Химико-токсикологическая диагностика острых отравлений клозапином, оланзапином, кветиапином и рисперидоном

М.В. Белова^{1, 2*}, Е.А. Ключев¹, Е.С. Мельников², М.Н. Порядина²,

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 Минздрава России

(Сеченовский Университет)

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

* Контактная информация: Белова Мария Владимировна, доктор биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник отделения острых отравлений и соматопсихиатрических расстройств. Email: maniabel@gmail.com

АКТУАЛЬНОСТЬ

Большое число представленных на рынке атипичных антипсихотических лекарственных препаратов, широта их медицинского и немедицинского применения и их относительная доступность делают атипичные антипсихотики частыми причинами возникновения случаев передозировок, суицидальных действий либо немедицинского использования лекарственных средств. В то же время они остаются недостаточно изученными в химико-токсикологическом отношении.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Создание доступной экспрессной методики обнаружения клозапина, оланзапина, кветиапина и рисперидона в моче пациентов с острыми отравлениями.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Использовали методы тонкослойной хроматографии (ТСХ), газовой хроматографии с масс-селективным детектированием (ГХ-МС) и высокоэффективной жидкостной хроматографии с tandem-масс-селективным детектированием (ВЭЖХ-МС/МС). Пробоподготовку образцов интактной мочи с добавлением стандартных растворов клозапина, оланзапина, кветиапина, рисперидона и образцов мочи пациентов с симптомами острых отравлений указанными лекарственными средствами проводили методами жидкость-жидкостной экстракции при щелочных значениях pH хлороформом для ТСХ, смесью этилацетат-диэтиловый эфир (1:1) для ГХ-МС и ацетонитрилом — для ВЭЖХ-МС/МС.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Разработана ТСХ-методика обнаружения клозапина, оланзапина, кветиапина и рисперидона, 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 целесообразно использовать методы ВЭЖХ-МС/МС и ГХ-МС. По сравнению с подтверждающими методами разработанная методика ТСХ-скрининга обладает экспрессностью, не требует использования дорогостоящего высокотехнологического оборудования и позволяет дифференцировать клозапин, оланзапин, кветиапин и рисперидон от других токсикологически значимых психоактивных веществ, обнаруживаемых при общем скрининге.

Ключевые слова:

клозапин, оланзапин, кветиапин, рисперидон, атипичные антипсихотики, острые отравления, тонкослойная хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография в сочетании с tandem-масс-селективным детектированием, газовая хроматография с масс-селективным детектированием

Для цитирования

Белова М.В., Ключев Е.А., Мельников Е.С., Порядина М.Н. Химико-токсикологическая диагностика острых отравлений клозапином, оланзапином, кветиапином и рисперидоном. *Журнал им. Н.В. Склифосовского Неотложная медицинская помощь*. 2020;9(2):188–194. <https://doi.org/10.23934/2223-9022-2020-9-2-188-194>

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Благодарность, финансирование

Исследование не имеет спонсорской поддержки

ВЭЖХ-МС/МС — высокоэффективная жидкостная хроматография в сочетании с tandem-масс-селективным детектированием
ГХ-МС — газовая хроматография с масс-селективным детектированием

ИХА — иммунохроматографические методы
ИФА — иммуноферментные методы
ТСХ — тонкослойная хроматография
УФ-спектроскопия — ультрафиолетовая спектроскопия
 R_f — коэффициент подвижности

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы отмечается рост числа случаев отравлений антипсихотическими лекарственными препаратами, как при терапии психических заболеваний, так и из-за их немедицинского применения вследствие большого количества относительно доступных дешевых воспроизведенных препаратов на фармацевтическом рынке [1–5].

Отравления антипсихотиками у больных с расстройствами психики и поведения часто носят преднамеренный характер [2], хотя встречаются и случайные — вследствие ошибочного приема или нарушения дозирования. Несмотря на относительно низкую токсичность этих препаратов, были зафиксированы острые отравления даже при приеме терапевтических доз [3, 4]. Нередко отравления происходят на фоне алкогольного или наркотического опьянения, когда антипсихотики принимаются с целями самолечения (устранение психозов, абстинентного синдрома) или потенцирования одурманивающего эффекта [5–7].

Несмотря на исчерпывающее количество информации о фармакологических свойствах и токсичности атипичных антипсихотиков, наиболее часто обнаруживаемых при диагностике пациентов с острыми отравлениями [7–9], они продолжают привлекать внимание исследователей. В научных изданиях для большинства современных атипичных антипсихотиков отсутствует информация о доступных специфических методиках изолирования и идентификации их. Имеющиеся экспериментальные данные неоднозначны и недостаточны для получения универсальной методики обнаружения этих препаратов. Трудности возникают при попытках отличить антипсихотики как друг от друга, так и от других психоактивных веществ. Кроме того, клинические симптомы и патоморфологическая картина при отравлениях оланзапином, кветиапином и рисперидоном неспецифичны [10]. В связи с этим их определение в биологических объектах является решающим при диагностике острых отравлений [10–11].

