

Химико-токсикологическая диагностика острых отравлений доксиламином, залеплоном и феназепамом

М.В. Белова^{1, 2, 3} ✉, Д.В. Дроздовская², Е.А. Ключев¹, Е.С. Мельников²

Отделение острых отравлений и соматопсихиатрических расстройств

¹ ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»

Российская Федерация, 129090, Москва, Б. Сухаревская пл., д. 3

² ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет) МЗ РФ

Российская Федерация, 119048, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

³ ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» МЗ РФ

Российская Федерация, 125993, Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1, стр. 1

✉ Контактная информация: Белова Мария Владимировна, доктор биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник отделения острых отравлений и соматопсихиатрических расстройств ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ».

Email: maniel@gmail.com

АКТУАЛЬНОСТЬ

Рынок снотворных и седативных лекарственных препаратов обновляется в связи с высокой токсичностью барбитуратов и ограничениями их использования. В настоящее время для терапии тревожных состояний и инсомнии часто назначают более безопасные лекарства, такие как Z-препараты, доксиламин и некоторые производные бензодиазепина, которые, однако, тоже могут вызывать острые отравления при передозировке или немедицинском применении.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Создание доступной экспрессной методики тонкослойной хроматографии (ТСХ) для предварительного скринингового обнаружения доксиламина, феназепама и залеплона с целью диагностики острых отравлений.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Использовали методы ТСХ и газовой хроматографии с масс-селективным детектированием (ГХ–МС). Пробоподготовку образцов мочи пациентов с симптомами острых отравлений доксиламином, залеплоном, феназепамом и модельных образцов мочи проводили с помощью жидкостно-жидкостной экстракции при pH 9,0 хлороформом для анализа методом ТСХ и смесью этилацетат–диэтиловый эфир (1:1) для ГХ–МС.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Разработана ТСХ-методика обнаружения доксиламина, залеплона и феназепама, которая позволяет на этапе предварительного исследования быстро выявить их наличие в моче больного, а также отличить друг от друга в случае однотипной симптоматики отравления. Для подтверждающего анализа использовался метод ГХ–МС. По сравнению с подтверждающими методами разработанная методика ТСХ-скрининга обладает экспрессностью, не требует использования дорогостоящего высокотехнологического оборудования, при этом позволяет дифференцировать доксиламин, залеплон и феназепам от других токсикологически значимых психоактивных веществ, обнаруживаемых при общем скрининге.

Ключевые слова:

доксиламин, залеплон, феназепам, острые отравления, ТСХ, ГХ–МС

Ссылка для цитирования

Белова М.В., Дроздовская Д.В., Ключев Е.А., Мельников Е.С. Химико-токсикологическая диагностика острых отравлений доксиламином, залеплоном и феназепамом. *Журнал им. Н.В. Склифосовского Неотложная медицинская помощь*. 2023;12(2):217–223. <https://doi.org/10.23934/2223-9022-2023-12-2-217-223>

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Благодарность, финансирование

Исследование не имеет спонсорской поддержки

ГХ–МС — газовая хроматография с масс-селективным детектированием

ТСХ — тонкослойная хроматография

УФ-свет — ультрафиолетовый свет

R_f — коэффициент подвижности

Z-препараты — общее название снотворных препаратов 3-го поколения (залеплон, зопиклон, золпидем)

ВВЕДЕНИЕ

Отравление лекарственными препаратами снотворного и седативного действия является на сегодняшний день достаточно актуальной проблемой. Это связано как с терапией инсомнии, так и с немедицинским применением таких препаратов. Использование многих из них даже с лечебными целями может вызывать привыкание и развитие толерантности [1–3], что обуславливает их постоянное применение, иногда во все возрастающих дозах. Следствием этого становятся передозировки и острые отравления.

