

Разработка условий аналитической диагностики отравлений клопидогрелом

Л.С. Аносова

ГОУ ВПО Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького,
ДНР, 283003, Донецк, пр. Ильича 16

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРЕ:

Аносова Людмила Сергеевна – кандидат фармацевтических наук, ассистент кафедры фармацевтической и медицинской химии, ГОУ ВПО Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького Минздрава ДНР. Тел.: +7 (949) 470-99-18. E-mail: apteka-NaNya@yandex.ru. ORCID 0000-0002-9380-4619

РЕЗЮМЕ

Введение. Клопидогрела бисульфат (клопидогрел) является одним из основных лекарственных препаратов для лечения различных сердечно-сосудистых заболеваний (острый коронарный синдром, ишемический инсульт, транзиторная ишемическая атака, заболевания периферических артерий и др.). Данный препарат особенно актуален при лечении COVID-19. Неоднократно клопидогрел был причиной летальных отравлений, например, в Китае очень часто встречаются случаи использования клопидогрела в целях самоубийства. Анализа данного препарата в биологическом материале по литературным данным не представлено.

Целью исследований явилось установление отличительной способности клопидогрела, общепринятой в химико-токсикологическом анализе методов изолирования лекарственных веществ из биологического материала.

Материал и методы. Исследование проводили с модельными пробами свиной печени, не перенесшей гнилостных изменений, которые содержали исследуемый препарат. Обнаружение и количественное определение клопидогрела в экстрактах проводили с помощью тонкослойной хроматографии (ТСХ) и УФ-спектрофотометрии.

Результаты. Эффективность изолирования клопидогрела по методу А.А. Васильевой составила $57,75 \pm 5,08\%$, по методу В.П. Крамаренко – $64,23 \pm 5,44\%$. При использовании метода изолирования А.А. Васильевой предел обнаружения клопидогрела составлял $1,04\%$, по методу В.П. Крамаренко – $1,09\%$. Предел количественного определения клопидогрела по методу А.А. Васильевой – $3,31\%$, по методу В.П. Крамаренко – $3,34\%$.

Заключение. Для проведения аналитической диагностики при отравлении клопидогрелом ТСХ-скрининг и УФ-спектрофотометрическое определение необходимо проводить с предварительной ТСХ-очисткой. Изолирование клопидогрела водой, подкисленной этиловым спиртом (метод Стаса–Отто), не происходит. Наибольшую селективность УФ-спектрофотометрического метода определения клопидогрела в биологическом материале по отношению к матричным компонентам обеспечивал метод изолирования водой, подкисленной серной кислотой (метод В.П. Крамаренко). Эффективность изолирования препарата по методу В.П. Крамаренко составляет $64,23 \pm 5,44\%$.

Ключевые слова: клопидогрел, аналитическая диагностика, общие методы изолирования, ТСХ, УФ-спектрофотометрия.

Для цитирования: Аносова Л.С. Разработка условий аналитической диагностики отравлений клопидогрелом. Фармация, 2022; 71 (6): 12–18. <https://doi.org/10.29296/25419218-2022-06-02>

DEVELOPMENT OF CONDITIONS FOR ANALYTICAL DIAGNOSIS OF POISONING WITH CLOPIDOGREL

L.S. Anosova

Donetsk National Medical University named after M. Gorky, 16, Ilyich Ave., Donetsk, 283003, DNR

INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

Anosova Lyudmila Sergeevna – Candidate of Pharmaceutical Sciences, Assistant of the Department of Pharmaceutical and Medical Chemistry, Donetsk National Medical University named after M. Gorky of the Ministry of Health of the DPR. Tel.: +7 (949) 470-99-18. E-mail: apteka-NaNya@yandex.ru. ORCID 0000-0002-9380-4619

SUMMARY

Introduction. Clopidogrel bisulfate (Clopidogrel) is one of the main drugs for the treatment of various cardiovascular diseases (acute coronary syndrome, ischemic stroke, transient ischemic attack, peripheral artery disease, etc.). Especially, this drug is very relevant in the treatment of COVID-19. Clopidogrel has repeatedly been the cause of lethal poisoning, and cases of clopidogrel being used for suicide are very common in China. According to the studied literature data, the analysis of this drug in the biological material is not presented.

Objective: The aim of the research was to establish the distinctive ability of conventional methods of isolating medicinal substances from biological material in relation to clopidogrel in chemical and toxicological analysis (CTA).

Material and methods. The study was carried out with model samples of pig liver that had not undergone putrefactive changes, which contained the studied drug. Detection and quantification of clopidogrel in extracts were carried out using thin-layer chromatography (TLC) and UV spectrophotometry.