Клозапин, оланзапин, кветиапин и рисперидон могут быть обнаружены при скрининговом исследовании методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) [12–14]. Однако предлагаемые подвижные фазы и проявители не селективны для обнаружения представленных веществ. Иммунохимические методы, например, иммунохроматографические (ИХА), для данных препаратов неэффективны и не применяются. Отмечены случаи ложноположительных результатов иммуноферментных (ИФА) тестов на метадон и трициклические антидепрессанты при исследовании биосред пациентов, принимавших кветиапин [15].

Метод ультрафиолетовой (УФ) спектроскопии для идентификации атипичных антипсихотиков в биологических образцах имеет ограниченное применение, так как для кветиапина отсутствуют характерные четкие максимумы на кривой абсорбции [16], а максимумы поглощения для клозапина и оланзапина находятся слишком близко, чтобы вещества можно было уверенно дифференцировать [11].

Для подтверждающего химико-токсикологического анализа отравлений клозапином, оланзапином, кветиапином и рисперидоном предложены методы газовой хроматографии с масс-селективным детектированием (ГХ-МС) [12, 13, 16] и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с различными детектирующими системами [17–19].

Цель исследования: разработать методику анализа атипичных антипсихотических препаратов — клозапина, оланзапина, кветиапина и рисперидона, пригодную для дифференциальной диагностики острых отравлений ими.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследовании использовались: субстанция-порошок клозапина (АО «Органика», Россия), оланзапина (ООО «Технология лекарств», Россия), кветиапина фумарата (ООО «Технология лекарств», Россия) и рисперидона (ООО «Технология лекарств», Россия).

Исходные стандартные растворы клозапина, оланзапина, кветиапина фумарата (в пересчете на свободный кветиапин) с концентрацией 10 мг/мл и рисперидона с концентрацией 2 мг/мл готовили, растворяя точные навески субстанций в этаноле. Полученные растворы использовали в дальнейшем для приготовления рабочих растворов и модельных образцов с различной концентрацией: 20, 10, 8, 4, 2, 0,08, 0,04 и 0,01 мкг/мл.

Тонкослойную хроматографию (ТСХ) проводили на пластинах *Riedel-de-Haën silica gel F254* на алюминиевой подложке со слоем сорбента *silica gel UV254* 0,20 mm. Использовали следующие подвижные фазы: толуол-ацетон-этанол-25% аммиак (45:45:7,5:2,5), толуол-ацетон-25% раствор аммиака (50:50:1), хлороформ-этанол (7:3), этилацетат-метанол-25% раствор аммиака (85:10:5). Для детектирования применяли УФ-излучение с длиной волны 254 нм, реактив Драгендорфа и концентрированную азотную кислоту.

В качестве подтверждающих методов разработанной ТСХ-методики использовали ГХ-МС и ВЭЖХ с масс-селективным детектированием — МС/МС.

Условия анализа методом ГХ-МС: газовый хроматограф *Thermo Trace GC 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 с 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.

Условия анализа методом ВЭЖХ-МС/МС: ВЭЖХ-система *Nexera* с масс-спектрометрическим детектором *LCMS-8040* (тройной квадрупольный масс-анализатор) *Shimadzu* (Япония). Для хроматографического разделения была использована колонка *Luna C18*, 50x4,6 мм, 5 мкм (*Phenomenex*, США) при температуре 40°C, элюент А — 0,1% (об.) муравьиная кислота / деионизированная вода, элюент В — 0,1% (об.) муравьиная кислота / ацетонитрил. Элюирование проводили в градиентном режиме, градиент состава подвижной фазы представлен в табл. 1.

Объем вводимой пробы — 1 мкл. Время удерживания оланзапина составило около 1,77 мин, клозапина — около 2,63 мин, кветиапина — около 2,77 мин.

Ионизацию проводили методом электрораспыления в положительном режиме, детектирование велось путем мониторинга множественных реакций (MRM^+). Значения m/z ионов-предшественников, дочерних

ионов, а также энергии соударений были подобраны экспериментально и представлены в табл. 2.

ПРОБОПОДГОТОВКА ПРИ АНАЛИЗЕ МЕТОДОМ ТСХ

Исследуемый образец мочи объемом 5 мл или модельный образец подщелачивали 10% раствором аммиака до pH 9–11 и экстрагировали двумя порциями хлороформа по 10 мл. Объединенные хлороформные экстракты упаривали. Сухой остаток перерастворяли в 0,2 мл хлороформа и наносили на линию старта пластинки по 10 мкл анализируемого и стандартного растворов. Для оценки чувствительности и объективизации полуколичественного определения по представленной ТСХ-методике использовали экстракты из модельных образцов, полученных путем прибавления к интактной моче рабочих стандартных растворов клозапина, оланзапина, кветиапина и рисперидона до получения различной концентрации: 20, 10, 8, 4, 2, 0,08, 0,04, 0,01 мкг/мл. Для контроля ложноположительных результатов предварительно проводили холостой опыт на интактной моче. Процедуру экстракции и хроматографирование образца мочи осуществляли так же, как описано выше. Пятна в хроматографических зонах, имеющие коэффициент подвижности (R_f), схожий со стандартами клозапина, оланзапина, кветиапина и рисперидона, отсутствовали.

