

# A CASE OF SUICIDAL POISONING WITH CINNARIZINE

Rafał CELIŃSKI, Małgorzata ALBERT, Zofia OLSZOWY,  
Joanna KULIKOWSKA

*Chair and Department of Forensic Medicine, Medical Academy, Katowice*

**ABSTRACT:** The authors present a case of a suicidal poisoning with cinnarizine, a drug administered in peripheral, cerebral, and central nervous system circulatory disturbances. TLC, TLC+UV, HPLC-DAD, and LC/MS were used for chemo-toxicological analysis.

**KEY WORDS:** Suicidal poisoning; Cinnarizine; Chemo-toxicological analysis; TLC; HPLC-DAD; LC/MS.

*Problems of Forensic Sciences, vol. LV, 2003, 67–75*  
*Received 17 October 2003; accepted 3 November 2003*

## INTRODUCTION

Cinnarizine (1-Cinnamyl-4-diphenylmethyl-piperazine, molecular weight = 368.52) is a calcium channel antagonist. Blocking the influx of calcium ions into the interior of vascular smooth muscle cells of blood vessels, it has antihistaminic, cholinolytic, and spasmolytic activity within blood vessels. It also exerts an antiemetic and sedating effect. Cinnarizine improves blood flow in vessels of the inner ear and retina, and in peripheral vessels. It prevents motion sickness, e. g. seasickness.

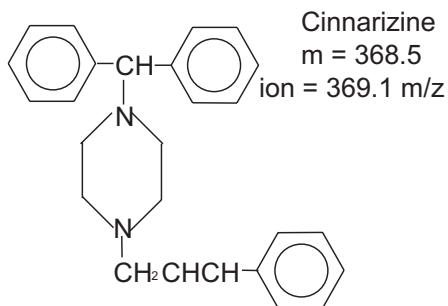


Fig. 1. The structural formula of cinnarizine.

Cinnarizine attains peak concentrations in the organism 2 to 4 hours after oral administration (the plasma concentration after a therapeutic 50 mg dose is about 0.08 µg/ml). Absorbed in the gastrointestinal tract, it undergoes metabolism in the liver and has a biological half-life of 3 to 6 hours. Cinnarizine is excreted in the urine and the faeces, partly in unchanged form.

Cinnarizine is applied in peripheral circulation disturbances (Raynaud's syndrome, intermittent claudication, muscular contractions), vessel distur-

bances within the central nervous system (e.g. in circulation disturbances of the vertebral-basal system), in ischaemia syndromes in ophthalmology, and helps in labyrinthine disorders (vertigo, tinnitus, nausea, vomiting), e.g. accompanying Meniere's disease.

Cinnarizine enhances the sedative effect of central nervous system depressants, including sedative-hypnotics, anxiolytics and also alcohol. The most frequent dosage: 25 mg tablet three times daily (daily dosage 75 mg, the maximum recommended daily dosage should not exceed 150 mg) [5].

### CASE HISTORY

A 59-year-old woman was found dead on the floor of the hall in her flat. The woman was dressed. The flat was kept in good order. The activity of a third party was not ascertained. A search of the rooms and kitchen in the flat revealed cardiac, hypotensive, and analgesic drugs, including Enarenal, Tertensif, Digoxin, Propranolol, Preductal, Sectral, Cinnarizine, and Diclofenac.

An autopsy was performed outside the Department of Forensic Medicine. No signs of external injury were revealed during the autopsy, but pathological changes within the circulatory system were observed. In the lumen of the trachea and bronchi a substantial quantity of vomit was found. About 30 white, partly softened tablets of 7 mm diameter were extracted out of the stomach.

### MATERIALS AND METHODS

Blood, stomach with contents, liver, and kidney were secured for chemotoxicological investigations.

The blood sample was examined for ethyl alcohol presence by GC and ADH methods.

The chemo-toxicological analysis for drug presence encompassed:

- ethanolic eluent from a tablet fragment isolated from the stomach and extracts from aqueous solutions of a tablet at acid and alkaline pH;
- ethanolic extracts of blood, stomach contents and kidney obtained from a varied pH medium with the use of liquid-liquid extraction after previous hydrolysis and deproteinisation of biological material by ammonium sulphate methods according to Borkowski [2].