После значительного ограничения применения барбитуратов и бензодиазепинов первого поколения для терапии инсомнии стали широко применяться небензодиазепиновые гипнотики — так называемые Z-препараты, например залеплон, антигистаминный препарат с седативным действием — доксиламин, относительно новые представители класса бензодиазепинов, в частности, феназепам [2–6]. Однако встречаются острые отравления данными препаратами при использовании их с суицидальной [7–9] и иными немедицинскими целями. Отмечены случаи злоупотребления ими в повышенных дозах среди лиц, страдающих наркозависимостью, что приводит к острым отравлениям [7]. Следует также отметить, что наиболее известными осложнениями при приеме бензодиазепиновых транквилизаторов являются развитие лекарственной зависимости, синдром отмены, дневная сонливость и спутанность сознания у некоторых групп пациентов даже при терапевтическом дозировании. Например, у лиц пожилого и старческого возраста возможен высокий риск падений вследствие терапии [10–12]. Залеплон вызывает быстрое, но кратковременное снотворное действие, и у большинства пациентов не приводит к дневной сонливости и снижению работоспособности [13]. Тем не менее, в литературе упоминаются случаи как смертельных, так и несмертельных отравлений залеплоном и другими Z-препаратами, несмотря на их низкий, по сравнению с бензодиазепинами, летальный токсический индекс [7, 14, 15].

Следует отметить, что при химико-токсикологическом анализе возникают трудности при идентификации указанных препаратов, особенно при их совместном присутствии.

Ранее были предложены подходы для раздельного обнаружения доксиламина, залеплона и феназепама при скрининговом исследовании методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) [7, 16–21]. Однако предлагаемые подвижные фазы и способы детектирования неселективны для обнаружения представленных веществ. Иммунохимические методы для доксиламина и Z-препаратов не разработаны и не применяются. Существующие тест-системы на производные 1,4-бензодиазепина обладают групповой специфичностью и не всегда обнаруживают феназепам [22–25].

Таким образом, актуальна разработка доступных информативных скрининговых методов для обнаружения этих препаратов в биологических средах при острых отравлениях.

Цель исследования: разработать методику ТСХ для предварительного скринингового обнаружения доксиламина, феназепама и залеплона с целью диагностики острых отравлений ими.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследовании использовали: субстанцию-порошок феназепама (Усолъе-Сибирский ХФЗ, степень чистоты 99,0%), таблетки шипучие «Донормил» по 15 мг («Бристол-Майерс Сквибб Компани», Франция, годен до 11.2022) и капсулы «Анданте» по 10 мг (ОАО «Геден Рихтер», Венгрия, годен до 05.2022).

Исходный стандартный раствор феназепама с концентрацией 0,5 мг/мл готовили, растворяя точную навеску 5 мг субстанции в 10 мл этанола.

Исходный раствор доксиламина с концентрацией около 1,5 мг/мл готовили путем растворения шипучей таблетки препарата «Донормил» в количестве 15 мг в дистиллированной воде с извлечением вещества двукратной экстракцией хлороформом при значении pH, равном 9 (регулятор pH — 10% раствор аммиака) [18], полученный хлороформный слой отделяли центрифугированием, объединенные хлороформные экстракты упаривали в токе азота досуха, а сухой остаток перерастворяли в 10 мл этанола. Для определения предела обнаружения получали растворы доксиламина с концентрациями 0,5 мг/мл и 1,0 мг/мл путем соответствующего разведения исходного раствора этанолом.

Исходный раствор залеплона с концентрацией 0,5 мг/мл готовили из содержимого капсулы «Анданте» в количестве 10 мг, залеплон извлекали из порошка двукратной экстракцией хлороформом при значении pH, равном 10 [21], хлороформный слой отделяли центрифугированием, объединенные экстракты упаривали в токе азота досуха, а сухой остаток перерастворяли в 20 мл этанола.

Исходный смешанный раствор готовили путем смешивания по 2 мл каждого из растворов с концентрациями доксиламина 1,5 мг/мл, залеплона 0,5 мг/мл и феназепама 0,5 мг/мл. Результирующая концентрация веществ представлена в табл. 1.

Для приготовления модельного образца мочи к 1 мл исходного смешанного раствора добавляли 9 мл интактной биологической жидкости. Результирующие концентрации веществ указаны в табл. 1.