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 со скоростью 3500 об./мин. Органический слой переносили в стеклянные вials, упаривали досуха под вакуумом и растворяли остаток в 100 мкл этилацетата. В хроматограф вводили 2 мкл полученного раствора.

ПРОБОПОДГОТОВКА ДЛЯ АНАЛИЗА МЕТОДОМ ВЭЖХ-МС/МС

В центрифужные пробирки вместимостью 2 мл помещали 0,4 г натрия хлорида, 300 мкл интактной или исследуемой мочи и 900 мкл ацетонитрила, перемешивали на встряхивателе типа “Vortex” в течение 10 секунд, а затем центрифугировали в течение 15 минут со скоростью 14 500 об./мин. Далее 500 мкл верхнего (органического) слоя жидкости переносили в хроматографические вials и помещали в автосамплер хроматографа.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ТСХ-ОБНАРУЖЕНИЯ КЛОЗАПИНА, ОЛАНЗАПИНА, КВЕТИАПИНА И РИСПЕРИДОНА

Выбор подвижной фазы проводился с учетом влияния состава и полярности на подвижность веществ и разрешающую способность хроматографической системы. Результаты анализа клозапина, оланзапина, кветиапина и рисперидона методом ТСХ в сравниваемых системах, значения R_f и времена хроматографирования, установленные в ходе эксперимента, представлены в табл. 3.

Как видно из табл. 3, наиболее полно удовлетворяет запросам химико-токсикологической диагностики острых отравлений система этилацетат–метанол – 25% раствор аммиака (85:10:5): она обеспечивает достаточное разделение всех четырех веществ; хроматографи-

Таблица 1

Градиент состава подвижной фазы при анализе методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с тандемной масс-спектрометрией

Table 1

Gradient composition of the mobile phase for analysis with HPLC-MS/MS method

Длительность анализа, мин	Объемная доля элюента В, %
0,00 → 0,50	5
0,50 → 3,50	5 → 55
3,50 → 4,00	55 → 100
4,00 → 5,50	100
5,50 → 6,50	100 → 5
6,50 → 8,00	5

Таблица 2

Параметры детектирования оланзапина, клозапина и кветиапина в режиме MRM*

Table 2

Detection parameters of olanzapine, clozapine and quetiapine in MRM* mode

Ион-предшественник, m/z	Фрагментный ион, m/z	Энергия соударений, В
Оланзапин		
312,95	255,95	-24,0
312,95	84,10	-24,0
Кветиапин		
383,95	279,00	-27,0
383,95	253,00	-25,0
Клозапин		
326,90	270,05	-24,0
326,90	191,95	-46,0

Таблица 3

Значения R_f клозапина, оланзапина, кветиапина и рисперидона в различных системах растворителей

Table 3

The values of R_f for clozapine, olanzapine, quetiapine, risperidone in various solvent systems

Название вещества	Значение R_f в системе растворителей			
	Толуол-ацетон-этанол – 25% раствор аммиака (45:45:7,5:2,5)	Толуол-ацетон – 25% раствор аммиака (50:50:1)	Хлороформ-этанол (7:3)	Этилацетат-метанол – 25% раствор аммиака (85:10:5)
Клозапин	0,47	0,37	0,67	0,56
Оланзапин	0,40	0,26	0,56	0,43
Кветиапин	0,50	0,37	0,84	0,66
Рисперидон	0,28	0,44	0,73	0,30
Длительность хроматографирования, мин	12	14	8	16

ческие зоны имеют четкие контуры и высокую плотность. Данная подвижная фаза представляет собой общую систему растворителей для веществ основного характера. Ее использование в условиях ненаправленного химико-токсикологического исследования позволяет выявлять клозапин, оланзапин, кветиапин и рисперидон наряду с другими лекарственными веществами, не изменяя общего хода исследования. Длительность хроматографирования равно 16 минутам, что удовлетворяет требованию экспрессности.

Для обнаружения исследуемых веществ хроматографические пластины просматривали в УФ-свете при длине волны 254 нм. Наблюдала гашение флуоресценции зон всех четырех препаратов в относительно широком диапазоне их концентраций в пробе. Экспериментально доказана возможность выявления клозапина и оланзапина в сравнительно небольших количествах (0,02 мкг и 1 мкг в пятне соответственно). Результаты приведены в табл. 4.

После обработки пластин реактивом Драгендорфа хроматографические зоны всех четырех веществ окрашивались в оранжевый цвет. Использование реактива Драгендорфа в данной методике обусловлено универсальностью и высокой чувствительностью детектирующего реагента.