In screening examinations, the TLC method using silica gel G with a fluorescent marker, F<sub>254</sub> (Merck), was applied. Plates were developed with the following solvent systems: chloroform-acetone (90:10) and methanol-ammonia (99:1). Searched substance zones were visualised by means of mercuric ni-

trate (I), Dragendorff's reagent,  $\text{FeCl}_3 + \text{D}$ , Marquis' reagent, and Braton-Marshall reaction and developed chromatograms were observed under UV light [3, 4].

Thin-layer chromatography together with UV spectrophotometric analysis and the LC/MS method were used for further identification. Quantification was done by the LC/MS method [1]. A Hitachi UV 2000 was used in the spectrophotometric examinations.

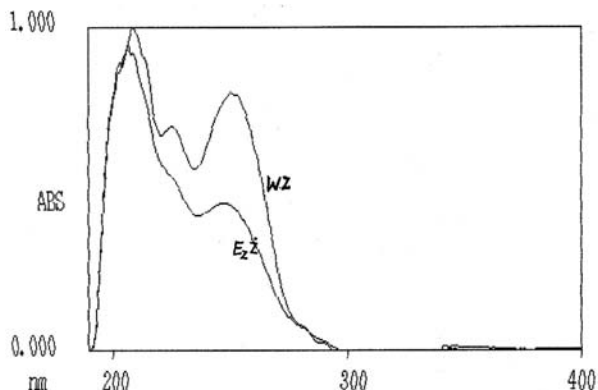


Fig. 2. The absorption curves of the cinnarizine standard and the eluent from TLC chromatogram zones with  $R_f$ .

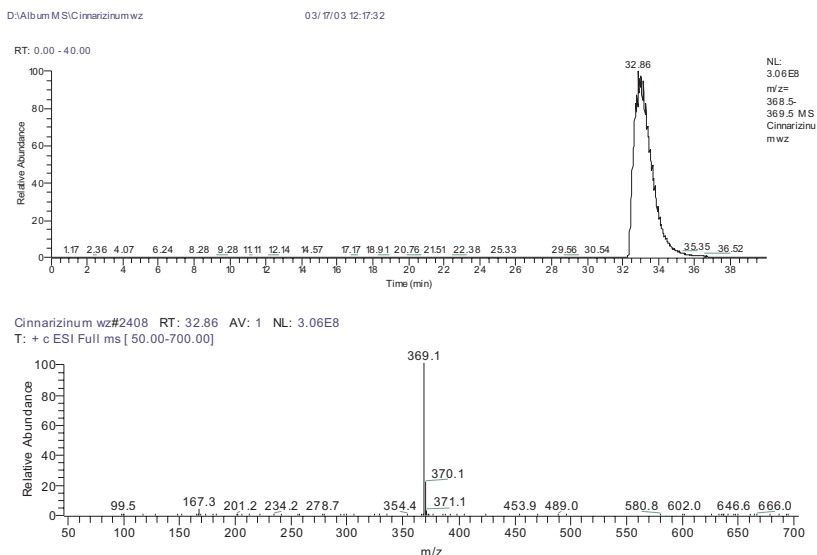


Fig. 3. LC/MS results gained for the cinnarizine standard.

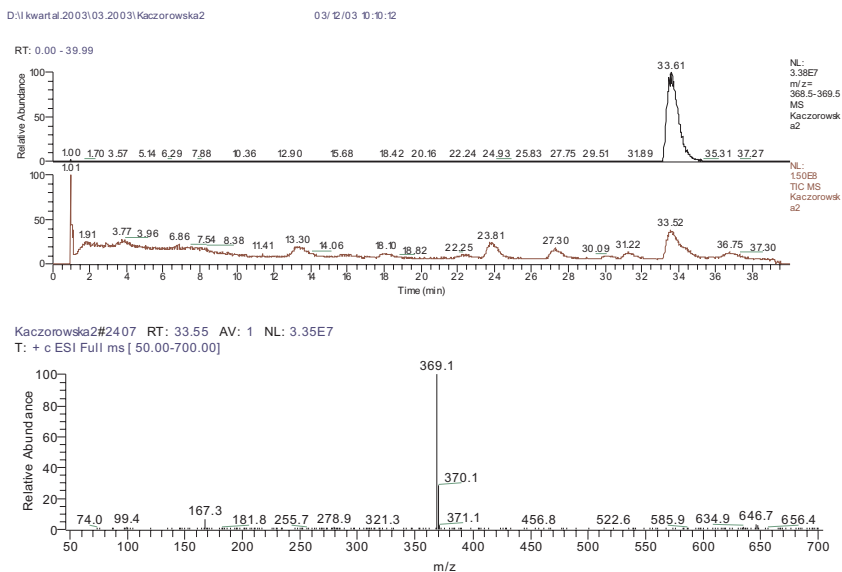


Fig. 4. LC/MS results for the blood alkaline extract.