Results. The isolation efficiency of clopidogrel according to the method of A.A. Vasilyeva was $57.75 \pm 5.08\%$, according to the method of V.P. Kramarenko – $64.23 \pm 5.44\%$. When using the isolation method of A.A. Vasilyeva, the detection limit of clopidogrel was 1.04%, according to the method of V.P. Kramarenko – 1.09%. The limit of quantitative determination of clopidogrel according to the method of A.A. Vasilyeva is 3.31%, according to the method of V.P. Kramarenko – 3.34%, respectively.

Conclusion. For analytical diagnostics in case of clopidogrel poisoning, TLC screening and UV spectrophotometric determination must be carried out with preliminary TLC purification. Isolation of clopidogrel with water acidified with ethyl alcohol (the Stas-Otto method) does not work. The effectiveness of isolating the drug by the method of V.P. Kramarenko is $64.23 \pm 5.44\%$. The greatest selectivity of the UV spectrophotometric method for determining clopidogrel in biological material in relation to matrix components was provided by the method of isolation with water acidified with sulfuric acid (V.P. Kramarenko's method).

Key words: clopidogrel, analytical diagnostics, general isolation methods, TLC, UV spectrophotometry.

For reference: Anosova L.S. Development of conditions for analytical diagnosis of poisoning with clopidogrel. *Farmatsiya*, 2022; 71 (6): 12–18. <https://doi.org/10.29296/25419218-2022-06-02>

Введение

Клопидогрел (зилт, плавикс, лопирел, Кплагрил) по химической структуре является метил-(+)-(S)-альфа-(o-хлорфенил)-6,7-дигидротиено[3,2-с]пиридин-5(4H) ацетатом [1, 2]. Он является представителем антиагрегантных (антиагрегантных) средств, который эффективно применяется в комплексном лечении сердечно-сосудистых заболеваний (острый коронарный синдром, ишемический инсульт, транзиторная ишемическая атака, заболевания периферических артерий и др.) [3–6], и применяется у 40 млн пациентов по всему миру [7, 8]. Несмотря на то, что клопидогрел был одобрен еще в 1992 г., его антиагрегантная эффективность все еще изучается. Исследования активизировались с появлением новых лабораторных методов оценки функции тромбоцитов и расширением показаний к применению клопидогрела [8].

Согласно рекомендациям Российского кардиологического общества и Европейского общества кардиологов, в стандарты лечения больных с общим коронарным синдромом, как один из вариантов, входит антиагрегантная терапия именно клопидогрелом [9].

Особенно актуально применение данного препарата во время лечения пациентов с осложнениями сердечно-сосудистых заболеваний, вызванных COVID-19 [9].

Терапевтическая суточная доза клопидогрела бисульфата составляет 75 мг/сут. Для лечения допускается одноразовая суточная доза 300 мг, затем переход на терапевтическую дозу 75 мг ежедневно [5]. При употреблении более высоких доз клопидогрела (более 300 мг ежедневно) может наступить хроническая токсичность, при которой наблюдаемыми эффектами будут острый гастрит, эрозии желудка и рвота. Передозировка наблю-

дается при употреблении клопидогрела в дозе 900 мг. Однократная пероральная доза клопидогрела 1500 мг является смертельной [10, 11].

Препарат неоднократно был причиной смертельных отравлений [10–13]. Поскольку клиническая и патоморфологическая картина отравления указанным препаратом является нехарактерной, важное значение приобретают методы аналитической диагностики таких отравлений.

Предложены биоаналитические методы определения клопидогрела в плазме крови и моче с помощью методов высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) [14], ВЭЖХ-МС [15], газожидкостной хроматографии и масс-спектрометрии (ГЖ-МС) [16–18], жидкостно-эмиссионное хроматографирование с масс-детектированием [19]. При исследовании биологического материала на присутствие лекарственных веществ в условиях токсикологического скрининга пробоподготовку, обычно, проводят с помощью общих методов изолирования (А.А. Васильевой, Стаса–Отто, В.П. Крамаренко). Данные по выявлению и определению клопидогрела в биологическом материале в литературе отсутствуют.

Целью исследований явилось установление отличительной способности относительно клопидогрела общепринятых в химико-токсикологическом анализе методов изолирования лекарственных веществ из биологического материала.

Материал и методы

Для исследования использовали фармакопейную субстанцию – клопидогрел бисульфат (далее – клопидогрел) субстанция-порошок, производитель – ЧАО «Фармак» (Украина), соответствует Европейской фармакопее с содержанием действующего вещества 99,31% (серия LM2504208).