Концентрированная азотная кислота при капельном нанесении вызывала коричневое окрашивание для клозапина, бордовое — для оланзапина и позво-

ляла подтверждать их наличие в модельных смесях с концентрацией 1 мкг/мл и выше.

Полученные пределы (табл. 4) стабильно повторялись при повторных измерениях, в том числе проводимых разными специалистами в разные дни, что подтверждает надежность и воспроизводимость предлагаемой методики ТСХ.

Разработанная нами методика была использована при исследовании образцов мочи пациентов с подозрением на отравление антипсихотиками. Во всех экспериментах пятна, соответствующие изучаемым веществам, на хроматограммах экстрактов из мочи пациентов с острыми отравлениями и из модельных образцов имели одинаковую окраску и значения R_f . Результаты приведены в табл. 5.

При этом обнаружение кветиапина и рисперидона не осложнялось наличием в пробе других токсикантов. Обнаружение клозапина и оланзапина в некоторой степени затруднялось при наличии в пробе таких веществ, как амитриптилин, карбамазепин и производные бензодиазепина, которые обладают флуоресценцией и близкими значениями R_f (0,60–0,70), дают окрашивание с реактивом Драгендорфа и поэтому могут маскировать пятна клозапина и оланзапина. Проблема решалась использованием в качестве детектирующего реагента концентрированной азотной кислоты с соответствующей реакцией их окрашивания, в то время как другие компоненты не дают подобного результата, и смеси концентрированной серной кислоты и спирта (1:1), с которой клозапин и оланзапин, в отличие от мешающих токсикантов, не взаимодействуют [20]. Наличие в пробе фенотиазинов, доксиламина, трициклических антидепрессантов не мешало проведению анализа.

Таблица 4

Пределы обнаружения в пятне клозапина, оланзапина, кветиапина, рисперидона некоторыми детекторами в методе тонкослойной хроматографии

Table 4

The detection limits at the spot of clozapine, olanzapine, quetiapine, risperidone for several detectors in the method of thin layer chromatography

Название вещества	Пределы обнаружения при разных способах детектирования, мкг		
	УФ-спектроскопия, 254 нм	Реактив Драгендорфа	Азотная кислота, концентрация, мкг
Клозапин	0,02	0,01	0,02
Оланзапин	1	1	1
Кветиапин	5	2	–
Рисперидон	5	1	–

Примечания: УФ-спектроскопия – ультрафиолетовая спектроскопия

Таблица 5

Результаты исследования биологических проб пациентов с подозрением на отравления клозапином, оланзапином и кветиапином

Table 5

The results of the study of biological samples of patients with suspected poisoning with clozapine, olanzapine, and quetiapine

№ пробы	Обнаружение других веществ						Примечания
	ТСХ	ГХ-МС	ВЭЖХ-МС/МС	Этанол в крови, г/л	Этанол в моче, г/л	Другие вещества	
1	клозапин	клозапин	клозапин	н/о	н/о	ДЛ, АМТ	
2	клозапин	клозапин	клозапин	н/о	н/о		
3	клозапин	клозапин	клозапин	н/о	н/о		
4	н/о	клозапин	клозапин	н/о	н/о	ТГ	Низкая концентрация клозапина в пробе
5	клозапин	клозапин	клозапин	н/о	н/о	ДЛ, БД	
6	клозапин	клозапин	клозапин	1,18	2,23		
7	кветиапин	кветиапин	кветиапин	н/о	н/о	БД, КБ	
8	кветиапин	кветиапин	кветиапин, клозапин	0,32	1,56		Низкая концентрация клозапина в пробе
9	н/о	кветиапин	кветиапин	н/о	н/о	ФТ, АД	Низкая концентрация кветиапина в пробе
10	кветиапин	кветиапин	кветиапин	н/о	н/о	ФТ, ТАД	
11	н/о	кветиапин	кветиапин	н/о	н/о	ТАД	Низкая концентрация кветиапина в пробе
12	кветиапин, н/о	кветиапин, оланзапин	кветиапин, оланзапин	н/о	н/о	КБ, АМТ	Низкая концентрация оланзапина в пробе
13	оланзапин	оланзапин	оланзапин	н/о	н/о	ТАД	

Примечания: н/о – не обнаружено; АД – другие антидепрессанты; АМТ – амитриптилин; БД – бензодиазепины; КБ – карбамазепин; ФТ – фенотиазины; ДЛ – доксиламин; ТАД – трициклические антидепрессанты; ТГ – тригексифенидил; ТСХ – тонкослойная хроматография; ГХ-МС – газовая хроматография с масс-селективным детектированием; ВЭЖХ-МС/МС – высокоэффективная жидкостная хроматография в сочетании с tandemным масс-селективным детектированием

Notes: n/o – not detected; АД – other antidepressants; АМТ – amitriptyline; БД – benzodiazepines; ВЭЖХ-МС/МС – high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry; ГХ-МС – gas chromatography with mass selective detection; ДЛ – doxylamine; КБ – carbamazepine; ТАД – tricyclic antidepressants; ТГ – trihexyphenidyl; ТСХ – thin layer chromatography; ФТ – phenothiazines

Для контроля результатов ТСХ и подтверждения обнаружения клозапина, оланзапина и кветиапина применяли ГХ-МС и ВЭЖХ-МС/МС.

