

DETERMINATION OF ENANTIOMERS OF VERAPAMIL IN A CASE OF ACUTE POISONING

Wojciech PIEKOSZEWSKI^{1, 2}, Jolanta WILIMOWSKA²,
Ewa KRZYŻANOWSKA-KIEREPKA³, Ewa FLOREK⁴

¹*Institute of Forensic Research, Cracow*

²*Department of Analytical Toxicology and Therapeutic Drug Monitoring,
Collegium Medicum, Jagiellonian University, Cracow*

³*Toxicology Clinic, Collegium Medicum, Jagiellonian University, Cracow*

⁴*Laboratory of Environmental Research, Department of Toxicology, Uni-
versity of Medical Sciences, Poznań*

ABSTRACT: A 52-year-old woman with a history of depression with personality disorders, hypertension, coronary disease and asthma was admitted to the Toxicology Clinic after taking sixty tablets of Staveran and four tablets of analgesics. One and a half hours after ingestion, her condition was critical. She required endotracheal intubation and artificial respiration. Her heart rate was 75 beats per minute and her blood pressure dropped from 70/50 to 50/00 mm Hg. Additionally, drowsiness and headache were observed. On admission, the verapamil R-(+)- and S-(-)-enantiomers serum concentrations were 2.3 µg/ml and 0.8 µg/ml, respectively. Monitoring of the verapamil serum concentration was carried out over a period of 74 hours. Terminal elimination half-lives were 18.7 hours and 17.0 hours respectively for R-(+)- and S-(-)-verapamil enantiomers. The ratio of enantiomer S/R concentrations was concentration dependent and decreased in parallel with decrease of verapamil concentration. Monitoring of verapamil enantiomers concentration in serum indicated a higher concentration of the less active form and faster elimination of the more active enantiomer.

KEY WORDS: Chiral liquid chromatography; Verapamil overdose; Pharmacokinetics.

Problems of Forensic Sciences, vol. LVIII, 2004, 112–120

Received 21 November 2004; accepted 20 December 2004

INTRODUCTION

Verapamil is a calcium channel blocker, (synthetic papaverine derivative) used in clinical practice for treatment of circulatory system diseases, especially in controlling arterial hypertension, angina pectoris and supraventricular arrhythmias. It is a chiral drug used in the form of a racemic mixture in medical treatment. The stereoselective properties of verapamil, caused by an asymmetric centre within its molecular structure, indicate the

existence of two enantiomers of verapamil, which differ in their pharmacology and kinetics [1]. The pharmacological properties (i.e. the negative dromotropic effect) are up to 20 times more potent for S-(–)-verapamil than R-(+)-verapamil. Also, pharmacokinetic parameters vary. Both enantiomers of verapamil are metabolised mainly by CYP3A4, CYP1A2 and CYP2C; however S-(–)-verapamil is preferentially metabolised. As a consequence, serum levels of the S-(–)-enantiomer are always lower than those of the less active R-(+)-enantiomer. After intravenous administration, the S to R serum concentration ratio is around 0.5, but after oral administration, it decreases to 0.2, which is caused by extensive stereoselective presystemic first-pass metabolism [4]. The medical literature cites a few cases of verapamil poisoning with clinical courses [5].

This paper describes a case of monitoring of acute verapamil poisoning by measurement of the concentration of its enantiomers in serum.

CASE REPORT

A 52-year-old woman was admitted to the Toxicology Clinic, on suspicion of oral verapamil (Staveran) intoxication. The patient had intentionally ingested a large amount – about 60 tablets – of verapamil preparation of unknown dose (probably 2.4–4.8 g in total) and 4 tablets of analgesic, one and a half hours before hospitalisation. The medication belonged to the patient, who had a medical history of depression with personality disorders, hypertension, coronary disease and asthma.