Исследование проводили с модельными пробами свиной печени, не претерпевшей гнилостных изменений, которые содержали исследуемый препарат. Для этого к 10 г измельченной печени (размер частиц не должен превышать 1 мм) добавляли 1,00 мл стандартного раствора клопидогрела (10 мг препарата), тщательным образом перемешивали и оставляли на 1 сут.

Приготовление стандартного раствора клопидогрела: 1,0000 г клопидогрела бисульфата вносили в мерную колбу емкостью 100,0 мл, растворяли в 0,1 моль/л растворе кислоты хлористоводородной и доводили объем раствора этим же растворителем до метки (*стандартный раствор 1*, концентрация 1000 мкг/мл).

В мерную колбу емкостью 100,0 мл вносили 10,00 мл стандартного раствора клопидогрела бисульфата 1 и доводили объем раствора 0,1 М раствором кислоты хлористоводородной до метки (*стандартный раствор 2*, концентрация 100 мкг/мл).

Готовили также контрольную смесь печени с растворителем (0,1 моль/л раствор кислоты хлористоводородной), исследования которой проводили параллельно с основными.

Приготовление стандартного хлороформного раствора клопидогрела: 50,0 мг клопидогрела бисульфата вносили в делительную воронку, растворяли в 10 мл воды очищенной, подщелачивали 10% раствором натрия гидроксида до $\text{pH} = 9$ и трижды экстрагировали хлороформом порциями по 10 мл. Хлороформные слои объединяли и фильтровали через бумажный фильтр («красная лента») с 1 г натрия сульфата безводного в мерную колбу емкостью 50,0 мл, доводили объем хлороформом до метки (*стандартный хлороформный раствор 1*, концентрация 1 мкг/мкл).

Для работы использовали мерную посуду класса А (первого класса) и вспомогательные вещества, которые отвечали требованиям Государственной Фармакопеи Российской Федерации (XIV изд.) [20].

Пробоподготовка. Клопидогрел изолировали из модельных проб печени экстракцией водой, подкисленной кислотой щавелевой (по методу А.А. Васильевой), водой, подкисленной серной кислотой (по методу В.П. Крамаренко), этанолом, подкисленным щавелевой кислотой (по методу Стаса–Отто) согласно с общепринятыми методиками [21]. Для выделения препарата классическими методами нами была проведена незначительная их модификация, которая заключалась в уменьшении навесок биологиче-

ского материала до 10 г. Экстракцию клопидогрела из полученных вытяжек проводили хлороформом, а процессы процеживания через марлю и фильтр были заменены на центрифугирование. Полученные хлороформные экстракты подвергали ТСХ-очистке.

Для этого 5 мл хлороформного извлечения выпаривали на водяной бане до объема 0,5 мл и количественно полосой наносили на линию старта хроматографической пластины. В исследовании использовали пластины Sorbfil ПТСХ-ПВ с УФ-индикатором (силикагель СТХ-1ВЕ, тип подложки ПЭТФ, связывающее вещество – силиказоль, фракция 8–12 мкм, толщина слоя 100 мкм, размер пластины 10×10 см), пластины для высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ) производства Эстонии (сорбент КСКГ, фракция – 5–20 мкм, толщина слоя 130 ± 25 мкм, размер пластин – 10×10 см), пластины Alugram Sil G/UV254 фирмы Macherey-Nagel (Германия) (силикагель G_{254} , толщина слоя – 200 мкм, размер пластин – 10×10 см). На расстоянии 2 см от указанной полосы наносили 10 мкл стандартного хлороформного раствора препарата (концентрация 1 мкг/мкл). В третью точку наносили хлороформный экстракт, выпаренный до минимального объема (0,05 мл). Аналогично на пластину наносили 0,5 и 5 мл «холостого» экстракта соответственно в точку и полосой.

Пластины элюировали в хлороформе с целью очистки от соэкстрактивных веществ – 1 раз или, при необходимости, дважды. При этих условиях препарат остается на линии старта, а соэкстрактивные вещества мигрируют к линии финиша. После высушивания пластины элюировали в системе растворителей хлороформ-метанол (90:10). После достижения системами растворителей линии финиша пластины вынимали из камеры, высушивали при комнатной температуре и проявляли в УФ-свете, затем последовательно проявляли реактивом Драгендорфа и кислотой серной, оставляя непроявленными полосы, которые соответствовали 5 мл экстракта, нанесенные полосой. Хроматографию проводили в камере объемом 500 см³, в которую вносили 50 мл системы растворителей и насыщали в течение 30 мин. Длина пути пробега растворителей составляла 8 см. Клопидогрел элюировали 10 мл хлороформа с непроявленной полосы хроматограммы на уровне пятна стандартного раствора клопидогрела ($R_f=0,96$ для Sorbfil ПТСХ-ПВ, $R_f=0,95$ для ВЭТСХ, $R_f=0,94$ для Alugram). Аналогично получали холостой элюат.