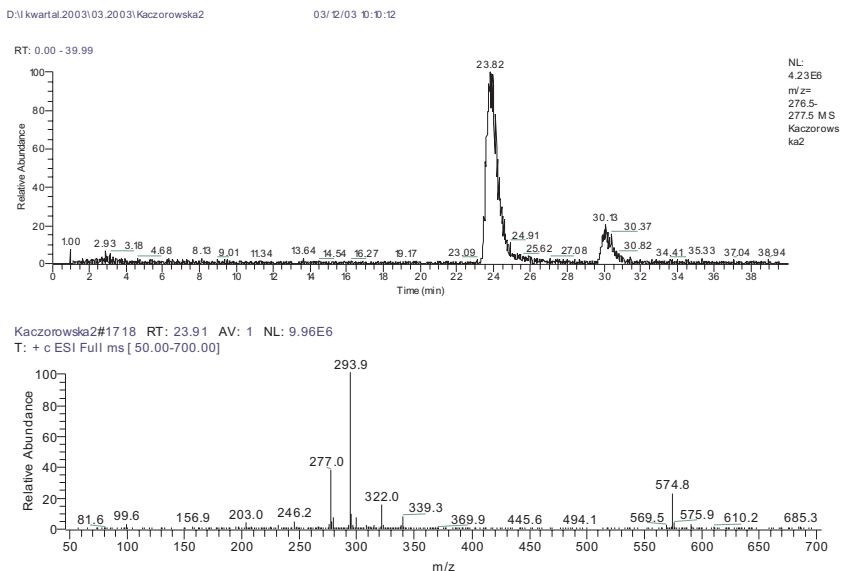


Fig. 5. The mass spectrum of the cinnarizine metabolite eluted from the TLC chromatogram zone ( $R_f = 80$ ) obtained for the blood alkaline extract.

LC/MS analysis was carried out with the use of Finnigan LQC Duo apparatus, equipped with a column of 125 mm length and 2.1 mm ID, with Hypersil BDS C-18 packing of 5  $\mu$ m grain diameter.

Separation of compounds was achieved using a pump working in a gradient system with 0.2 ml/min flow of mobile phase made up of a 0.05-molar solution of ammonium formate buffered to pH = 3.5 with formic acid and a mixture of acetonitrile and a solution of ammonium formate of pH = 3.5 in a 9:1 ratio. Duration of analysis was 40 minutes.

The compounds were identified by a mass detector (ion trap), using the electrospray ionisation (positive ions) method. Collision energy was in the range of 20–55%; and capillary temperature was 200°C .

The programme of the work of the pump was as follows:

- solution A: 0.05 M ammonium formate buffered with formic acid to pH = 3.5;
- solution B: acetonitrile-ammonium formate solution, pH = 3.5 (9:1).

TABLE I. PUMP WORK PROGRAMME

Time [min]	Solution A [%]	Solution B [%]
0	95	5
2	95	5
30	30	70
32	30	70
40	95	5

## RESULTS

Blood ethyl alcohol examination yielded a negative result.

Cinnarizine was determined in the ethanolic extract and in the alkaline extract of a tablet isolated from stomach by the TLC method. The unchanged form of the drug and considerable amounts of its metabolites were observed in alkaline extracts from stomach contents and blood. Only cinnarizine metabolites were ascertained in the alkaline extract from kidney.

In the ammonia-methanol (99:1) system,  $R_f$  – 80. Dragendorff's reagent dyed the substances orange, whereas the reaction with Mandelin's reagent produced green spots.

Analysis of the ether-acid and chloroform-alkaline extracts excluded the presence of drugs revealed in the flat of the deceased i.e. Enarenal, Tertensif, Digoxin, Propranolol, Preductal, Sectral, and Diclofenac, and also substances derived from amphetamine, barbituric acid, salicylic acid, bromoureides, pirazolone, sulfonamide, benzodiazepine, dibenzoazepine, and thioxanten. The examination did not reveal any of the following drugs either: Antineuralgine, Paracetamol, Noveril, Isoptin, Carbamazepine, Meprobra-

mate, Methaqualone, Parkopan, and Dolantin, or alkaloids including opium, raubasine, cocaine, quinine, and strychnine.