On arrival at the Emergency Room, the woman was in critical condition – in cardiogenic shock, pale, somnolent, with filiform pulse. First, she was admitted to Intensive Care. She had a respiratory rate of 16 breaths per minute, blood pressure (BP) varying from 70/50 to 50/00 mm Hg and her pulse rate was 75 beats per minute (bpm). A physical examination did not reveal anything unusual. The patient was endotracheally intubated, artificially ventilated and subjected to cardiopulmonary resuscitation. An electrocardiogram revealed a pathological levogram, a normal sinus rhythm at a rate of 75 bpm, a first degree atrioventricular block, left bundle-branch block, lack of progression of R wave in precordial leads. A winged catheter was introduced into the patient. The unstable condition of the patient contraindicated performing gastrointestinal decontamination. An infusion of Gela-fungin was given. Low blood pressure was managed with pressor amines (Levonor or Dobutrex) in an infusion pump and intravenous fluids. After four days of treatment, the main condition was improved and the patient was extubated in a hemodynamically and respiratorily stable condition and moved to a normal ward. The patient still suffered drowsiness, headaches

and cough, which remained after cessation of intubation. After normalisation of blood pressure, doses of pressor amines were gradually reduced and gastrointestinal decontamination was performed, but tablet remains were not recovered. On the fifth day, the woman's condition deteriorated, with pathological changes in the lung in the form of dry and whistling rales without a fever. Therapeutic intervention included treatment with Theospirex, Prestarium, Molsidomin, nitrate and antiplatelet drugs. Extracorporeal elimination was not performed, nor were specific antidotes given. Gradually, the patient stabilised and at 11 days was fully recovered and discharged from the hospital.

In laboratory testing, the blood ethanol concentration was negative, and the acetaminophen level was in the therapeutic range (25 mg/l). Biochemical tests, coagulation tests, a complete blood count and electrolytes were normal except for the potassium level, which was low and was supplemented by potassium administration.

In toxicological analysis, verapamil enantiomers were detected in serum by high performance liquid chromatography with a fluorescence detector (excitation at 230 nm, emission at 312 nm) developed by us [7].

Next, stereoselective analysis of verapamil after liquid/liquid extraction (hexane) was achieved on a ChiraDex. A mobile phase of 5% triethylamine acetate (acidified with acetic anhydride to pH 4.5) – methanol (80:20, v/v) was used. The limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) for the S-(–)- and R-(+)-enantiomer were respectively: LOD: 0.7 ng/ml and 0.6 ng/ml; LOQ: 2.6 ng/ml and 2.2 ng/ml.

Serum concentrations of the verapamil enantiomers were measured on admission to the Toxicology Clinic (1.5 hours post-ingestion) and over a period of 74 hours of hospitalization. The maximum verapamil levels were 2.25 and 0.81 µg/ml for the R-(+)- and S-(–)-enantiomers, respectively, and decreased after 74 hours to values of 0.113 and 0.024 µg/ml (Figure 1). During elimination of the drug, the ratio of enantiomer S to R decreased. After admission to the clinic, the ratio was around 0.4 and dropped to a value of 0.2 after 74 hours of treatment (Figure 2).

Terminal elimination half-lives were 18.7 and 17.0 hours, respectively for R-(+)- and S-(–)-verapamil enantiomers.

DISCUSSION

In case reports of verapamil poisoning, bradycardia and conduction defects are among the most frequent findings. The latter include varying degrees of AV block and dissociation, junctional or idioventricular rhythms, and occasionally bundle branch block and asystole. Hypotension is present

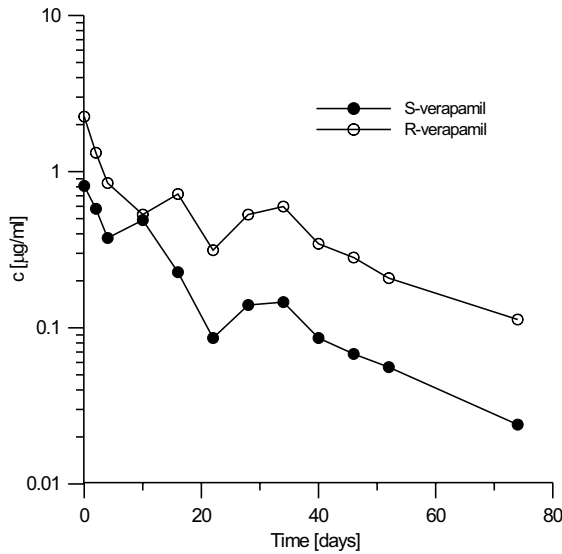


Fig. 1. Serum concentrations of the verapamil enantiomers.

