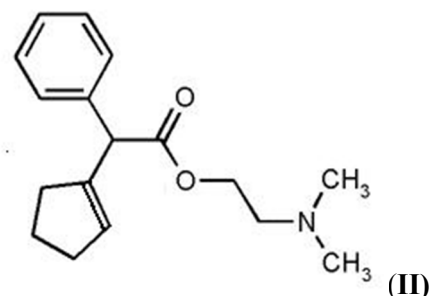
Время удерживания циклопентолата (**I**), извлеченного из биологических объектов, составляло на хроматограммах $7,78 \pm 0,07$ мин.



В его масс-спектре обнаруживались сигналы характерных осколков (положительно заряженных ионов) с m/z 42, 55, 58, 65, 71, 89, 118, 162, 207, 262. Основным (интенсивность

которого принимается за 100%) является осколок с m/z 58.

Время удерживания извлеченного из биологических объектов возможного продукта трансформации циклопентолата – соединения с брутто-формулой $C_{17}H_{23}NO_2$ (предположительно 2-(диметиламино)этил-(1,2-дегидроцикло-пентил) (фенил)ацетат), которому может соответствовать структурная формула (**II**), составляло 8,69 мин.



В его масс-спектре присутствовали сигналы характерных осколков (заряженных частиц) с m/z 42, 58, 67, 71, 77, 91, 115, 129, 155, 207, 229, 273. Основным (интенсивность которого принимается за 100%) является осколок с m/z 58. В масс-спектре присутствовал молекулярный ион (m/z 273).

Результаты проведенных исследований показывают, что в предлагаемых условиях циклопентолат обладает большей хроматографической подвижностью в колонке с (5%-фенил) метилполисилоксаном, чем обнаруживаемое в биоматериале близкое к нему по структуре соединение **II**.

При исследовании извлечений из тканей органов, содержимого желудка и кишечника, а также крови крыс, не получавших циклопентолат, установлено отсутствие на газо-жидкостных хроматограммах пиков исходного токсического агента, а также близкого по структуре соединения **II** – возможного продукта его дегидратации. На хроматограммах очищенных извлечений из органов и крови отравленных циклопентолатом животных не отмечено присутствие выраженных пиков соэкстрактивных веществ биоматериала, перекрывающих пики циклопентолата и близкого к нему по структуре возможного продукта трансформации (**II**), что свидетельствует о достаточной эффективности предлагаемой схемы очистки извлечений из биоматериала.

Таблица 1

Вещества, обнаруженные в организме отравленных животных (крыс) через различные промежутки времени после однократного внутрижелудочного введения циклопентолата в количестве 1300 мг на кг массы животного

Орган или биожидкость животных, взятые на исследование	Время, прошедшее с момента введения циклопентолата до момента гибели животных (начала исследования)	Соединения, обнаруженные в органе или биожидкости животных
Печень	20 мин	Циклопентолат 2-(ДМА)-Э-1,2-ДГЦП-ФА
	90 мин	Циклопентолат 2-(ДМА)-Э-1,2-ДГЦП-ФА
	360 мин	Циклопентолат 2-(ДМА)-Э-1,2-ДГЦП-ФА
Ткань желудка	20 мин	Циклопентолат
	90 мин	Циклопентолат
	360 мин	Циклопентолат
Содержимое желудка	20 мин	Циклопентолат
	90 мин	Циклопентолат
	360 мин	Циклопентолат
Ткань кишечника	20 мин	Циклопентолат
	90 мин	Циклопентолат
	360 мин	Циклопентолат
Содержимое кишечника	20 мин	Циклопентолат
	90 мин	Циклопентолат
	360 мин	Циклопентолат
Почки	20 мин	Циклопентолат
	90 мин	Циклопентолат 2-(ДМА)-Э-1,2-ДГЦП-ФА
	360 мин	Циклопентолат 2-(ДМА)-Э-1,2-ДГЦП-ФА
Кровь	20 мин	Циклопентолат
	90 мин	Циклопентолат 2-(ДМА)-Э-1,2-ДГЦП-ФА
	360 мин	Циклопентолат 2-(ДМА)-Э-1,2-ДГЦП-ФА
Лёгкие	20 мин	Циклопентолат
	90 мин	Циклопентолат
	360 мин	Циклопентолат
Селезенка	20 мин	Циклопентолат
	90 мин	Циклопентолат
	360 мин	Циклопентолат 2-(ДМА)-Э-1,2-ДГЦП-ФА
Мышцы (бедренные)	20 мин	Циклопентолат
	90 мин	Циклопентолат
	360 мин	Циклопентолат 2-(ДМА)-Э-1,2-ДГЦП-ФА
Сердце	20 мин	Циклопентолат
	90 мин	Циклопентолат
	360 мин	Циклопентолат 2-(ДМА)-Э-1,2-ДГЦП-ФА
Мозг	20 мин	Циклопентолат
	90 мин	Циклопентолат
	360 мин	Циклопентолат

Примечание: 2-(ДМА)-Э-1,2-ДГЦП-ФА – 2-(диметиламино)этил-(1,2-дегидроцикло-пентил)(фенил)ацетат (время удерживания 8,69 мин).

