

## Определение компонентов препарата «Триган Д» в моче при химико-токсикологическом анализе

ТУМИЛОВИЧ Е.Ю.  
КАРПЕНКО Ю.Н.  
ДВОРСКАЯ О.Н.

аспирант кафедры токсикологической химии  
к.ф.н., доцент кафедры токсикологической химии  
к.ф.н., старший преподаватель кафедры токсикологической химии

ГОУ ВПО Пермская государственная фармацевтическая академия Росздрави  
614990, г.Пермь, ул. Большевистская, 101. Тел./факс: (8-34)282-58-65. E-mail: kaftox@mail.ru

*Обсуждаются вопросы химико-токсикологического анализа препарата «Триган Д». Определена возможность использования тонкослойной хроматографии как предварительного метода обнаружения компонентов препарата. Описаны оптимальные условия качественного и количественного определения дицикловерина гидрохлорида методом газожидкостной хроматографии (ГЖХ). Приводятся результаты апробации разработанных методик на реальных объектах.*

*Ключевые слова: холиноблокаторы, дицикловерин, парацетамол, тонкослойная хроматография, газожидкостная хроматография, химико-токсикологический анализ*

### Введение

Известно, что для достижения состояния одурманивания могут использоваться различные группы лекарственных средств. Холинолитические препараты (циклодол, тарен и др.) уже достаточно давно употребляются для этой цели наравне с наркотическими средствами и психотропными веществами. Циклодоловая токсикомания описана в иностранной литературе в 60-х годах XX века среди лиц, проходивших лечение в психиатрических больницах. Злоупотребление циклодолом в нашей стране получило распространение во второй половине 70-х годов. В настоящее время злоупотребление центральными холиноблокаторами, обладающими выраженным галлюциногенным действием, встречается в основном среди молодежи. В состоянии опьянения отмечаются иллюзорное восприятие окружающего, зрительные галлюцинации, необычные телесные ощущения [2, 3].

При употреблении высоких доз центральных холинолитиков возможно развитие «холинолитического синдрома»: двигательное и психическое возбуждение, сильное беспокойство, судороги, галлюцинации (в основном устрашающего характера), сухость слизистых оболочек, мидриаз, тахикардия, гипертония, паралич дыхательного центра. По мере нарастания тяжести отравления развиваются сонливость, тревога, страх, делирий, угнетение сознания (вплоть до комы) и судорожные припадки [1, 3, 5].

На различных интернет-сайтах активно обсуждаются вопросы, связанные с техникой употребления центральных холиноблокаторов, эффекты, вызванные

с их приемом, а также способы снижения выраженности нежелательных эффектов.

В последнее время появилась информация о немедицинском применении препарата «Триган Д». Данное средство относится к ненаркотическим анальгетикам и обладает спазмолитическим действием. В своем составе препарат содержит холинолитическое вещество дицикловерина гидрохлорид и парацетамол. Дицикловерина гидрохлорид — селективный m<sub>1</sub>-холиноблокатор, который легко проникает через гематоэнцефалический барьер, связываясь с центральными холинорецепторами. При приеме высоких доз «Тригана» у больного развиваются яркие зрительные и, реже, слуховые галлюцинации, что и обуславливает патологический интерес к данному препарату как к средству опьянения [4, 5, 7].

Одномоментное употребление больших количеств препарата часто приводит к передозировке. При отравлении «Триганом» в основном наблюдаются симптомы, свойственные дицикловерину, поскольку больные стремятся удалить из таблеток парацетамол, пользуясь его низкой растворимостью в воде. Таким образом, проявляются токсические эффекты, связанные с подавлением холинергических влияний и воздействием вещества на центральную нервную систему [4, 5].

Следует отметить, что в доступной нам литературе нет данных о методах определения дицикловерина в биообъектах, хотя лица, злоупотребляющие холинолитиками, нередко становятся пациентами наркодиспансеров и центров лечения острых отравлений. Следовательно, разработка методик обнаружения и количественного определения дицикловерина в биологических жидкостях является актуальной задачей.

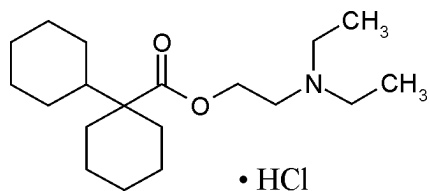


Рис. 1. Структурная формула дицикловерина

Дицикловерин (1-циклогексилциклогексанкарбонной кислоты бета-(диэтиламино) этиловый эфир) — белый кристаллический порошок, практически без запаха, горького вкуса (рис. 1). Растворим в воде, легко растворим в этаноле и хлористом метиле, хлороформе, очень незначительно растворим в эфире. Молекулярная масса — 345,96. Температура плавления 164—166 °С [9].