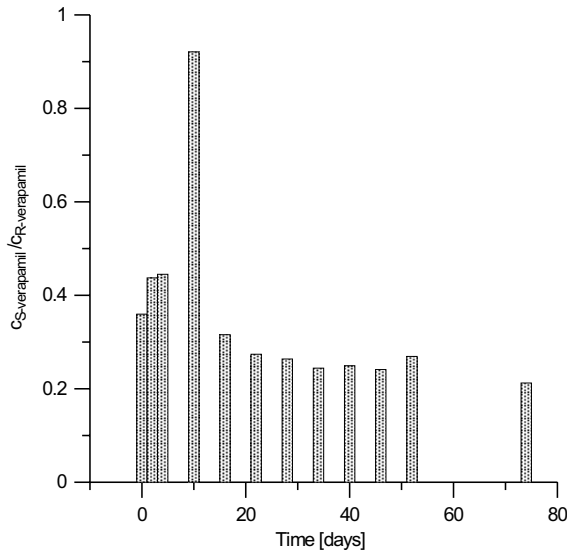


Fig. 2. The ratio of concentrations of the verapamil enantiomers.

in most significant exposures. Verapamil also induces peripheral vasodilatation. An overdose of calcium blockers often induces a change in mental status, such as confusion or agitation. Dizziness, lethargy and slurred speech are also common. Nausea and vomiting can often occur in poisoning by verapamil [3].

Our case was mainly characterised by cardiovascular effects with severe bradycardia, hypotension and atrioventricular block. The patient recovered after receiving typical cardiovascular treatment.

Verapamil is reported to be almost completely absorbed after oral administration, but undergoes extensive first-pass metabolism, achieving a bio-availability equal to, on average, 20%. Elimination of verapamil is highly dependent on hepatic metabolism. All clinical states of impaired liver influence the pharmacokinetics of verapamil. Furthermore, long-term oral maintenance therapy or acute overdose with verapamil is conducive to saturation of drug metabolism and prolonged clearance of the drug from the body [3, 6, 8].

In the reported case, the maximum verapamil level was 3.06 µg/ml (sum of enantiomers), which is at least 30 times higher than the expected therapeutic range (0.015–0.100 µg/ml).

The elimination half-life normally ranges from 3 to 7 hours, increasing during long term oral dosing and in subjects with liver disease. In our patient, the elimination half-life was 18 hours. Buckley and Aronson also observed a similarly long elimination half-life (15 h) in a man who had survived after ingestion of 2.4 g of verapamil [2].

Our study supports findings concerning faster elimination and lower concentration of the biologically more active S-(–)-verapamil enantiomer, which is clearly demonstrated by a decrease in the S/R enantiomers ratio. The two times higher S/R ratio observed in this case compared with the ratio observed in therapeutic cases supports the hypothesis about saturation of metabolic enzymes after overdosing of verapamil.

Further observations are needed to conclude whether the concentration of S-(–)-verapamil enantiomer correlated with the clinical condition of acutely poisoned patients better than the racemate concentration.

References:

1. Brocs D. R., Jamali F., Stereochemical aspects of pharmacotherapy, *Pharmacotherapy* 1995, vol. 15, pp. 551–564.
2. Buckley C. D., Aronson J. K., Prolonged half-life of verapamil in a case of overdose: Implications for therapy, *British Journal of Clinical Pharmacology* 1995, vol. 39, pp. 680–683.
3. Finucci G. F., Padrini R., Piovan D. [et al.], Verapamil pharmacokinetics and liver function in patients with cirrhosis, *International Journal of Clinical Pharmacology Research* 1988, vol. 8, pp. 123–126.
4. Karim A., Piergies A., Verapamil stereoisomerism: enantiomeric ratios in plasma dependent on peak concentrations, oral input rate, or both, *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 1995, vol. 58, pp. 174–184.