Определение клопидогрела в хлороформных экстрактах с помощью тонкослойной хроматографии (ТСХ) и хроматогенных реакций. На 2 хроматографические пластины каждого типа наносили по 0,5 мл исследуемого экстракта, выпаренного до минимального объема (0,05 мл), 0,5 мл «холостого» экстракта и 10 мл стандартного раствора клопидогрела 1 (10 мг/мл). Пластины высушивали на воздухе и элюировали в системах растворителей хлороформ – ацетон (80:20) и этанол-кислота уксусная концентрированная-вода (5:3:2). Хроматограмму, которая содержала по 2 пробы исследуемых экстрактов, проявляли в УФ-свете, реактивами Драгендорфа и Марки. Вторую хроматограмму обрабатывали реактивом Манделина и Бушарда. Отмечали окрашивания и их переходы.

Идентификация и количественное определение клопидогрела в элюатах в УФ-спектрофотометрическим методом. По 5,00 мл полученного хлороформного извлечения 1 и контрольного извлечения 1 упаривали на водяной бане при температуре 80°C до полного удаления органического слоя. Сухие остатки после охлаждения растворяли в 10,00 мл 0,1 М раствора кислоты хлористоводородной. После тщательного перемешивания измеряли оптическую плотность полученных основного и контрольного растворов и стандартного раствора клопидогрела бисульфата 2 на спектрофотометре СФ -46 (АО «ЛОМО», Россия) в диапазоне длины волны 200–350 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Как раствор сравнения использовали 0,1 М раствор кислоты хлористоводородной. Концентрацию клопидогрела в элюате (с, мкг/мл) рассчитывали с помощью уравнения градуировочного графика $A=0,004104 \cdot C+(0,005220 \pm 0,002)$.

Результаты

Определение клопидогрела методом ТСХ проводили в хлороформных экстрактах, которые были получены при дополнительной ТСХ-очистке, в условиях, рекомендованных Комитетом по систематическому токсикологическому анализу Международной ассоциации судебных токсикологов (ТИАФТ) [2]. Хроматографическое исследование проводили в системе двух подвижных фаз и хроматогенных реактивов в такой последовательности: УФ-свет, реактив Драгендорфа, реактив Марки, реактив Манделина, реактив Бушарда, которые позволяли идентифицировать клопидогрел в присутствии его структурных и фармакологических аналогов [22, 23].

Значение Rf клопидогрела в экстрактах совпало с величиной хроматографической подвижно-

сти препарата в стандартном растворе соответственно на пластинах Sorbfil ПТСХ-ПВ, ВЭТСХ, Alugram в следующих системах растворителей: хлороформ-ацетон (80:20) – 0,57; 0,96 и 0,96 соответственно, этанол-кислота уксусная-вода (5:3:2) – 0,88, 0,86 и 0,85. При исследовании холостых экстрактов соответствующие пятна с указанным Rf не наблюдались.

При проявлении клопидогрела на хроматограммах наблюдались (чувствительность, мкг в пробе) в УФ-свете – зеленая флуоресценция при 278 нм (0,1), реактивом Драгендорфа – оранжевое окрашивание (0,1), реактивом Марки – красное окрашивание (0,1), реактивом Бушарда – коричневое окрашивание (0,1), реактивом Манделина – желтое окрашивание (0,1). При исследовании холостых экстрактов указанных окрашиваний не наблюдалось.

Идентификацию и количественное определение клопидогрела УФ-спектрофотометрическим методом проводили после дополнительной очистки экстрактов методом ТСХ. Степень элюирования клопидогрела хлороформом составила 95,9%. УФ-спектр хроматограмм элюатов был аналогичен спектру стандартного раствора клопидогрела в 0,1 М растворе хлористоводородной кислоты и имел полосы поглощения 270 ± 2 , 278 ± 2 и 300 ± 2 нм (рис. 1, 2).

По методу Стаса–Отто изолировать клопидогрел не удалось.

УФ-спектры холостых элюатов максимумов светопоглощения при указанных длинах волн не имели.