В качестве неподвижной фазы в ТСХ-исследовании использовали пластины *TLC SilicaGel 60 F₂₅₄* на гибкой алюминиевой подложке (*Merck*). Сравнивали следующие подвижные фазы: этилацетат-этанол-25% раствор аммиака (10:30:1), толуол-ацетон-метанол-25% раствор аммиака (45:45:7,5:2,5), этилацетат-метанол-25% раствор аммиака (17:2:1), метанол-диэтиламин (9,5:0,5) и хлороформ-метанол-диэтиламин (9,5:0,5:0,25). Для детектирования применяли ультрафиолетовый свет (УФ-свет) с длиной волны 254 нм,

Таблица 1

Концентрация доксиламина, залеплона и феназепама в стандартных образцах

Table 1

The concentration of Doxylamine, Zaleplon and Phenazepam in standard samples

Название препарата	Концентрация, мг/мл		
	Исходные растворы	Исходный смешанный раствор	Модельный образец мочи
Доксиламин	0,5; 1,0; 1,5	0,5	0,05
Залеплон	0,5	0,17	0,017
Феназепам	0,5	0,17	0,017

реактив Драгендорфа и реакцию образования азокрасителя. Для получения азокрасителя хроматографические зоны обрабатывали раствором серной кислоты в этаноле (1:1) и подвергали гидролизу при температуре 130°C в течение 20 минут, далее на пластинку наносили последовательно 0,1% раствор натрия нитрита и 0,1% раствор (*N*-1-нафтил)-этилендиамин дигидрохлорида и наблюдали окрашивание хроматографических зон. Для установления параметров *R_f* хроматографирование образцов в выбранной системе проводили в трех повторностях.

В качестве подтверждающих методов при анализе проб мочи пациентов с острым отравлением использовали ГХ–МС.

Условия анализа методом ГХ–МС: газовый хроматограф *ThermoTraceGC Ultra* с масс-спектрометрическим детектором *DSQII*. Колонка *TR-5MS*, длина 30 м, внутренний диаметр 0,25 мм, толщина пленки неподвижной жидкой фазы — 0,25 мкм. Газ-носитель — гелий. Температурная программа колонки: 50°C — 3 минуты, нагрев 100°C/мин до 100°C, 100°C — 1 минута, нагрев 15°C/мин до 280°C, 280°C — 20 минут. Температура инжектора — 220°C. Детектирование по полному ионному току в диапазоне *m/z* 45–650, ионизация электронным ударом с энергией 70 eV. Длительность анализа — 18 минут.

Пробоподготовка при анализе методом ТСХ. 5 мл исследуемой пробы мочи или модельного образца подщелачивали 10% раствором аммиака до pH, равного 9, добавляли 5 мл хлороформа и экстрагировали в течение 3 минут, слои разделяли центрифугированием в течение 5 минут при 3500 об/мин. После центрифугирования слой органической фазы упаривали досуха в токе азота. Сухой остаток перерастворяли в 0,5 мл этанола. На линию старта пластинки наносили 50 мкл пробы и по 30 мкл каждого из исходных растворов индивидуальных веществ.

Пробоподготовка для анализа методом ГХ–МС. К 3 мл мочи добавляли 1 г хлорида натрия, 50 мкл 25% раствора аммиака, 50 мкл раствора дифениламина (внутренний стандарт в концентрации 100 мкг/мл) и 2,5 мл смеси этилацетат-диэтиловый эфир (1:1). Экстрагировали в течение 10 минут при перемешивании в шейкере, затем разделяли слои центрифугированием в течение 10 минут при 3500 об/мин. Органический слой переносили в стеклянные флаконы, упаривали досуха под вакуумом и растворяли остаток в 100 мкл этилацетата. В хроматограф вводили 2 мкл полученного раствора.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ТСХ-ОБНАРУЖЕНИЯ ДОКСИЛАМИНА, ЗАЛЕПЛОна И ФЕНАЗЕПАМА

Выбор подвижной фазы проводили с учетом влияния состава и полярности на подвижность веществ и разрешающую способность хроматографической системы. Результаты значений коэффициентов подвижности доксиламина, залеplона и феназепама в сравниваемых системах, установленные в ходе эксперимента, представлены в табл. 2.

Исходя из данных табл. 2, среди исследованных систем нами была выбрана система толуол-ацетон-метанол-25% раствор аммиака (45:45:7,5:2,5), поскольку она обеспечивает полное разделение всех трех изучаемых веществ, так как хроматографические зоны имеют четкие контуры. Длительность хроматографирования составила 15 минут, что удовлетворяет требованию экспрессности. Эта система рекомендована для ТСХ-исследования и некоторых других токсикологически значимых веществ основного характера [26], что позволяет обнаруживать указанные вещества, не нарушая общего хода исследования. В остальных системах коэффициенты подвижности всех веществ или пары залеplон и феназепам имели близкие значения и не позволяли четко разделять их при одновременном присутствии.