5. Pearingen P. D., Benowitz N. L., Poisoning due to calcium antagonists. Experience with Verapamil, Diltiazem and Nifedipine, *Drug Safety* 1991, vol. 6, pp. 408–430.
6. Vlcek J., Macek K., Hulek P. [et al.], Pharmacokinetic parameters of Verapamil and its active metabolite norverapamil in patients with hepatopathy, *Drug Research* 1995, vol. 45, pp. 146–149.
7. Wilimowska J., Piekoszewski W., Florek E., The methodology of the stereoselective determination of verapamil in serum [in press].
8. Woodcock B. G., Rietbrock I., Vohringer H. F. [et al.], Verapamil disposition in liver disease and intensive-care patients: Kinetics, clearance, and apparent blood flow relationships, *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 1981, vol. 29, pp. 27–34.

OZNACZENIA ENANCJOMERÓW WERAPAMILU W PRZYPADKU OSTREGO ZATRUCIA

Wojciech PIEKOSZEWSKI, Jolanta WILIMOWSKA,
Ewa KRZYŻANOWSKA-KIEREPKA, Ewa FLOREK

WSTĘP

Werapamil (syntetyczna pochodna papaweryny) jest blokerem kanałów wapniowych stosowanym w praktyce klinicznej chorób układu krążenia głównie w nadkomorowych arytmiiach, chorobie wieńcowej oraz łagodnym nadciśnieniu tętniczym. Jest on lekiem chiralnym stosowanym w leczeniu w formie mieszaniny racemicznej. Właściwości stereoselektywne werapamilu rozpoznawane są przez obecność w cząsteczce centrum asymetrii, co warunkuje występowanie pary substancji będących dla siebie odbiciami lustrzanymi, które różnią się między sobą właściwościami farmakologicznymi i farmakokinetycznymi [1]. S-(–)-enancjomer werapamilu jest głównie odpowiedzialny za wydłużenie przewodzenia przedsionkowo-komorowego (ujemne działanie dromotropowe) i działanie przeciwartmiczne o sile do 20 razy większej w porównaniu z R-(+)-enancjomerem. Różnice występują również w parametrach farmakokinetycznych. Oba enancjomery werapamilu metabolizowane są przy udziale CYP3A4, CYP1A2 oraz CYP2C, jednak S-(–)-werapamil metabolizowany jest preferencyjnie. W konsekwencji wykazano niższe stężenie S-(–)-werapamilu w porównaniu do mniej aktywnej formy R-(+)-werapamilu. Dodatkowo droga podania leku wpłynęła na zmianę stosunku stężeń enancjomerów S/R. Stereoselektywny metabolizm werapamilu przez wątrobę w efekcie pierwszego przejścia był przyczyną zmiany stosunku stężeń enancjomerów S/R z 0,2 po podaniu doustnym na 0,5 przy dożylnym podaniu [2]. Literatura opisuje kilka przypadków zatrucia werapamilem [3].

Niniejsza praca prezentuje przypadek monitorowania zatrucia werapamilem poprzez pomiar stężeń jego enancjomerów w surowicy.

OPIS PRZYPADKU

Do Kliniki Toksykologii Collegium Medicum UJ została przyjęta 52-letnia kobieta z podejrzeniem doustnego zatrucia preparatem werapamilu – Staveranem. Pacjentka na około 1,5 godziny przed hospitalizacją zażyła samobójczo dużą ilość – około 60 tabletek – nieokreślonej dawki preparatu werapamilu (prawdopodobnie łącznie 2,4 do 4,8 g) i 4 tabletki nieznanego leku przeciwbólowego. Z wywiadu wynikało, że pacjentka leczona była z powodu depresji z zaburzeniami osobowości, nadciśnienia tętniczego, choroby wieńcowej oraz astmy.