### Материалы и методы

#### Пластинки для тонкослойной хроматографии «Сорбфил»

Аппаратно-программный комплекс на базе хроматографа «Кристалл 2000М» (колонка капиллярная НР-5 (сополимер 5%-дифенил-95%-диметилсилоксана) 30 м × 0,25 мм). Ввод пробы осуществлялся вручную микрошприцем АГАТ М-10 объемом 10 мкл. Во избежание перегрузки капиллярной колонки производилось деление потока газа-носителя в соотношении 1/10. Газ-носитель — азот, вспомогательные газы — водород, воздух. Для проведения исследования использовали пламенно-ионизационный и термоионный детекторы. Обработка хроматографической информации осуществлялась программным обеспечением «Хроматек Аналитик».

### Результаты и обсуждение

#### Идентификация дицикловерина методом тонкослойной хроматографии

В качестве предварительного метода обнаружения дицикловерина в биопробах нами был выбран метод тонкослойной хроматографии. Это наиболее удобный

метод для очистки и идентификации вещества при химико-токсикологических исследованиях.

Для проведения исследований использовали хлороформные растворы дицикловерина и парацетамола с концентрацией 1 мг/мл.

Хроматографирование проводили в системах, которые традиционно применяются в нашей стране для исследования веществ основного характера:

1) толуол—ацетон—этанол—25% р-р аммиака 45:45:7,5:7,5;

2) этилацетат—метанол—25% р-р аммиака 85:10:5;

3) диоксан—хлороформ—ацетон—25% р-р аммиака 47,5:45:5:2,5;

4) метанол—25% р-р аммиака 100:1,5;

5) этилацетат—хлороформ—25% р-р аммиака 85:10:5;

6) толуол—ацетон—25% р-р аммиака 5:5:1.

Детектирование проводили облучением УФ-светом, раствором железа хлорида и реактивом Драгендорфа. Пробег растворителя во всех случаях составлял 10 см.

На основании проведенных исследований установлено, что системы 1, 2 и 3 оптимальны для разделения компонентов «Тригана». Значения Rf аналитов в выбранных системах представлены в табл. 1.

Был также определен оптимальный способ детекции компонентов препарата — последовательная обработка хроматограмм раствором железа хлорида (для идентификации парацетамола — пятно синего цвета) и реактивом Драгендорфа (для идентификации дицикловерина — пятно оранжево-коричневого цвета). При облучении пластинок УФ-светом (длина волны 254 нм) установлено, что зона поглощения наблюдается только для парацетамола. Дицикловерин в УФ-свете не идентифицируется.

Разработанные условия были применены для исследования проб мочи больных, принимавших «Триган Д» с немедицинскими целями. Выяснили, что компоненты препарата и балластные вещества мочи хорошо разделяются во всех выбранных условиях. В некоторых биопробах парацетамол обнаруживался лишь в следовых количествах, что свидетельствует о попытке больных отделить для использования чистый дицикловерин.

Таблица 1

Значения Rf компонентов препарата Триган Д в оптимальных хроматографических системах

Система, №	Rf дицикловерина	Rf парацетамола
1	0,52	0,82
2	0,87	0,57
3	0,33	0,70

*Качественное и количественное определение дицикловерина гидрохлорида методом ГЖХ*

Стандартные растворы дицикловерина в метаноле с концентрацией 100 мкг/мл исследовали методом газожидкостной хроматографии в выбранных условиях: колонка НР-5 30 м X 0,25 мм; газ-носитель — азот, скорость потока газа через колонку 1,50 мл/мин, время хроматограммы — 10 мин. Температурный режим: температура испарителя 260°C, температура колонки программируемая: 160°C — 2 мин, подъем до 240°C со скоростью 20°C/мин., далее до конца анализа температура без изменений. В зависимости от вида детектора (плазменноионизационный — ПИД или термоионный — ТИД) использовали следующие температурные режимы: ПИД — 250°C, ТИД — 280°C. Установлено, что эффективнее использовать термоионный детектор, поскольку его чувствительность к исследуемому веществу в 3 раза выше, чем у пламенно-ионизационного. Поэтому в дальнейших исследованиях использовался ТИД.