The absorption spectra for the substance with *Rf* ed the absorption curve of the cinnarizine standard with  $\lambda_{\max} = 251$  nm, obtained under the same analytical conditions.

Additional substances found in the biological extracts were acknowledged to be products of cinnarizine metabolism. Ions obtained as a result of fragmentation of the pseudomolecular ion with  $m/z = 369$  had masses corresponding to those of ions observed in alkaline extracts of the stomach, blood, and kidney.

The concentration of the unchanged form of cinnarizine in blood was  $1.1 \mu\text{g/ml}$  (the plasma cinnarizine concentration after a 50 mg dose is about  $0.08 \mu\text{g/ml}$  and is achieved after 2–4 h) [3].

1. The applied analytical procedure allowed us to identify the unchanged form of cinnarizine in a tablet retrieved from the stomach and in biological material, and also to determine the quantity in the blood.
2. The LC/MS method, in particular fragmentation of the cinnarizine pseudomolecular ion, enabled us to ascertain that the additional substances found in the biological material are metabolites of cinnarizine.
3. The number of cinnarizine tablets in the deceased's stomach (about 30) and the blood concentration of the unchanged form of the drug,  $1.1 \mu\text{g/ml}$ , indicate that in this case the therapeutic dose was greatly exceeded. Since cinnarizine is a drug of low toxicity, in accordance with the autopsy, the cause of the death was aspiration of vomit, causing choking. However, one can not exclude the influence of the ingested cinnarizine dose on the course of the incident.

#### References:

1. Bogusz M. J., Maier R. D., Krüger K. D. [et al.], Determination of common drugs of abuse in body fluids using one isolation procedure and liquid chromatography atmospheric-pressure chemical-ionization mass spectrometry, *Journal of Analytical Toxicology* 1998, vol. 22, pp. 549–558.
2. Borkowski T., Metoda wyosabniania trucizn organicznych z materiału biologicznego, *Archiwum medycyny sądowej i kryminologii* 1968, t. 18, s. 95–100.
3. Clarke's isolation and identification of drugs, The Pharmaceutical Press, London 1986.
4. Dłużniewska A., Kała M., Schemat identyfikacji trucizn organicznych, w szczególności leków, za pomocą chromatografii cienkowarstwowej, *Z zagadnień kryminalistyki* 1975, z. X, s. 49–61.
5. Podlewski J. K., Chwalibogowska-Podlowska A., *Leki współczesnej terapii*, Fundacja Büchnera, Warszawa 2001.

# PRZYPADEK SAMOBÓJCZEGO ZATRUCIA CYNARYZYNĄ

Rafał CELIŃSKI, Małgorzata ALBERT, Zofia OLSZOWY,  
Joanna KULIKOWSKA

## WSTĘP

Cynaryzyna (1-cynamylo-4-difenylometylopiperazyna; masa cząsteczkowa = 368,52) jest antagonistą kanałów wapniowych. Hamując napływ jonów wapnia do wnętrza komórek mięśni gładkich naczyń krwionośnych, działa przeciwhistaminowo, cholinolitycznie oraz spazmolitycznie w obrębie naczyń krwionośnych. Wykazuje także działanie przeciwwymiotne i uspokajające. Cynaryzyna poprawia przepływ krwi w naczyniach ucha wewnętrznego, siatkówki i w naczyniach obwodowych. Zapobiega chorobie lokomocyjnej, np. morskiej.

Cynaryzyna po podaniu doustnym największe stężenie w organizmie osiąga po 2–4 godzinach (jej stężenie w osoczu po dawce terapeutycznej 50 mg wynosi ok. 0,08 µg/ml). Wchłaniana w żołądku i jelicie, ulega przemianie metabolicznej w wątrobie; biologiczny okres półtrwania cynaryzyny wynosi 3–6 godzin. Wydalana jest z moczem i kałem, częściowo w postaci niezmienionej.

Cynaryzyna stosowana jest w zaburzeniach krążenia obwodowego (zespół Raynauda, chromanie przestankowe, skurcze mięśniowe); zaburzeniach naczyniowych w obrębie ośrodkowego układu nerwowego (np. w zaburzeniach krążenia w układzie kręgowo-podstawnym); w zespołach niedokrwiennych w okulistyce; pomocniczo w zaburzeniach błędnikowych (zawroty głowy, szum w uszach, nudności, wymioty), np. w zespole Meniere'a.