Przy przyjęciu do izby przyjęć kliniki toksykologicznej była w stanie ogólnym ciężkim – we wstrząsie, blada, podspiająca, z nitkowanym tętnem na obwodzie, liczba oddechów wynosiła 16 na minutę, ciśnienie tętnicze krwi wahało się pomiędzy 70/50 mm Hg do 50/00 mm Hg, a tętno wynosiło 75 uderzeń na minutę. W badaniu fi-

zykalnym nie obserwowano innych odchyłeń od normy. Pacjentka wymagała intubacji dotchawiczej i sztucznej wentylacji. Wykonano elektrokardiogram, który wykazał lewogram patologiczny, rytm zatokowy miarowy, około 75 uderzeń na minutę, blok przedsionkowo-komorowy I stopnia, blok lewej odnogi pęczka Hisa oraz brak progresji załamka R w odprowadzeniach przedsercowych. Pacjentkę zacewnikowano. Z uwagi na jej niestabilny stan w chwili przyjęcia, odstąpiono od wykonania zabiegu płukania żołądka. Utrzymanie prawidłowego ciśnienia tętniczego krwi wymagało wlewu płynów izotonicznych, krystaloidów (Gelafungin), a następnie amin presyjnych (Levonor lub Dobutrex). Po normalizacji ciśnienia tętniczego krwi wykonano zabieg płukania żołądka, nie uzyskując masy tabletkowej. Podczas czterech dni leczenia na oddziale intensywnej terapii stopniowo redukowano aminy presyjne, uzyskując ogólną poprawę. Pacjentkę ekstubowano i wyrównaną krążeniowo oraz oddechowo przeniesiono na oddział toksykologii. Podczas dalszej obserwacji pacjentka skarżyła się na uporczywe bóle głowy i kaszel. Piątego dnia terapii stan pacjentki pogorszył się. W płucach stwierdzono liczne zmiany o typie furczy i świstów bez podwyższonej gorączki, co odniesiono do zaostrzenia objawów astmy oskrzelowej. Do leczenia włączono Theospirex, Prestarium, Molsidomin, azotany i leki przeciwplytkowe. Po zastosowanym leczeniu objawowym stan pacjentki poprawiał się i pozwolono jej wstawać z łóżka. Jedenastego dnia hospitalizacji chora powróciła do zdrowia i została wypisana ze szpitala.

W badaniach laboratoryjnych nie wykazano obecności etanolu w krwi, natomiast stężenie acetaminofenu znajdowało się w zakresie stężeń terapeutycznych (25 mg/l). Badania biochemiczne, koagulologiczne, liczba krwinek czerwonych i poziom elektrolitów mieściły się w normie z wyjątkiem poziomu jonów potasu. Hipokaliemię korygowano dożylnym wlewem potasu. W badaniach toksykologicznych oznaczono stężenia enancjomerów werapamilu w surowicy, wykorzystując własną metodykę wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją fluorescencyjną ($\lambda_{\text{wzbudzenia}} = 230 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{emisji}} = 312 \text{ nm}$) [4]. Stereoselektywny rozdział enancjomerów werapamilu został uzyskany na kolumnie chiralnej ChiraDex po wcześniejszej ekstrakcji heksanem ciec-ciecz. Fazę ruchomą stanowiła mieszanina 5% octanu trietyloamonowego (zakwaszonego kwasem octowym do pH 4,5) i metanolu w stosunku 80:20 (v/v). Metoda oznaczenia enancjomerów werapamilu osiągała granicę wykrywalności (LOD) i granicę oznaczalności odpowiednio równą dla S(-) i R-(+)-enancjomerów werapamilu: LOD: 0,7 ng/ml i 0,6 ng/ml; LOQ: 2,6 ng/ml i 2,2 ng/ml.

Stężenia enancjomerów werapamilu były mierzone w surowicy krwi przy przyjęciu do kliniki toksykologii (1,5 godziny od zażycia leku) i przez okres 74 godzin hospitalizacji. Maksymalne stężenia izomerów optycznych werapamilu wynosiły 2,25 $\mu\text{g/ml}$ i 0,81 $\mu\text{g/ml}$ odpowiednio dla R-(+) i S(-)-enancjomeru, które po 74 godzinach obniżyły się do wartości 0,113 $\mu\text{g/ml}$ i 0,024 $\mu\text{g/ml}$ (rycina 1).