Разработка методики идентификации исследуемого вещества осуществлялась на основе определения абсолютного времени удерживания. Стандартный раствор дицикловерина гидрохлорида с концентрацией 100 мкг/мл хроматографировали в описанных условиях и по данным пяти параллельных опытов находили среднее арифметическое значение абсолютного времени удерживания, которое в данных условиях составило  $7,7 \pm 0,1$  мин.

Для количественного определения дицикловерина гидрохлорида использовался метод абсолютной калибровки. Для построения калибровочного графика готовили стандартные растворы вещества в метаноле в диапазоне концентраций 1—150 мкг/мл. Каждая точка на калибровочном графике была получена как среднее пяти параллельных измерений. Калибровочный график определения исследуемого вещества методом газожид-

костной хроматографии приведен на рис. 2. Линейная зависимость между концентрацией растворов и площадью хроматографического пика наблюдается во всем интервале выбранных концентраций.

*Изолирование дицикловерина из мочи*

Выделение аналита из биологической матрицы является одной из важнейших стадий химико-токсикологического анализа. Однако в доступной нам литературе нет данных о методиках изолирования дицикловерина из биологических объектов. Лишь в работе [8] упоминается использование метода твердофазной экстракции для извлечения дицикловерина из плазмы крови. Для проведения эксперимента была выбрана моча, поскольку, согласно данным литературы [6], экскреция дицикловерина на 79,5% осуществляется мочой.

Для разработки оптимального метода изолирования дицикловерина из мочи предварительно нами были изучены условия его экстракции органическими растворителями из водных растворов. В качестве экстрагентов применяли диэтиловый эфир, хлороформ, метилхлорид и смесь хлороформ—изопропанол (9:1). В качестве объектов использовали водные растворы дицикловерина гидрохлорида с концентрацией 1 мг/мл. Для создания определенного значения рН в растворе использовали универсальные буферные смеси Бриттона—Робинсона. Устанавливали рН растворов с помощью универсального иономера ЭВ-74 в диапазоне от 2 до 13 с шагом 1. Проводили однократную экстракцию в течение 5 мин, жидкость отстаивали 10 мин для разделения фаз и отделяли слой органического растворителя. Сухой остаток, полученный после испарения экстрагента, растворяли в 0,5 мл метанола. Содержание дицикловерина в полученных извлечениях определяли методом ГЖХ. Результаты экстракции приведены в табл. 2.

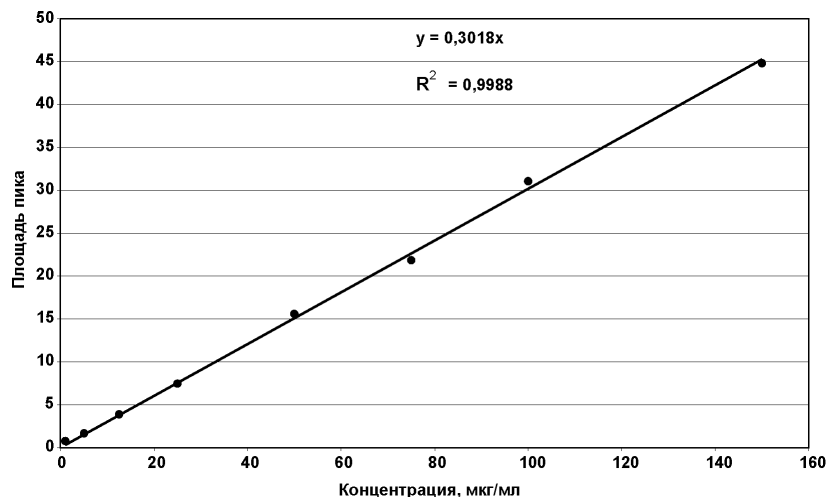


Рис. 2. Калибровочный график количественного определения дицикловерина

Таблица 2

## Результаты экстракции дицикловерина из водных растворов органическими растворителями

рН водного раствора	Степень извлечения дицикловерина, %			
	Диэтиловый эфир	Хлороформ	Метиленхлорид	Хлороформ—изопропанол 9:1
2	1,8	70,0	45,4	51,1
3	20,7	77,9	68,8	66,5
4	58,7	96,9	95,1	84,0
5	83,1	80,7	82,8	77,9
6	76,1	100,0	93,8	70,6
7	93,7	91,2	79,5	67,5
8	77,2	95,6	91,6	80,9
9	85,7	92,7	69,2	57,5
10	75,1	83,0	70,5	49,2
11	59,2	72,2	62,6	31,2
12	87,3	87,3	77,9	50,2
13	81,5	26,6	73,8	42,7

Установлено, что дицикловерин хорошо извлекается из водных растворов любым из выбранных растворителей в широком диапазоне рН среды. Наиболее полное извлечение наблюдалось при использовании хлороформа (степень экстракции от 70 до 100%).