Определение концентрации препарата в элюатах проводили УФ-спектрофотометрическим методом при длине волны 278 нм, которая подчинялась закону Бугера–Ламберта–Бера и отвечала наибольшей интенсивности. Клопидогрел показал линейность в диапазоне 20,0–200 мг/мл. Предел количественного определения клопидогрела составляет 20,0 мкг/мл. Значения LOD и LOQ были рассчитаны с использованием стандартного отклонения перехвата (S_a) в соответствии с соответствующими уравнениями:

$$\text{LOD} = 3,3 \cdot \frac{S_a^2}{b} \text{ и } \text{LOQ} = 10 \cdot \frac{S_a^2}{b} \text{ [24, 25].}$$

Они составляли 1,144 мкг/мл и 3,467 мкг/мл соответственно.

Результаты количественного определения клопидогрела, выделенного из печени по методу А.А. Васильевой и В.П. Крамаренко, приведены в табл. 1.

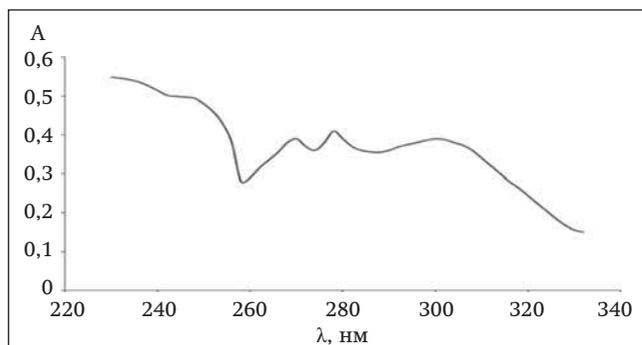


Рис. 1. УФ-спектр светопоглощения клопидогрела (в 0,1 М растворе хлористоводородной кислоты), выделенного из печени по методу А.А. Васильевой
Fig. 1. UV light absorption spectrum clopidogrel (in 0.1 M solution of hydrochloric acid), isolated from the liver by the method A.A. Vasilyeva

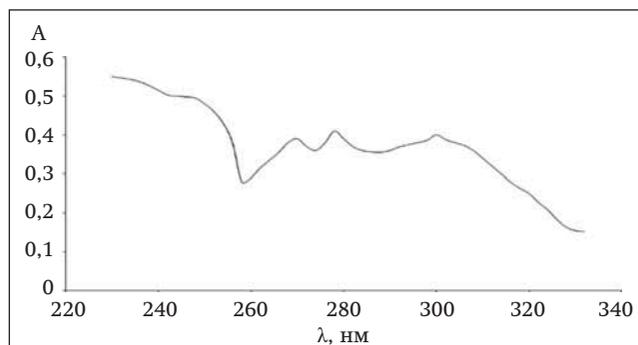


Рис. 2. УФ-спектр светопоглощения клопидогрела (в 0,1 М растворе хлористоводородной кислоты), выделенного из печени по методу В.П. Крамаренко
Fig. 2. UV light absorption spectrum clopidogrel (in 0.1 M solution of hydrochloric acid), isolated from the liver by the method V.P. Kramarenko

Результаты УФ-спектрофотометрического определения клопидогрела, выделенного из печени по методу А.А. Васильевой и В.П. Крамаренко

Таблица 1

Results of UV spectrophotometric determination of clopidogrel isolated from the liver by the method of A.A. Vasilyeva and V.P. Kramarenko

Table 1

Метод изолирования	Добавлено клопидогрела к 10,0 г печени, мкг	Выделено клопидогрела		Метрологические характеристики (n=3, P=0,95)
		мкг	%	
А.А. Васильевой (настаивание с водой, подкисленной щавелевой кислотой)	1000,0	572,99	57,30	$\bar{X}=57,75$ $S=2,05$ $RSD=3,54\%$ $S_{\bar{x}}=1,18$ $\Delta\bar{X}=5,08$ $\varepsilon=\pm 8,81\%$
		599,76	59,98	
		559,61	55,96	
В.П. Крамаренко (настаивание с водой, подкисленной серной кислотой)	1000,0	664,2	66,42	$\bar{X}=64,23$ $S=2,19$ $RSD=3,41\%$ $S_{\bar{x}}=1,26$ $\Delta\bar{X}=5,44$ $\varepsilon=\pm 8,47\%$
		620,44	62,04	
		642,34	64,23	

Таблица 2

Значения предела обнаружения и границы определения УФ-спектрофотометрического метода определения клопидогрела в экстрактах из биологического материала, рассчитанные по величинам аналитического сигнала «холостых» элюатов

Table 2

The values of the detection limit and the limits of the determination of the UV spectrophotometric method for determining clopidogrel in extracts from biological material, calculated from the values of the analytical signal of "idle" eluates

Метод изолирования	Среднее значение A_{blank}	Метрологические характеристики (n=3, P=0,95)					
		S	RSD, %	$S_{\bar{x}}$	$\Delta\bar{X}$	LOD	LOQ
А.А. Васильевой	0,086	0,3592	0,44	0,2074	0,8917	1,04	3,31
В.П. Крамаренко	0,071	0,3263	0,24	0,1884	0,8101	1,09	3,34

Как видно из табл. 1, метод А.А. Васильевой позволяет выделить 57,75% клопидогрела, а метод В.П. Крамаренко – 64,23% клопидогрела.