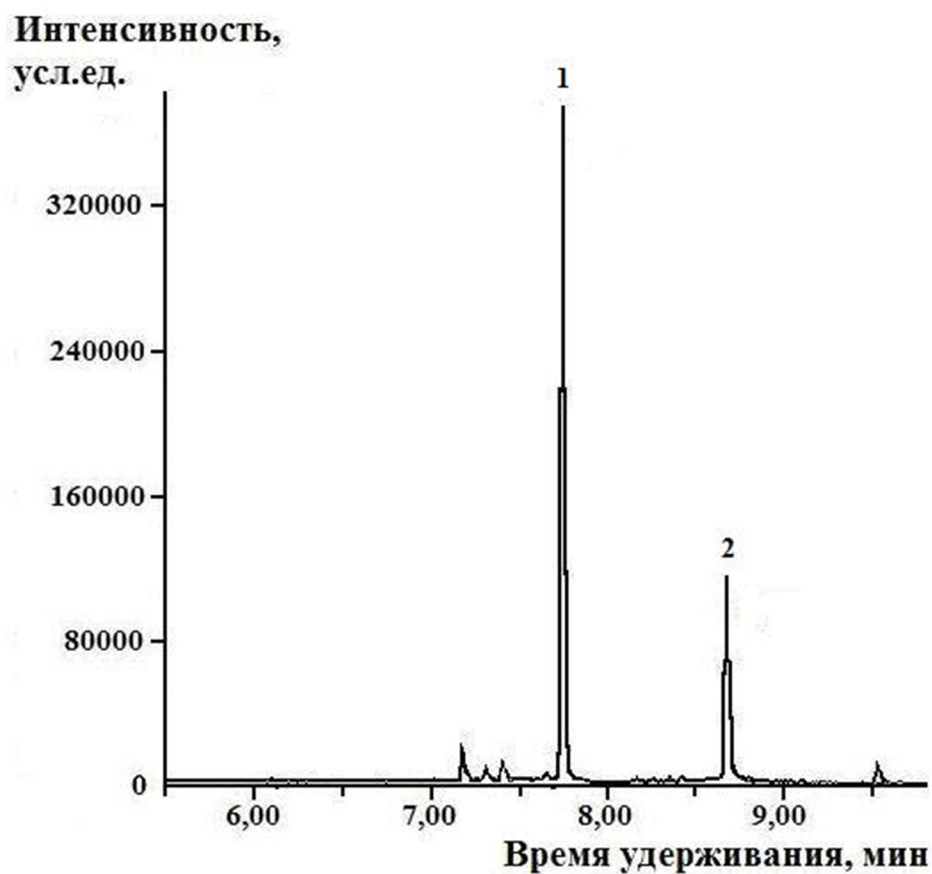


Рис. 1. Хроматограмма очищенного извлечения из ткани печени: 1 – 2-(диметиламино)этил-(1-гидроксициклопентил)-(фенил)ацетат (циклопентолат); 2 – 2-(диметиламино)этил-(1,2-дегидроциклопентил)-(фенил)ацетат.