Cynaryzyna nasila działanie leków wpływających depresyjnie na ośrodkowy układ nerwowy: uspokajająco-nasennych, anksjolityków oraz alkoholu. Najczęściej dawkowana jest 3 razy dziennie po 25 mg (dawka dobową wynosi 75 mg, maksymalna dawka dobową 150 mg) [5].

## OPIS PRZYPADKU

Zwłoki 59-letniej kobiety zostały znalezione w jej mieszkaniu na podłodze w przedpokoju. Kobieta była ubrana. W mieszkaniu panował ład. Nie stwierdzono działania osób trzecich. Podczas przeszukania pomieszczeń pokojowych i kuchni znaleziono leki nasercowe i usprawniające krążenie oraz przeciwbólowe, jak: Enanrenal, Tertensif, Digoxin, Propranolol, Preductal, Sektral, Cynaryzyna i Diklofenak.

Sekcja zwłok przeprowadzona była poza Zakładem Toksykologii Sądowo-Lekarskiej. Nie stwierdzono żadnych obrażeń zewnętrznych, ujawniono natomiast zmiany chorobowe w obrębie układu sercowo-naczyniowego, zaś w świetle tchawicy i oskrzeli dużą ilość treści wymiotnej. Z żołądka denatki wydobyto około 30 białych, częściowo rozpulchnionych tabletek o średnicy 7 mm.

## MATERIAŁ I METODY

Do badań chemiczno-toksykologicznych zabezpieczono krew, żołądek z treścią, wątrobę i nerkę.

Badanie na obecność alkoholu etylowego przeprowadzono, analizując próbkę krwi metodą GC i ADH.

Analizą chemiczno-toksykologiczną mającą stwierdzić obecność leków objęto:

- eluat etanolewy fragmentu tabletki wyosobnionej z żołądka oraz ekstrakty uzyskane z roztworów wodnych tabletki o pH kwaśnym i alkalicznym;
- etanolewe wyciągi krwi, treści żołądkowej i nerki uzyskane na drodze ekstrakcji ciecz: ciecz ze środowiska o zróżnicowanym pH po uprzedniej hydrolizie i odbiałczeniu materiału biologicznego metodą siarczanowo-amonową wg Borkowskiego [2].

W badaniach przesiewowych zastosowano metodę TLC na żelu krzemionkowym G ze znacznikiem fluorescencyjnym  $F_{254}$  firmy Merck. Płytki rozwijano w układach chloroform : aceton (90:10) i metanol : amoniak (99:1). Do wizualizacji stref szukanych substancji zastosowano odczynniki: azotan rtęci (I), odczynnik Dragendorffa,  $FeCl_3 + D$ , odczynnik Marquisa i reakcję Bratona-Marshala oraz obserwację rozwiniętych chromatogramów w świetle ultrafioletowym [3, 4].

Do dalszej identyfikacji substancji wykorzystano chromatografię cienkowarstwową w połączeniu z spektrofotometrią w świetle UV oraz metodę LC/MS. Do oznaczeń ilościowych użyto metody LC/MS [1].

W badaniach spektrofotometrycznych zastosowano aparat firmy Hitachi UV 2000.

Analizę LC/MS przeprowadzono za pomocą aparatu firmy Finnigan LCQ Duo wyposażonego w kolumnę o długości 125 mm i o średnicy 2,1 mm z wypełnieniem Hypersil BDS C-18 o średnicy ziaren 5  $\mu m$ .

Rozdziału związków dokonano w systemie gradientowym pracy pompy przy przepływie fazy ruchomej złożonej z 0,05-molowego roztworu mrówczanu amonu zbuforowanego do pH = 3,5 kwasem mrówkowym i mieszaniny acetonitrylu z roztworem mrówczanu amonu o pH = 3,5 w stosunku 9:1, 0,2 ml/min. Czas analizy wynosił 40 min.

Związki identyfikowano w detektorze mas (pułapka jonowa), stosując metodę jonizacji dodatniej ESI (*electrospray*). Energia kolizji wynosiła 20–55%, a temperatura kapilary 200°C.

Program pracy pompy był następujący:

- roztwór A: 0,05 M mrówczan amonu zbuforowany kwasem mrówkowym do pH = 3,5;
- roztwór B: acetonitryl : roztwór mrówczanu amonu o pH = 3,5 (9:1).

## WYNIKI BADAŃ

Badanie na obecność alkoholu etylowego we krwi dało wynik ujemny.