На основании полученных данных светопоглощения холостых элюатов были рассчитаны LOD и LOQ УФ-спектрофотометрического метода определения клопидогрела в биологическом материале (табл. 2).

Как видно из табл. 2, полученные значения LOD и LOQ, рассчитанные из величин светопоглощения холостых элюатов, полученные по методу А.А. Васильевой и В.П. Крамаренко, немного ниже тех значений, которые были получены стандартного раствора клопидогрела. Это можно объяснить отсутствием влияния сопутствующих веществ на результаты УФ-спектрофотометрического определения клопидогрела в биологическом материале.

Заключение

Для проведения аналитической диагностики при отравлении клопидогрелом ТСХ-скрининг и УФ-

спектрофотометрическое определение необходимо проводить с предварительной ТСХ-очисткой, используя при этом экстракцию препарата водой, подкисленной либо щавелевой кислотой (метод А.А. Васильевой), либо серной кислотой (метод В.П. Крамаренко). Изолирование клопидогрела водой, подкисленной этиловым спиртом (метод Стаса–Отто), не происходит. Наибольшую селективность УФ-спектрофотометрического метода определения клопидогрела в биологическом материале по отношению к матричным компонентам обеспечивал метод изолирования водой, подкисленной серной кислотой (метод В.П. Крамаренко). Эффективность изолирования препарата по методу В.П. Крамаренко составляет $64,23 \pm 5,44\%$.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Литература

- Physicians' Desk Reference. 54th ed. Montvale: Medical Economics. 2000; 2756–8.
- Clarke's analysis of drugs and poisons in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material: 4th ed. ed. by A.C. Moffat, M.D. Osselton, B. Widdop. London: The Pharm. Press. 2011; 2609.
- Capodanno D., Alberts M.J., Angiolillo D.J. Antithrombotic therapy for secondary prevention of atherothrombotic events in cerebrovascular disease. *Nature Reviews Cardiology*. 2016; 13: 609–22.
- Bonello L. et al. Clopidogrel Response Variability: Etiology and Clinical Relevance *Current Cardiovascular Risk Reports*. 2015; 9 (3): 1–9.
- Nijenh V.J. et al. Anticoagulation with or without Clopidogrel after Transcatheter Aortic-Valve Implantation. *N. Engl. J. Med*. 2020; 382 (18): 1696–707. DOI: 10.1056/NEJMoa1915152.
- Nairooz R. et al. Meta-analysis of clopidogrel pretreatment in acute coronary syndrome patients undergoing invasive strategy. *International J. of Cardiology*. 2017; 229 (15): 82–9.
- Trenk D., Zolk O., Fromm M.F. et al. Personalizing antiplatelet therapy with clopidogrel. *Clin. Pharmacol. Ther*. 2012; 92: 476–85.
- Голухова Е.З., Григорян М.В., Рябинина М.Н. Современные аспекты фармакогенетики клопидогрела и его клиническое значение. *Креативная кардиология*. 2014; 3: 39–52.
- Аносова Л.С. Распределение клопидогрела в органах отравленных животных. *Фармация*. 2021; 70 (6): 31–6. DOI: 10.29296/25419218-2021-06-06
- Fukusako T. et al. Case of thrombotic thrombocytopenic purpura associated with clopidogrel. *Rinsho Shinkeigaku*. 2007; 47 (10): 635–8.