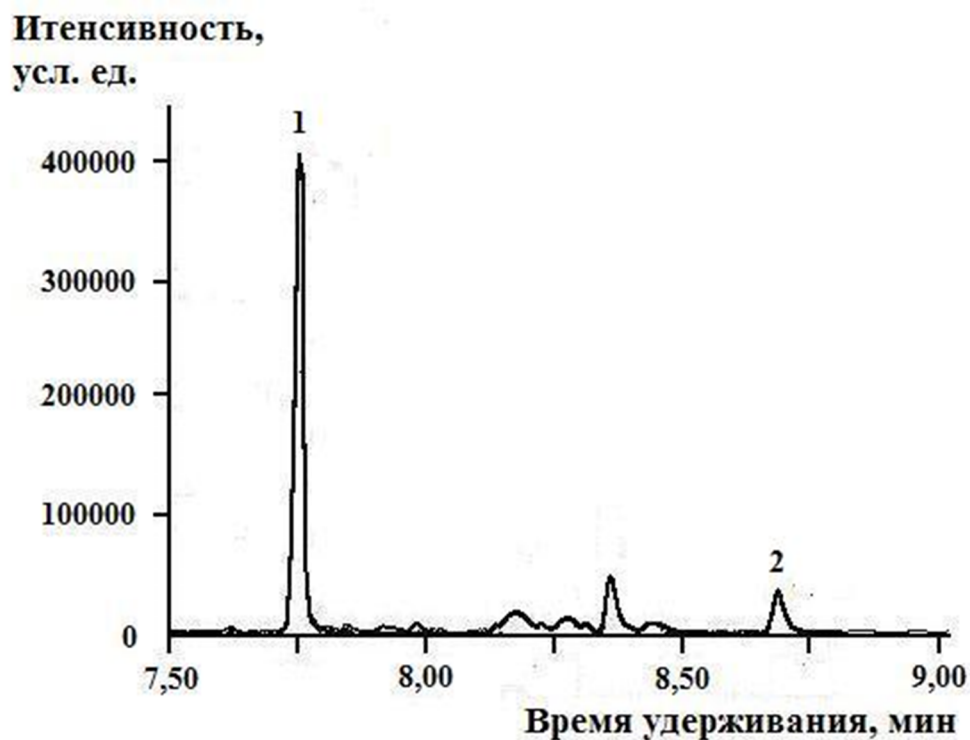


Рис. 2. Хроматограмма очищенного извлечения из селезенки: 1 – 2-(диметиламино)этил-(1-гидроксициклопентил)-(фенил)ацетат (циклопентолат); 2 – 2-(диметиламино)этил-(1,2-дегидроциклопентил)-(фенил)ацетат.

Данные, полученные в результате проведенных исследований, свидетельствуют в пользу того, что доказательство отравлениями циклопентолом после его введения в желудок теплокровных может строиться в соответствии с предлагаемой методикой на основе обнаружения в различных частях организма исходного токсического агента, а также близкого к нему по структуре соединения (2-(диметиламино)этил-(1,2-дегидроцикло-пентил)(фенил)ацетата).

На основании проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

1. Спустя заданные интервалы времени после однократного внутрижелудочного введения 1300 мг/кг циклопентолата теплокровным животным (крысы) осуществлялся поиск и идентификация в их организмах исходного отравляющего вещества и вероятного продукта его трансформации.

2. Установлено, что все исследованные органы и кровь лабораторных животных, взятые на анализ через 20, 90 и 360 мин после введения циклопентолата, содержат исходное отравляющее вещество. В печени, почках, крови, сердце, мышцах и селезенке отравленных организмов так же обнаруживалась близкая к циклопентолату структура, идентифицированная как 2-(диметиламино)этил-(1,2-дегидроцикло-пентил)(фенил)ацетат.

3. Отравления циклопентолом могут быть доказаны на основе обнаружения в отравленных организмах как самого отравляющего агента, так и возможного продукта его трансформации.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Машковский М.Д.* Лекарственные средства. 16-е изд., перераб., испр. и доп. – М. : Новая волна, 2012. – 1216 с.
2. *Мохначев С.О., Рохлина М.Л., Усманова Н.Н.* О злоупотреблении циклопентолом (цикломедом) // Наркология. – 2010. – № 10. – С. 40-44.
3. *Порсева Н.Ю., Солонина А.В., Дворская О.Н., Карпенко Ю.Н., Тумилович Е.Ю.* Применение холинолитиков в немедицинских целях // Фармация. – 2012. – Т. 61, № 2. – С. 51-53.
4. *Шорманов В.К., Правдюк М.Ф.* Доказательство отравления тропикамидом, введенным в желудок теплокровных, на основе обнаружения в органах и крови исходного токсического агента и близких по структуре соединений // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2015. – № 2. – С. 96-101.
5. *Шорманов В.К., Правдюк М.Ф., Чекед М.В., Баранникова В.В.* Распределение тропикамида в организме теплокровных животных при внутрижелудочном введении // Судебно-медицинская экспертиза. – 2016. – Т. 59, № 2. – С. 23-29.
6. British Pharmacopoeia 1993. Vol. 1. – London : HMSO, 1993. – 300 p.
7. *Calisaneller T., Ozdemir O., Sonmez E., Altinors N.* Acute progressive midbrain hemorrhage after topical ocular cyclopentolate administration // Neurology India. – 2008. – Vol. 56, N 1. – P. 88-89.
8. Cyclopentolate [Электронный ресурс] // U.S. National Library of Medicine. – Режим доступа: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/cyclopentolate#section=Top>, свободный (13.01.2016).
9. *Sato E.H., de Freitas D., Foster C.S.* Abuse of cyclopentolate hydrochloride (Cyclogyl) drops // N. Engl. J. Med. – 1992. – Vol. 326, N 20. – P. 1363-1364.
10. *Yaffe S.J., Aranda J.V.* Neonatal and pediatric pharmacology: therapeutic principles in practice. – Philadelphia, Pa.; London : Lippincott Williams & Wilkins, 2010. – 1072 p.