Для методик ГХ-МС и ВЭЖХ-МС/МС предварительно была установлена селективность путем сравнения хроматограмм образцов интактной мочи с хроматограммами модельных и испытуемых образцов (пробы от пациентов). В хроматограммах интактной мочи отсутствовали пики, соответствующие по времени удерживания изучаемым веществам, что исключает получение ложноположительных результатов. Каждый испытуемый образец анализировался в трех повторностях. При этом времена удерживания и площади пиков стабильно воспроизводились.

Среди проанализированных проб в семи было подтверждено наличие обнаруженных с помощью ТСХ антипсихотиков. В четырех из исследованных проб предложенная методика ТСХ дала отрицательные результаты на искомые вещества, в то время как они были обнаружены при подтверждающих исследованиях. Причиной ложноотрицательных результатов послужила низкая концентрация антипсихотиков в пробах, при которой они уже не являются главной причиной отравления. На это указывает обнаружение в данных пробах других психоактивных веществ и этанола.

Использованный как подтверждающий метод ГХ-МС отличается относительно простой пробоподготовкой, возможностью обнаружения как нативных веществ, так и неполярных метаболитов благодаря наличию обширных электронных библиотек масс-спектров и сравнительно небольшому времени анализа (18 минут). ВЭЖХ-МС/МС в качестве подтверждающего метода анализа имеет большую селективность

и чувствительность по сравнению с ГХ-МС за счет использования детектирования путем мониторинга множественных реакций. Так, например, в пробе № 8 (табл. 5) этим методом помимо кветиапина был обнаружен клозапин, наличие которого не было установлено другими методами. В остальных случаях результаты подтверждающего анализа методами ГХ-МС и ВЭЖХ-МС/МС совпадали. Однако метод ВЭЖХ-МС/МС мало пригоден для использования при ненаправленном анализе — в отличие от представленных методик ТСХ и ГХ-МС, обладающих достоинствами скринингового метода.