Применяемые способы детектирования хроматографических зон исследуемых веществ и минимально обнаруживаемые концентрации представлены в табл. 3.

По результатам, представленным в табл. 3, можно прийти к выводу, что залеplон обладает собственной флюоресценцией, а доксиламин гасит флюоресценцию, таким образом, они могут быть обнаружены. После проведения гидролиза доксиламин и феназепам образуют продукты, которые можно обнаружить по характерной флюоресценции в УФ-свете. Последующая обработка хроматографических зон залеplона и феназепама 0,1% раствором натрия нитрита и 0,1% раствором (*N*-1-нафтил)-этилендиамин дигидрохлорида приводила к образованию окрашенных продуктов. Для феназепама — это известный продукт азосочетания [16, 26], а для залеplона структура продукта не определена, что требует его дальнейшего изучения. Реактив Драгендорфа являлся универсальным детектором для всех трех веществ так как при его использовании без предварительного гидролиза коэффициенты подвижности (*R_f*) имели устойчивые значения при анализе

Таблица 2

Значения коэффициента подвижности (*R_f*) доксиламина, залеplона и феназепама в сравниваемых подвижных фазах для тонкослойной хроматографии

Table 2

***R_f* values of Doxylamine, Zaleplon and Phenazepam in compared mobile phases for thin layer chromatography**

Название вещества	Значение <i>R_f</i> в системе растворителей				
	Этилацетат–этанол– 25% раствор аммиака (10:30:1)	Толуол–ацетон– метанол–25% раствор аммиака (45:45:7,5:2,5)	Этилацетат–метанол– 25% раствор аммиака (17:2:1)	Метанол–диэтиламин (9,5:0,5)	Хлороформ–метанол– диэтиламин (9,5:0,5:0,25)
Доксиламин	0,29±0,02	0,46±0,02	0,47±0,03	1,0	0,96±0,04
Залеplон	0,85±0,04	0,52±0,02	0,78±0,05	0,88	0,88±0,04
Феназепам	0,87±0,04	0,63±0,03	0,88±0,04	0,91	0,85±0,05
Длительность хроматогра- фирования, мин	27	15	20	25	26

как растворов индивидуальных веществ, так и их в смешанном растворе.

При хроматографировании образца, содержащего все три исследуемых соединения, значения R_f практически не менялись по сравнению с таковыми при хроматографировании исходных растворов индивидуальных веществ, укладываясь в рассчитанные и приведенные в табл. 2 отклонения.

Для оценки применимости методики для обнаружения веществ после выделения из биологической жидкости (мочи) экстракции подвергали модельные образцы мочи, содержащие смесь доксиламина, залеплона и феназепама в указанных концентрациях (см. табл. 1). Эксперимент проводили в трех повторностях. Извлечение и проявление образцов проводили по описанной выше методике. Отклонение R_f не превышало 10% от установленных на растворах индивидуальных веществ величин.

Разработанная нами методика была использована при исследовании проб мочи пациентов с подозрением на отравление доксиламином, феназепамом или залеплоном. Во всех экспериментах пятна, соответствующие изучаемым веществам, на хроматограммах экстрактов из мочи пациентов с острыми отравлениями имели окраску и значения R_f , подобные установленным в модельном эксперименте. Результаты приведены в табл. 4.

Полученные результаты были подтверждены при ГХ–МС-исследовании биологических проб.

Как видно из табл. 4, среди проанализированных проб в двух было подтверждено наличие доксиламина и феназепама, обнаруженных с помощью разработанной нами методики ТСХ. При этом их обнаружение не осложнялось наличием в пробе других токсикантов. В одной из исследованных проб предложенная методика

ТСХ дала отрицательные результаты на доксиламин, в то время как он был обнаружен при подтверждающем исследовании. Причиной ложно-отрицательного результата, скорее всего, послужила низкая концентрация препарата в пробе. Поскольку в биосредах данного пациента был также обнаружен этанол — 1,85 г/л в крови и 2,48 г/л в моче, — тяжесть состояния пациента, вероятно, была обусловлена сочетанным синергичным воздействием терапевтической дозы доксиламина и этанола.