Следующим этапом работы стало изолирование дицикловерина из мочи. Нами были приготовлены модельные смеси исследуемого вещества и биожидкости: к 9 мл мочи добавляли 1 мл стандартного раствора дицикловерина (100 мкг/мл). Экстракцию органическим растворителем при определенном значении рН проводили однократно, используя 5 мл экстрагента. Время экстракции составляло 5 мин. Полученное извлечение упаривали до сухого остатка в токе теплого воздуха, затем растворяли в 0,5 мл метанола и исследовали методом газожидкостной хроматографии.

Поскольку дицикловерин имеет высокую степень экстракции из органических растворителей в широком диапазоне рН среды (ввиду своего химического строения), для исследования модельных смесей использовали значения рН, применяемые в ненаправленном химико-токсикологическом анализе — рН 2 и рН 10. Необходимое значение рН устанавливали с помощью кислоты хлористоводородной, разведенной, и раствора аммиака (10%). Также проводили анализ

пробы без изменения рН биожидкости (рН использованной мочи 5,2).

Параллельно был поставлен холостой опыт. Для этого были получены экстракты пробы мочи, не содержащей исследуемое вещество, при рН 2; 5,2 и 10. Установлено, что при использовании хлороформа в качестве экстрагента соэкстрактивные вещества мочи на хроматограмме имеют времена удерживания, отличные от дицикловерина, и не мешают его определению. Однако после изолирования диэтиловым эфиром в зоне выхода пика исследуемого вещества наблюдаются небольшие пики примесей, которые могут исказить результаты количественного определения. Данные по степени экстракции представлены в табл. 3.

В результате проведенных исследований установлено, что максимальное извлечение дицикловерина из мочи достигается хлороформом при рН 2. Степень экстракции дицикловерина при использовании диэтилового эфира не превышает 30%.

Разработанная методика была успешно апробирована на реальных объектах (5 образцов мочи), поступивших на исследование в ХТЛ Краевого наркодиспансера г.Перми. Пробоподготовка проводилась методом жидкость-жидкостной экстракции хлорофор-

Таблица 3

## Результаты экстракции дицикловерина из мочи (модельные смеси)

	Значение рН мочи		
	2	5,2	10
Хлороформ	87,61%	73,18%	24,33%
Диэтиловый эфир	2,00%	9,97%	29,2%

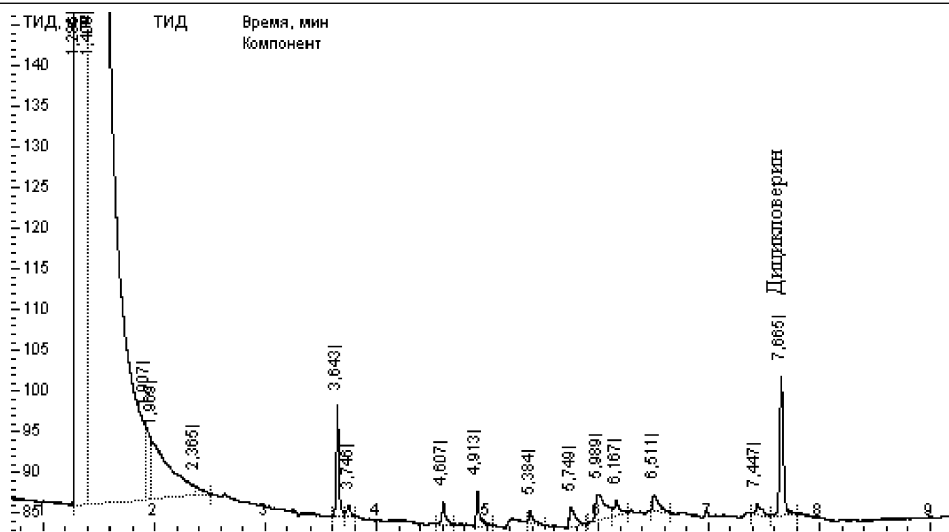


Рис. 3. Хроматограмма экстракта мочи

Таблица 4

Результаты экстракции хлороформом дицикловерина из мочи

	Значение рН мочи	
	2	10
Проба 1	0,85 мкг/мл	0,23 мкг/мл
Проба 2	0,22 мкг/мл	0,11 мкг/мл
Проба 3	0,48 мкг/мл	0,19 мкг/мл
Проба 4	0,52 мкг/мл	0,10 мкг/мл
Проба 5	1,20 мкг/мл	0,37 мкг/мл