По сравнению с подтверждающими методами разработанная методика ТСХ обладает простотой, не требует использования дорогостоящего высокотехнологичного оборудования и позволяет уверенно выявлять концентрации в моче клозапина (свыше 0,04 мкг/мл), оланзапина, кветиапина и рисперидона (свыше 4–8 мкг/мл), что наблюдается при острых отравлениях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предложенная методика обнаружения клозапина, оланзапина, кветиапина и рисперидона методом тонкослойной хроматографии, включающая хроматографирование в системе этилацетат–метанол 25% раствор аммиака (85:10:5) и использование в качестве детектора УФ-света с длиной волны 254 нм с последующей обработкой пластины реактивом Драгендорфа и концентрированной азотной кислотой, экспрессна, удобна и хорошо подходит для химико-токсикологического анализа данных веществ в моче при острых отравлениях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Isbister GK, Duffull SB. Quetiapine overdose: predicting intubation, duration of ventilation, cardiac monitoring, and the effect of activated charcoal. *Int Clin Psychopharmacology*. 2009;24(4):174–180. PMID: 19494786 <https://doi.org/10.1097/YIC.0b013e32832bb078>
2. Springfield AC, Bodiford E. An overdose of risperidone. *J Anal Toxicology*. 1996; 20(3):202–203. PMID: 8735204. <https://doi.org/10.1093/jat/20.3.202>
3. Parker DR, McInture LM. Case studies of postmortem quetiapine: therapeutic or toxic concentrations? *J Anal Toxicology*. 2005;29(5):407–412. PMID: 16105271 <https://doi.org/10.1093/jat/29.5.407>
4. Robertson MD, McMullin MM. Olanzapine concentrations in clinical serum and postmortem blood specimens – when does therapeutic become toxic? *J Forensic Sci*. 2000;45(2):418–421. PMID: 10782964 <https://doi.org/10.1520/JFS14697J>
5. Malekshahi T, Tiroleo N, Ahmed N, Campbell AN, Haller D. Misuse of atypical antipsychotics in conjunction with alcohol and other drugs of abuse. *J Subst Abuse Treat*. 2015;48(1):8–12. PMID: 25216812 <https://doi.org/10.1016/j.jsat.2014.07.006>
6. De Millas W, Haasen C. Treatment of alcohol hallucinosis with risperidone. *Am J Addict*. 2007;16(3):249–250. PMID: 17612834 <https://doi.org/10.1080/10550490701375269>
7. Слюдин Д.Г., Ливанов А.С., Анучин В.В., Меркин А.Г., Бобринская И.Т., Тутова Е.В. Особенности психопатологических проявлений при криминальных отравлениях клозапином. *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. 2010;(3):57–63.
8. Moffatt AC, Jackson JV, Moss MS, Widdop B. *Clarke's Isolation and Identification of Drugs in Pharmaceuticals, Body Fluids and Post-mortem Material*. London: Pharmaceutical Press; 1986.
9. Fisher DS, van Schalkwyk GI, Seedat S, Curran SR, Flanagan RJ. Plasma, oral fluid, and whole-blood distribution of antipsychotics and metabolites in clinical samples. *Ther Drug Monit*. 2013;35(3):345–351. PMID: 23666566 <https://doi.org/10.1097/FTD.0b013e318285eaf2>
10. Остапенко Ю.Н. (ред). *Отравления психотропными средствами, не классифицированными в других рубриках*. Федеральные клинические рекомендации. Москва; 2013.
11. Карташов В.А., Чернова Л.В. Определение Кветиапина и Оланзапина в биологических объектах. *Судебно-медицинская экспертиза*. 2014;(5):47–52.
12. Ремезова И.П. Разработка методик анализа Клозапина, Рисперидона, Оланзапина, Сертиндола, Арипипразола и Галоперидола в модельной смеси мочи. В мире научных открытий. 2014;4–1(52): 568–583.
13. Ремезова И.П., Лазарян Д.С., Максименко Т.И. Разработка методик обнаружения некоторых атипичных нейролептиков для целей химико-токсикологического анализа. *Фармация и фармакология*. 2014;6(7):54–58.
14. Лазицкая А.М., Чмелевская Н.В., Илларионова Е.А. Тонкослойная хроматография в анализе психотропных лекарственных средств при комбинированных отравлениях. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2017;2(114):74–79.
15. Hendrickson RG, Morocco AP. Quetiapine cross-reactivity among three tricyclic antidepressant immunoassays. *J Toxicol Clin Toxicol*. 2003;41(2):105–108. PMID: 12733845 <https://doi.org/10.1081/CLT-120019122>
16. Карташов В.А., Чернова Л.В. Исследование Кветиапина в моче больных шизофренией. *Новые технологии*. 2013;(3):160–164.
17. Баймеева Н.В., Бондаренко Е.В., Потанин С.С., Мирошниченко И.И. Количественное определение содержания арипипразола, рисперидона и их активных метаболитов в плазме крови человека посредством жидкостной tandemной хромато-масс-спектрометрии (ВЭЖХ/МС/МС). *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2014;3(8):32–37.
18. Kirchherr H, Kühn-Velten WN. Quantitative determination of forty-eight antidepressants and antipsychotics in human serum by HPLC tandem mass spectrometry: a multi-level, single-sample approach. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2006;843(1):100–113. PMID: 16798119 <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2006.05.031>
19. Frasnert C, Rao ML, Grasmäder K. Analysis of eighteen antidepressants, four atypical antipsychotics and active metabolites in serum by liquid chromatography: a simple tool for therapeutic drug monitoring. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2003;794(1):35–47. PMID: 12888196 [https://doi.org/10.1016/S1570-0232\(03\)00393-3](https://doi.org/10.1016/S1570-0232(03)00393-3)
20. Горностаева Э.Г., Тупицина Г.В. Отравление Амитриптилином. *Судебно-медицинская экспертиза*. 1974;(2):43–45.