По сравнению с подтверждающими методами разработанная методика ТСХ обладает простотой проведения, экспрессностью и не требует использования дорогостоящего высокотехнологичного оборудования, при этом она позволяет уверенно обнаружить в одной смеси доксиламин, залеплон и феназепам, что может наблюдаться при острых отравлениях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предложенная методика обнаружения доксиламина, залеплона и феназепама методом тонкослойной хроматографии, включающая хроматографирование в системе толуол-ацетон-метанол-25% раствор аммиака (45:45:7,5:2,5), использование в качестве детектора ультрафиолетового света с длиной волны 254 нм с последующей обработкой пластины реактивом Драгендорфа, а также образование окрашенных продуктов по реакции азосочетания после гидролиза залеплона и феназепама на пластинке, может быть использована для скринингового исследования при острых отравлениях доксиламином, феназепамом и залеплоном благодаря экспрессности, информативности, достаточной чувствительности, относительной простоте и доступности.

Таблица 3

Оценка различных способов детектирования феназепама, залеплона и доксиламина

Table 3

Evaluation of different detection methods for Phenazepam, Zaleplon and Doxylamine

Название вещества, предел обнаружения	Детекторы				
	УФ, 254 нм	Смесь концентрированной серной кислоты и этанола (1:1)	УФ, 254 нм после гидролиза	Реакция образования азокрасителя	Реактив Драгендорфа
Доксиламин 10 мкг	Гашение флюоресценции	—	Ярко-оранжевая флюоресценция	—	Оранжевое окрашивание
Залеплон 10 мкг	Ярко-голубая флюоресценция	Светло-зеленое окрашивание	Зеленая флюоресценция	Розовое окрашивание	Оранжевое окрашивание
Феназепам 10 мкг	—	Желтое окрашивание	Зелено-голубая флюоресценция	Фиолетовое окрашивание	Оранжевое окрашивание

Примечание: УФ — ультрафиолетовый свет
Note: УФ — ultraviolet light

Таблица 4

Результаты исследования биологических проб пациентов с подозрением на отравления доксиламином и феназепамом

Table 4

The results of analyzing biological samples of patients with suspected Doxylamine and Phenazepam poisoning

№ пробы	Обнаружение других веществ				
	ТСХ	ГХ–МС	Этанол в крови, г/л	Этанол в моче, г/л	Другие вещества
1	Доксиламин, феназепам	Доксиламин, феназепам	н/о	н/о	Биспролол, верапамил
2	Доксиламин, феназепам	Доксиламин, феназепам	2,37	4,65	
3	н/о	Доксиламин	1,85	2,48	Низкая концентрация в пробе

Примечания: ГХ–МС — газовая хроматография с масс-селективным детектированием; н/о — не определено; ТСХ — тонкослойная хроматография
Notes: ГХ–МС — gas chromatography with mass selective detection; н/о — not detected; ТСХ — thin layer chromatography