- Borderías C.L., Garrapiz L.J., Caballero G. Pulmonary haemorrhage and haemothorax after massive ingestion of clopidogrel as a suicide attempt. *Arch. Bronconeumol*. 2009; 45 (11): 570–1. DOI: 10.1016/j.arbres.2009.06.009.
- Kocabay G., Okçular I., Akkaya V., Güler K. Suicide attempt with clopidogrel. *Hum. Exp. Toxicol*. 2006; 25 (12): 731–4.
- Al Asmar R., Zeid F. Acute Hemothorax Causing Hemorrhagic Shock Following Small-bore Thoracocentesis in a Patient on Clopidogrel: A Case Report and Literature Review. *Cureus*. 2020; 12 (3): e7431. DOI: 10.7759/cureus.7431.
- Бондар В.С., Аносова Л.С. Високоэффективна рідинна хроматографія в аналізі клопидогрелю. *Фармацевт. часоп*. 2012; 4 (24): 73–8.
- Красных Л.М., Карлицкая А.А. Количественное определение клопидогрела в плазме крови методом ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектором. *Биомедицина*. 2011; 4: 96–7.
- Lenka Vocilkovaa, Radka Opatrilova and Vladimír Srameka. Determination of Clopidogrel by Chromatography. *Current Pharmaceutical Analysis*. 2009; 5 (4): 1–8.
- Lagorce P., Perez Y., Ortiz J., Necciari J., Bressollec F. Assay method for the carboxylic acid metabolite of clopidogrel in human plasma by gas chromatography–mass spectrometry. *J. Chromatogr. B*. 2008; 720 (1–2): 107–17.
- Takahashi M., Pang H., Kawabata K., Farid N.A., Kurihara A. Stabilization of the clopidogrel active metabolite in whole blood and its assay in human plasma by LC/MS/MS. *J. Pharm. Biomed. Anal*. 2008; 48 (4): 1219–24.
- Patel N.K., Subbaiah G., Shah H., Kundlik M., Shrivastav P.S. Rapid LC-ESI-MS-MS method for the simultaneous determination of clopidogrel and its carboxylic acid metabolite in human plasma. *J. Chromatogr. Sci*. 2008; 46 (10): 867–75.
- Государственная Фармакопея Российской Федерации, XIV изд., том I, ОФС.1.1.0022.18 «Мерная посуда». [Электронное издание]. Режим доступа: <https://femb.ru/record/pharmacopea14>. [Дата обращения 12 июня, 2022].
- Бондарь В.С., Аносова Л.С., Шовковская З.В. Изолирование клопидогрела и его метаболита из биоматериала. *Фармация Казахстана*. 2013; 7: 34–7.
- Бондарь В.С., Аносова Л.С. Розробка методів ідентифікації клопидогрелю, придатних для хіміко-токсикологічного аналізу. *Фармация України. Погляд у майбутнє: матеріали VII Нац. з'їзду фармацевтів України*, 15–17 верес. 2010 р., Харків. Х. 2010; 1: 137.
- Бондар В.С., Аносова Л.С., Шовкова З.В. Ідентифікація клопидогрелю та його метаболіту за допомогою методу тонкошарової хроматографії. *Укр. мед. альм*. 2013; 16 (1): 50–2.
- SOFT/AAFS Forensic Laboratory Guidelines. 2006; 24. [Электронный ресурс]. Available at: http://www.soft-tox.org/files/Guidelines_2006_Final.pdf
- Государственная фармакопея Российской Федерации. ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик». МЗ РФ. XIII изд. Т. 1. Москва, 2015; 1470.

References

- Physicians' Desk Reference. 54th ed. Montvale: Medical Economics. 2000; 2756–8.
- Clarke's analysis of drugs and poisons in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material: 4th ed. ed. by A. C. Moffat, M. D. Osselton, B. Widdop. London: The Pharm. Press. 2011; 2609.