REFERENCES

1. Isbister GK, Duffull SB. Quetiapine overdose: predicting intubation, duration of ventilation, cardiac monitoring, and the effect of activated charcoal. *Int Clin Psychopharmacology*. 2009;24(4):174–180. PMID: 19494786 <https://doi.org/10.1097/YIC.0b013e32832bb078>
2. Springfield AC, Bodiford E. An overdose of risperidone. *J Anal Toxicology*. 1996; 20(3):202–203. PMID: 8735204. <https://doi.org/10.1093/jat/20.3.202>
3. Parker DR, McInture LM. Case studies of postmortem quetiapine: therapeutic or toxic concentrations? *J Anal Toxicology*. 2005;29(5):407–412. PMID: 16105271 <https://doi.org/10.1093/jat/29.5.407>
4. Robertson MD, McMullin MM. Olanzapine concentrations in clinical serum and postmortem blood specimens – when does therapeutic become toxic? *J Forensic Sci*. 2000;45(2):418–421. PMID: 10782964 <https://doi.org/10.1520/JFS14697J>
5. Malekshahi T, Tioleco N, Ahmed N, Campbell AN, Haller D. Misuse of atypical antipsychotics in conjunction with alcohol and other drugs of abuse. *J Subst Abuse Treat*. 2015;48(1):8–12. PMID: 25216812 <https://doi.org/10.1016/j.jsat.2014.07.006>
6. De Millas W, Haasen C. Treatment of alcohol hallucinosis with risperidone. *Am J Addict*. 2007;16(3):249–250. PMID: 17612834 <https://doi.org/10.1080/10550490701375269>
7. Slyundin DG, Livanov AS, Anuchin VV, Merkin AG, Bobrinskaya IG, Gutova EV. Specific features of psychopathological manifestations in criminal clozapine intoxications. *Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*. 2010;2(3):57–63. (In Russ.) <https://doi.org/10.14412/2074-2711-2010-102>
8. Moffatt AC, Jackson JV, Moss MS, Widdop B. *Clarke's Isolation and Identification of Drugs in Pharmaceuticals, Body Fluids and Post-mortem Material*. London: Pharmaceutical Press; 1986.
9. Fisher DS, van Schalkwyk GI, Seedat S, Curran SR, Flanagan RJ. Plasma, oral fluid, and whole-blood distribution of antipsychotics and metabolites in clinical samples. *Ther Drug Monit*. 2013;35(3):345–351. PMID: 23666566 <https://doi.org/10.1097/FTD.0b013e318285eaf2>
10. Ostapenko YuN. (ed). *Otravleniya psikhotropnymi sredstvami, ne klassifitsirovannymi v drugikh rubrikakh. Federal'nye klinicheskie rekomendatsii*. Moscow; 2013. (In Russ.)
11. Kartashov VA, Chernova LV. The detection of quetiapine and olanzapine in the biological objects. *Forensic Medical Expertise*. 2014;57(5):47–52. (In Russ.)
12. Remezova IP. Development of Methods of Analyses of the Clozapine, Risperidone, Olanzapine, Sertindole, Aripiprazole and Haloperidol in the Model Mixture of Urine. *In the World of Scientific Discoveries*. 2014;4-1(52):568–583. (In Russ.)
13. Remezova IP, Lazaryan DS, Maksimenko TI, Sanzhieva DY, Rybasova AY. Methods Elaboration on Detection of Some Atypical Neurolytic Agents for Chemical and Toxicological Analysis. *Pharmacy & Pharmacology*. 2014;2(6(7)):54–58. (In Russ.) [https://doi.org/10.19163/2307-9266-2014-2-6\(7\)-54-58](https://doi.org/10.19163/2307-9266-2014-2-6(7)-54-58)
14. Lazitskaya AM, Chmelevskaya NV, Illarionova EA. Thin-Layer Chromatography in The Analysis of Psychotropic Agents at Combined Poisoning. *Acta Biomedica Scientifica*. 2017;2(2):74–79. (In Russ.) https://doi.org/10.12737/article_59a614fc20c669.86359679
15. Hendrickson RG, Morocco AP. Quetiapine cross-reactivity among three tricyclic antidepressant immunoassays. *J Toxicol Clin Toxicol*. 2003;41(2):105–108. PMID: 12733845 <https://doi.org/10.1081/CLT-120019122>
16. Kartashov VA, Chernova LV. Investigation of quetiapine in the urine of patients with schizophrenia. *New Technologies*. 2013; (3):160–164. (In Russ.)
17. Baymeeva NV, Bondarenko EV, Potanin SS, Miroshnichenko II. Kolichestvennoe opredelenie soderzhaniya Aripiprazola, Risperidona i ikh aktivnykh metabolitov v plazme krovi cheloveka posredstvom zhidkostnoy tandemnoy khromato-mass-spektrometrii (VEZhKh/MS/MS). *Drug development & registration*. 2014;3(8):32–37. (In Russ.)
18. Kirchherr H, Kühn-Velten WN. Quantitative determination of forty-eight antidepressants and antipsychotics in human serum by HPLC tandem mass spectrometry: a multi-level, single-sample approach. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2006;843(1):100–113. PMID: 16798119 <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2006.05.031>
19. Frahnert C, Rao ML, Grasmäder K. Analysis of eighteen antidepressants, four atypical antipsychotics and active metabolites in serum by liquid chromatography: a simple tool for therapeutic drug monitoring. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2003;794(1):35–47. PMID: 12888196 [https://doi.org/10.1016/S1570-0232\(03\)00393-3](https://doi.org/10.1016/S1570-0232(03)00393-3)
20. Gornostaeva EG, Tupitsina GV. Otravlenie Amitriptilinom. *Forensic Medical Expertise*. 1974;(2):43–45. (In Russ.)