14. Gunja N. The clinical and forensic toxicology of Z-drugs. *J Med Toxicol.* 2013;9(2):155–162. PMID:23404347 <https://doi.org/10.1007/s13181-013-0292-0>
15. Buckley NA, McManus PR. Changes in fatalities due to overdose of anxiolytic and sedative drugs in the UK (1983–1999). *Drug Safety.* 2004;27(2):135–141. PMID: 14717623 <https://doi.org/10.2165/00002018-200427020-00004>
16. Belova MV, Klyuyev EA, Melnikov ES, Yeliseyeva DM. Chemical and Toxicological Diagnosis of Acute Poisonings with Phenazepam. *Russian Sklifosovsky Journal Emergency Medical Care.* 2018;7(4):319–324. <https://doi.org/10.23934/2223-9022-2018-7-4-319-324>
17. Pospelova AA, Karpova LN, Malkova TL. The Estimation of a Possible Use of Reversed-Phase Thin-Layer Chromatography in Chemo-Toxicological Studies of Certain Groups of Pharmaceutical and Chemical Compounds. *Toxicological Review.* 2012;2(113):20–23. (In Russ.)
18. Kireeva AV, Vozheva AB, Bakhtina SM, Volchenko SV, Kuklin VN. Chemicotoxicological evaluation of doxilamine. *Forensic Medical Expertise.* 2007;(3):22–25 (In Russ.)
19. Kartashov VA, Chepurnaya GP, Chernova LV. Definition of Zaleplon, Zolpidem and Zopiclon in Biological Objects. *Drug Development & Registration.* 2018;(1):206–214. (In Russ.)
20. Chepurnaya GP, Kartashov VA, Chernova LV. Izolirovanie i opredelenie Z-preparatov v trupnoy tkani zheludka i kishechnika. In: *Innovatsionnye tekhnologii v farmatsii: sbornik nauchnykh trudov.* Is. 3. Irkutsk: IGMU Publ.; 2016: 174–180. Available at: <https://ismu.baikal.ru/src/downloads/%D1%E1%EE%F0%ED%E8%EA%20%C8%ED%ED%EE%E2%E0%F6.%20%F2%E5%F5%ED%EE%EB%EE%E3%E8%E8%20%E2%20%F4%E0%F0%EC%E0%F6%E8%E8.pdf> [Accessed Apr 22, 2022] (In Russ.)
21. Kratzsch C, Tenberken O, Peters FT, Weber AA, Kraemer T, Maurer HH. Screening, library-assisted identification and validated quantification of 23 benzodiazepines, flumazenil, zaleplon, zolpidem and zopiclone in plasma by liquid chromatography/mass-spectrometry with atmospheric pressure chemical ionization. *J Mass Spectr.* 2004;39(8):856–872. PMID:15329838 <https://doi.org/10.1002/jms.599>
22. Kerrigan S, Mellon MB, Hinners P. Detection of Phenazepam in Impaired Driving. *J Analyt Toxicol.* 2013;37(8):605–610. PMID:24022117 <https://doi.org/10.1093/jat/bkt075>
23. Rossi B, Freni F, Vignali C, Stramesi C, Collo G, Carelli C. Comparison of Two Immunoassay Screening Methods and a LC-MS/MS in Detecting Traditional and Designer Benzodiazepines in Urine. *Molecules.* 2021;27(1):112. PMID: 35011344 <https://doi.org/10.3390/molecules27010112>
24. Saitman A, Park HD, Fitzgerald RL. False-positive interferences of common urine drug screen immunoassays: A Review. *J Analyt Toxicol.* 2014;38(7):387–396. PMID: 24986836. <https://doi.org/10.1093/jat/bku075>
25. Bertol E, Vaiano F, Borsotti M, Quercioli M, Mari F. Comparison of immunoassay screening tests and LC-MS-MS for urine detection of benzodiazepines and their metabolites: results of a national proficiency test. *J Analyt Toxicol.* 2013;37(9):659–664. PMID: 23943436. <https://doi.org/10.1093/jat/bkt063>
26. Belova MV, Lisovik ZhA, Klyuyev AE, Koldaev AA. *Khimiko-toksikologicheskaya diagnostika ostrykh khimicheskikh otravleniy.* Moscow: Grafikon Print Publ.; 2007. (In Russ.)

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Белова Мария Владимировна

доктор биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник отделения острых отравлений и соматопсихиатрических расстройств ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», доцент кафедры клинической токсикологии ФГБОУ ДПО РМАНПО МЗ РФ, профессор кафедры фармацевтической и токсикологической химии им. А.П. Арзамасцева ФГАОУ ВО «ПМГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет) МЗ РФ;

<https://orcid.org/0000-0002-0861-5945>, manibel@gmail.com;

30%: научное руководство, идея и дизайн исследования, обсуждение результатов, написание статьи, утверждение окончательного варианта текста

Дроздовская Дарья Владимировна

студентка ФГАОУ ВО «ПМГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет) МЗ РФ;

<https://orcid.org/0009-0000-0333-3546>, kvortehvost1988@bk.ru;

30%: разработка методики и проведение анализа методом тонкослойной хроматографии, составление первичного текста статьи

Клюев Евгений Александрович

врач клинической лабораторной диагностики химико-токсикологической лаборатории ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»;

<https://orcid.org/0000-0002-9684-8764>, 89035601642@mail.ru;

20%: проведение анализа методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии

Мельников Евгений Сергеевич

кандидат фармацевтических наук, ассистент кафедры фармацевтической и токсикологической химии им. А.П. Арзамасцева ФГАОУ ВО «ПМГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет) МЗ РФ;

<https://orcid.org/0000-0002-8993-4808>, evgeniy.melnikov@gmail.com;