мом при рН 2 и 10 из 10 мл биожидкости. После удаления хлороформа сухой остаток растворили в 0,5 мл метанола. Затем экстракт хроматографировали в указанных выше условиях. Пример хроматограммы приведен на рис. 3.

Полученные данные подтвердили, что степень извлечения (табл. 4) дицикловерина из кислой среды выше, чем из щелочной. Предел обнаружения дицикловерина при исследовании методом ГЖХ в предложенных условиях составляет 0,1 мкг/мл.

### Выводы

1. Разработаны условия идентификации компонентов препарата «Триган Д» методом тонкослойной хроматографии на пластинках «Сорбфил».
2. Выбраны оптимальные условия качественного и количественного анализа дицикловерина гидрохлорида методом газожидкостной хроматографии на газовом хроматографе «Кристалл 2000М».
3. Изучены условия экстракции дицикловерина из водных растворов в зависимости от величины рН и природы органического растворителя. Разработаны условия пробоподготовки мочи для исследования на наличие дицикловерина методами ТСХ и ГЖХ.

### Список литературы

1. Дмитриева Т.Б., Игонин А.Л., Клименко Т.В. и др. Психотические состояния, вызываемые злоупотреблением кокаином, другими стимуляторами, галлоциногенами и летучими растворителями // Наркология. — 2003. — №2. — С. 15—20.
2. Личко А.Е., Битенский В.С. Подростковая наркология: Руководство для врачей. — Л.: Медицина, 1991. — 304 с.
3. Надеждин А.В., Гусаров Д.А., Михалев И.В. Неотложные наркологические состояния у несовершеннолетних // Наркология. — 2005. — №1. — С. 52—55.
4. Регистр лекарственных средств России. РЛС. Энциклопедия лекарств. — 15-й вып. / Гл. ред. Г.Л. Вышковский. — М.: РЛС-2007, 2006. — С. 308—309.
5. Фармакология / Под ред. Р.Н. Аляутдина. — 4-е изд-е, перераб. и доп. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. — 832 с.: ил.
6. Danhof I.E. et al. Metabolic dynamics of dicyclanone hydrochloride in man as influenced by various dose schedules and formulations // Toxicology and applied pharmacology. — 1968. — Vol. 13 (1). — P. 16—23.
7. Fomari R.V., Moreira K.M., Oliveira M.G. Effects of the selective M1 muscarinic receptor antagonist dicyclanone on emotional memory // Learn Mem. — 2000. — Vol. 7(5). — P. 287—292.
8. Lining Q.I., Danielson N.D. Quantitative determination of pharmaceuticals using nano-electrospray ionization mass spectrometry after reversed phase mini-solid phase extraction // Journal of pharmaceutical and biomedical analysis. — 2005. — Vol. 37 (2). — P. 225—230.
9. Moffat A.C., Osselton M.D., Widdop B. Clarke's Analysis of Drugs and Poisons [Electronic Edition]. — London: Pharmaceutical Press, 2004.

**DETERMINATION OF THE COMPONENTS OF «TRIGAN D» IN URINE  
FOR TARGETS OF CHEMICAL-TOXICOLOGICAL ANALYSIS**

**TUMILOVICH E.Yu., KARPENKO Yu.N., DVORSKAYA O.N.**

Perm State Pharmaceutical Academy

614990 Perm, Bolshevistskaya st. 101, Tel.: (8-34)282-58-65. E-mail: kaftox@mail.ru

This article deals with the convenient analytical techniques for assay of the components of «Trigan D» in urine. Possibility of using TLC for preliminary determination of Trigan's components was studied. Optimal conditions of qualitative and quantitative analysis of the dicycloverine by gas-liquid chromatography were developed.

**Key words:** anticholinergics, dicycloverine, paracetamol, thin-layer chromatography, gas-liquid chromatography