Metodą TLC wykazano obecność cynaryzyny w etanolewym wyciągu oraz ekstrakcie zasadowym tabletki wyjętej z żołądka. Niezmienioną formę tego leku, jak i znaczne ilości metabolitów, obserwowano w ekstraktach zasadowych z treści żołądkowej i krwi. W ekstrakcie zasadowym z nerki stwierdzono jedynie obecność metabolitów cynaryzyny.



W układzie: metanol : amoniak (99:1)  $Rf \times 100$  dla formy niezmienionej cynaryzyny wynosiło 73, a dla metabolitu – 80. Odczynnik Dragendorffa wybarwiał substancje na pomarańczowo, w reakcji z odczynnikiem Mandelina uzyskano natomiast plamy o barwie zielonej.

W ekstraktach eterowo-kwaśnych i chloroformowo-zasadowych wykluczono obecność leków zabezpieczonych w mieszkaniu denatki, tj. Enarenału, Tertensifu, Digoxiny, Propranololu, Preductalu, Sektralu i Diklofenaku, a także substancji z grupy pochodnych amfetaminy, kwasu barbiturowego, kwasu salicylowego, bromoureidów, pyrazolonu, sulfonoamidu, benzodiazepiny, dibenzoazepiny i tioksantenu. Nie stwierdzono również obecności następujących leków: Antyneuralginy, Paracetamolu, Noverilu, Izoptinu, Karbamazepiny, Meprobamatu, Metaqualonu, Parko-panu i Dolantyny, a także alkaloidów: opium, rauwolfii, kokainy, chininy i strychniny.

Sporządzone widma absorpcji dla substancji o  $Rf \times 100 = 73$  występującej w eluacie z tabletki, ekstrakcie zasadowym tabletki i ekstrakcie zasadowym treści żołądkowej wyeluowanej za pomocą 0,5 N  $H_2SO_4$  z chromatogramu cienkowarstwowego miały kształt i przebieg zgodny z krzywą absorpcji wzorcowej cynaryzyny o  $\lambda_{max} = 251$  nm uzyskaną w tych samych warunkach analitycznych.

Czas retencji ( $t = 33$  min) dla substancji występującej w eluacie etanolowym tabletki i jej ekstrakcie zasadowym oraz w ekstraktach zasadowych treści żołądkowej i krwi był zgodny z czasem retencji cynaryzyny. Uzyskany jon pseudomolekularny o masie  $m/z = 369$  występujący w badanym materiale był taki sam, jak uzyskany w wyniku jonizacji wzorcowej cynaryzyny.

Występujące w ekstraktach biologicznych dodatkowe substancje uznano jako produkty przemiany metabolicznej cynaryzyny. Otrzymane w wyniku fragmentacji jonu pseudomolekularnego  $m/z = 369$  jony miały masy odpowiadające masom jonów obserwowanych w ekstraktach zasadowych żołądka, krwi i nerki.

Stężenie niezmienionej formy cynaryzyny we krwi wynosiło 1,1  $\mu\text{g/ml}$  (stężenie cynaryzyny w osoczu po dawce terapeutycznej 50 mg wynosi ok. 0,08  $\mu\text{g/ml}$  i osiągane jest po 2–4 h) [3].

#### PODSUMOWANIE

1. Zastosowana procedura analityczna pozwoliła na identyfikację formy niezmienionej cynaryzyny w tabletkce wydobytej z żołądka i w materiale biologicznym oraz na oznaczenie ilościowe we krwi.
2. Metoda LC/MS, a zwłaszcza przeprowadzenie fragmentacji jonu pseudomolekularnego cynaryzyny, umożliwiła stwierdzenie, że dodatkowe substancje w materiale biologicznym to metabolity cynaryzyny.
3. Liczba tabletek cynaryzyny w żołądku denatki (ok. 30 sztuk) oraz wykazane w jej krwi stężenie formy niezmienionej leku – 1,1  $\mu\text{g/ml}$  wskazują, iż dawka terapeutyczna cynaryzyny została w tym przypadku znacznie przekroczona. Ponieważ cynaryzna jest lekiem mało toksycznym, zgodnie z wynikiem badania sekcyjnego przyczyną zgonu denatki było zachłyśnięcie się treścią wymiotną, powodujące uduszenie. Nie można jednak wykluczyć wpływu przyjętej dawki cynaryzyny na przebieg zdarzenia.