3. Capodanno D., Alberts M.J., Angiolillo D.J. Antithrombotic therapy for secondary prevention of atherothrombotic events in cerebrovascular disease. *Nature Reviews Cardiology*. 2016; 13: 609–22.
4. Bonello L. et al. Clopidogrel Response Variability: Etiology and Clinical Relevance. *Current Cardiovascular Risk Reports*. 2015; 9 (3): 1–9.
5. Nijenh V.J. et al. Anticoagulation with or without Clopidogrel after Transcatheter Aortic-Valve Implantation N. *Engl. J. Med.* 2020; 382 (18): 1696–707. DOI: 10.1056/NEJMoa1915152.
6. Nairooz R. et al. Meta-analysis of clopidogrel pretreatment in acute coronary syndrome patients undergoing invasive strategy. *International J. of Cardiology*. 2017; 229 (15): 82–9.
7. Trenk D., Zolk O., Fromm M.F. et al. Personalizing antiplatelet therapy with clopidogrel. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2012; 92: 476–85.
8. Goluhova E.Z., Grigoryan M.V., Ryabinina M.N. *Sovremennye aspekty farmakogenetiki klopidogrela i ego klinicheskoe znachenie. Kreativnaya kardiologiya*. 2014; 3: 39–52 (in Russian)
9. Anosova L.S. Raspredelenie klopidogrela v organah otravlenykh zhivotnykh. *Farmaciya*. 2021; 70 (6): 31–6. DOI: 10.29296/25419218-2021-06-06 (in Russian)
10. Fukusako T. et al. Case of thrombotic thrombocytopenic purpura associated with clopidogrel. *Rinsho Shinkeigaku*. 2007; 47 (10): 635–8.
11. Borderías C.L., Garrapiz L.J., Caballero G. Pulmonary haemorrhage and haemothorax after massive ingestion of clopidogrel as a suicide attempt. *Arch. Bronconeumol.* 2009; 45 (11): 570–1. DOI: 10.1016/j.arbres.2009.06.009.
12. Kocabay G., Okçular I., Akkaya V., Güler K. Suicide attempt with clopidogrel. *Hum. Exp. Toxicol.* 2006; 25 (12): 731–4.
13. Al Asmar R., Zeid F. Acute Hemothorax Causing Hemorrhagic Shock Following Small-bore Thoracocentesis in a Patient on Clopidogrel: A Case Report and Literature Review. *Cureus*. 2020; 12 (3): e7431. DOI: 10.7759/cureus.7431.
14. Bondar V.S., Anosova L.S. Visokoefektivna ridinna hromatografiya v analizi klopidogrelyu. *Farmacevt. chasop.* 2012; 4 (24): 73–8 (in Ukrain)
15. Krasnyh L.M., Karlickaya A.A. Kolichestvennoe opredelenie klopidogrela v plazme krovi metodom VEZHKh s mass-spektrometricheskim detektorom. *Biomedicina*. 2011; 4: 96–7 (in Russian)
16. Lenka Vocilkovaa, Radka Opatrilova and Vladimir Srameka. Determination of Clopidogrel by Chromatography. *Current Pharmaceutical Analysis*. 2009; 5 (4): 1–8.
17. Lagorce P., Perez Y., Ortiz J., Necciari J., Bressollec F. Assay method for the carboxylic acid metabolite of clopidogrel in human plasma by gas chromatography–mass spectrometry. *J. Chromatogr. B*. 2008; 720 (1–2): 107–17.
18. Takahashi M., Pang H., Kawabata K., Farid N.A., Kurihara A. Stabilization of the clopidogrel active metabolite in whole blood and its assay in human plasma by LC/MS/MS. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2008; 48 (4): 1219–24.
19. Patel N.K., Subbaiah G., Shah H., Kundlik M., Shrivastav P.S. Rapid LC-ESI-MS-MS method for the simultaneous determination of clopidogrel and its carboxylic acid metabolite in human plasma. *J. Chromatogr. Sci.* 2008; 46 (10): 867–75.
20. Gosudarstvennaya Farmakopeya Rossijskoj Federacii, XIV izd., tom I, OFS.1.1.0022.18 «Mernaya posuda». [Elektronnoe izdanie]. Rezhim dostupa: <https://femb.ru/record/pharmaco-pea14>. [Data obrashcheniya 12 iyunya, 2022] (in Russian).
21. Bondar' V.S., Anosova L.S., Shovkovaya Z.V. Izolirovanie klopidogrelya i ego metabolita iz biomateriala. *Farmaciya Kazahstana*. 2013; 7: 34–7 (in Russian)
22. Bondar' V.S., Anosova L.S. Rozrobka metodiv identifikacii klopidogrelyu, pridatnih dlya himiko-toksikologichnogo analizu. *Farmaciya Ukraïni. Poglyad u majbutne: materiali VII Nac. z'izdu farmaceutiv Ukraïni, 15–17 veres. 2010 r., Harkiv. H.* 2010; 1: 137 (in Ukrain)
23. Bondar' V.S., Anosova L.S., Shovkova Z.V. Identifikaciya klopidogrelyu ta jogo metabolitu za dopomogoyu metodu tonkosharovoï hromatografii. *Ukr. med. al'm.* 2013; 16 (1): 50–2 (in Ukrain)
24. SOFT/AAFS Forensic Laboratory Guidelines. 2006; 24. [Электронный ресурс]. Available at: http://www.soft-tox.org/files/Guidelines_2006_Final.pdf
25. Gosudarstvennaya farmakopeya Rossijskoj Federacii. OFS.1.1.0012.15 «Validaciya analiticheskikh metodik». MZ RF. XIII izd. T. 1. Moskva, 2015; 1470 (in Russian).

Поступила 13 июля 2022 г.

Received 13 July 2022

Принята к публикации 18 августа 2022 г.

Accepted 18 August 2022