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Белова Мария Владимировна

доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник отделения острых отравлений и соматопсихиатрических расстройств ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», кафедра фармацевтической и токсикологической химии им. А.П. Арзамасцева ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России;
<https://orcid.org/orcid.org/0000-0002-0861-5945>, manibel@gmail.com;
 25%: научное руководство, идея, обсуждение результатов, написание статьи

Клюев Евгений Александрович

врач клинической лабораторной диагностики ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»;
<https://orcid.org/0000-0002-9684-8764>, 89035601642@mail.ru;
 25%: проведение анализа методом газовой хромато-масс-спектрометрии

Мельников Евгений Сергеевич

кандидат физических наук, ассистент кафедры фармацевтической и токсикологической химии им. А.П. Арзамасцева ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России»;
<https://orcid.org/0000-0002-8993-4808>, evgeniy.melnikov@gmail.com;
 25%: разработка и проведение анализа методом ВЭЖХ-масс-спектрометрии, написание статьи

Порядина Мария Николаевна

студентка кафедры фармацевтической и токсикологической химии им. А.П. Арзамасцева ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России»;
satsu@yandex.ru;
 25%: разработка и проведение анализа методом тонкослойной хроматографии, написание статьи

Received on 21.06.2019

Accepted on 11.02.2020

Поступила в редакцию 21.06.2019

Принята к печати 11.02.2020

Chemical and Toxicological Diagnosis of Acute Poisoning with Clozapine, Olanzapine, Quetiapine and Risperidone

M.V. Belova^{1,2,*}, E.A. Klyuyev¹, E.S. Melnikov², M.N. Poryadina²

Department for Acute Poisonings and Somatopsychiatric Disorders

¹ SBHI Research Institute for Emergency Medicine

3 B. Suharevskaya Sq., Moscow 129090, Russian Federation

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of Russian Federation (Sechenov University)

8, b. 2 Trubetskaya St., Moscow 119048, Russian Federation

* **Contacts:** Maria V. Belova, Doctor of Biological Sciences, Leading Researcher at the Department of Acute Poisoning and Somatopsychiatric disorders, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine of the Moscow Health Department. Email: maniel@gmail.com

RELEVANCE The large number of atypical antipsychotic drugs on the market, the breadth of their medical and non-medical use, and their relative affordability make atypical antipsychotics common causes of overdose, suicidal actions or non-medical use of drugs. At the same time, they remain insufficiently studied from the chemical and toxicological point of view.

AIM OF STUDY: creation of available express method of detection of clozapine, olanzapine, quetiapine and risperidone in the urine of patients with acute poisoning.

MATERIAL AND METHODS Thin layer chromatography (TLC), gas chromatography with mass selective detection (GC-MS), and high performance liquid chromatography with mass selective detection (HPLC-MS/MS) were used. The preparation of intact urine samples with addition of standard solutions of clozapine, olanzapine, quetiapine, risperidone and urine samples of patients with symptoms of acute poisoning with given drugs was carried out by methods of liquid-liquid extraction at alkaline pH values for TLC chloroform, a mixture of ethyl acetate-diethyl ether (1:1) for GC-MS and acetonitrile for HPLC-MS/MS.

RESULTS A TLC method has been developed to detect clozapine, olanzapine, quetiapine and risperidone, which allows its presence to be quickly revealed in the patient's urine at the preliminary examination stage and also distinguish them from each other in case of the same type of symptoms of poisoning. For confirmatory analysis, it is advisable to use the methods of HPLC-MS/MS and GC-MS. Compared to confirmatory methods, the developed TLC-screening technique is expressive, does not require the use of expensive high-tech equipment and allows clozapine, olanzapine, quetiapine and risperidone to be differentiated from other toxicologically significant psychoactive substances found in general screening.

Keywords: clozapine, olanzapine, quetiapine, risperidone, atypical antipsychotics, acute poisoning, TLC, HPLC-MS/MS, GC-MS

For citation Belova MV, Klyuyev EA, Melnikov ES, Poryadina MN. Chemical and Toxicological Diagnosis of Acute Poisoning with Clozapine, Olanzapine, Quetiapine and Risperidone. *Russian Sklifosovsky Journal of Emergency Medical Care*. 2020;9(2):188–194. <https://doi.org/10.23934/2223-9022-2020-9-2-188-194> (in Russ.)

Conflict of interest Authors declare lack of the conflicts of interests

Acknowledgments, sponsorship The study had no sponsorship

Affiliations

Maria V. Belova	Doctor of Biological Sciences, Leading Researcher at the Department of Acute Poisoning and Somatopsychiatric disorders, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine of the Moscow Health Department; A.P. Arzamastsev Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of Russian Federation; https://orcid.org/orcid.org/0000-0002-0861-5945 , maniel@gmail.com; 25%: scientific management, idea, discussion of results, article writing
Evgeny S. Melnikov	Candidate of Physical Sciences, Assistant of A.P. Arzamastsev Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of Russian Federation; https://orcid.org/0000-0002-8993-4808 , evgeniy.melnikov@gmail.com; 25%: development and analysis by HPLC-mass spectrometry, writing an article
Maria N. Poryadina	student of A.P. Arzamastsev Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of Russian Federation; satsu@yandex.ru; 25%: development and analysis by thin layer chromatography, writing articles
Evgeny A. Klyuev	Clinical Laboratory Diagnostics Doctor, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine of the Moscow Health Department; https://orcid.org/0000-0002-9684-8764 , 89035601642@mail.ru; 25%: analysis by gas chromatography-mass spectrometry