20%: обсуждение результатов, корректирование текста статьи

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Chemical and Toxicological Diagnosis of Acute Poisoning With Doxylamine, Zaleplon, and Phenazepam

M.V. Belova^{1, 2, 3} ✉, D.V. Drozdovskaya², E.A. Kluev¹, E.S. Melnikov²

Department of Acute Poisoning and Somatopsychiatric Disorders

¹ N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine

3, Bolshaya Sukharevskaya Sq., Moscow, 129090, Russian Federation

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University)

2, bldg. 4, Bolshaya Pirogovskaya Str., Moscow, 119991, Russian Federation

³ Russian Medical Academy of Continuous Professional Education

2/1, bldg. 1, Barrikadnaya Str., Moscow, 125993, Russian Federation

✉ **Contacts:** Maria V. Belova, Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Leading Researcher, Department of Acute Poisoning and Somatopsychiatric Disorders, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine.

Email: maniel@gmail.com

BACKGROUND The market of hypnotic and sedative drugs is being updated due to the high toxicity of barbiturates and the limitations of their use. Currently, safer drugs such as Z-drugs, Doxylamine, and some benzodiazepine derivatives are often prescribed for the treatment of anxiety and insomnia, but they can cause acute poisoning if overdosed or in case of nonmedical use.

AIM To establish an affordable express thin-layer chromatography (TLC) technique for preliminary screening detection of Doxylamine, Phenazepam and Zaleplon in order to diagnose acute poisoning.

MATERIAL AND METHODS Thin-layer chromatography (TLC) and gas chromatography with mass selective detection (GC-MS) methods were used. Urine samples from patients with symptoms of acute Doxylamine, Zaleplon, Phenazepam poisoning, and model urine samples were prepared by liquid-liquid extraction at pH 9.0 with chloroform for TLC analysis, with ethyl acetate-diethyl ether mixture (1:1) for GC-MS.

RESULTS We developed the TLC method of Doxylamine, Zaleplon and Phenazepam detection which helps reveal their presence in the patient's urine, as well as distinguish one from another in case of similar toxic symptoms. The GC-MS method was used for confirmatory analysis. Compared to confirmatory methods, the developed technique of TLC screening is expressive, does not require expensive high-tech equipment, while allowing to differentiate Doxylamine, Zaleplon and Phenazepam from each other and from other toxicologically significant psychoactive substances detected in general screening.

Keywords: doxylamine, zaleplon, phenazepam, acute poisoning, TLC, GC-MS

For citation Belova MV, Drozdovskaya DV, Kluev EA, Melnikov ES. Chemical and Toxicological Diagnosis of Acute Poisoning With Doxylamine, Zaleplon, and Phenazepam. *Russian Sklifosovsky Journal of Emergency Medical Care*. 2023;12(2):217–223. <https://doi.org/10.23934/2223-9022-2023-12-2-217-223> (in Russ.)

Conflict of interest Authors declare lack of the conflicts of interests

Acknowledgments, sponsorship The study has no sponsorship.

Affiliations

Maria V. Belova	Doctor of Biological Sciences, Leading Researcher, Department of Acute Poisoning and Somatopsychiatric Disorders, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine; Professor, A.P. Arzamastsev Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University; Associate Professor, Department of Clinical Toxicology, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education; https://orcid.org/0000-0002-0861-5945 , maniel@gmail.com; 30%, scientific guidance, idea and design of the study, discussion of the results, text writing, approval of the final version of the article
Daria V. Drozdovskaya	Student, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University; https://orcid.org/0009-0000-0333-3546 , kvortehvost1988@bk.ru; 30%, development of methodology and analysis by thin layer chromatography, drafting the primary text of the article
Evgeny A. Kluev	Medical Laboratory Scientist, Chemical and Toxicological Laboratory, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine; https://orcid.org/0000-0002-9684-8764 , 89035601642@mail.ru; 20%, analysis by gas chromatography-mass spectrometry
Evgeny S. Melnikov	Candidate of Pharmaceutical Sciences, Assistant, A.P. Arzamastsev Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University; https://orcid.org/0000-0002-8993-4808 , evgeniy.melnikov@gmail.com; 20%, discussion of the results, text editing

Received on 01.06.2022

Review completed on 20.03.2023

Accepted on 28.03.2023

Поступила в редакцию 01.06.2022

Рецензирование завершено 20.03.2023

Принята к печати 28.03.2023