Podczas eliminacji leku stosunek enancjomerów S/R ulegał zmniejszeniu. Przy przyjęciu do Kliniki Toksykologii stosunek S/R wynosił około 0,4, a następnie spadł do wartości 0,2 po 74 godzinach hospitalizacji (rycina 2).

Biologiczne okresy półtrwania dla R-(+) i S(-)-enancjomerów werapamilu wynosiły odpowiednio 18,7 i 17,0 godzin.

DYSKUSJA WYNIKÓW

Do najczęściej opisywanych objawów zatrucia werapamilem zalicza się bradykardię i zaburzenia przewodnictwa w postaci różnego stopnia bloków przedsionkowo-komorowych, w tym bloku przedsionkowo-komorowego III stopnia, sporadycznie bloków odnogi pęczka Hisa, zaburzenia rytmu o typie rytmu komorowego, charakterystycznego rytmu z łącza przedsionkowo-komorowego oraz zatrzymanie krążenia w mechanizmie asystoli. Istotnym objawem towarzyszącym większości zatruc werapamilem jest spadek ciśnienia tętniczego wywołany rozszerzeniem naczyń na obwodzie. Zatrucia blokerami kanałów wapniowych są często przyczyną zmiennych stanów świadomości, takich jak stan splanata lub pobudzenia. Zwykle obserwowano zawroty głowy, śpiączkę oraz mowę zamazaną. W zatruciu werapamilem często pojawiają się nudności i wymioty [3].

W opisywanym przypadku dominowały głównie objawy krążeniowe z ciężką bradykardią, spadkiem ciśnienia tętniczego krwi i blokiem przedsionkowo-komorowym. Pacjentka powróciła do zdrowia po zastosowaniu leczenia objawowego.

Werapamil prawie całkowicie wchłania się po podaniu doustnym, jednak ulega znacznemu metabolizmowi w efekcie pierwszego przejścia, osiągając biodostępność równą średnio 20%. Eliminacja werapamilu jest ściśle zależna od metabolizmu wątrobowego. Wszystkie stany upośledzenia wątroby mają zatem wpływ na farmakokinetykę wątroby. Również przewlekła terapia podtrzymująca lub ostre zatrucia werapamilem prowadzą do wysycenia metabolizmu i wydłużenia czasu oczyszczania organizmu z leku [5, 6, 7].

W opisywanym przypadku stężenie maksymalne werapamilu wynosiło 3,06 µg/ml (suma enancjomerów), co stanowi około 30-krotne przekroczenie wymaganego zakresu stężeń terapeutycznych (0.015–0.100 µg/ml).

Biologiczny okres półtrwania werapamilu waha się zwykle w granicach od 3 do 7 godzin, podczas gdy w przewlekłej terapii doustnej i u osób z chorobami wątroby ulega wydłużeniu. W opisywanym przypadku biologiczny okres półtrwania wynosił 18 godzin. Buckley i Aronson obserwowali podobną wartość biologicznego okresu półtrwania (15 h) u mężczyzny ostro zatrutego werapamilem dawką 2,4 g [8].

Badania autorów niniejszej pracy potwierdzają wyniki mówiące o szybszej eliminacji i niższym stężeniu aktywnego biologicznie S-(–)-enancjomeru werapamilu. Dowodem tej tezy jest mniejszy i malejący w trakcie obserwacji stosunek stężeń enancjomerów S/R. Dwa razy większy stosunek stężeń enancjomerów S/R w porównaniu do obserwowanych w przypadkach terapeutycznych podtrzymuje hipotezę o wysyceniu enzymów metabolizujących w przedawkowaniu werapamilu.

Potrzebne są dalsze obserwacje, aby stwierdzić, czy stężenie S-(–)-enancjomeru werapamilu w lepszy sposób koreluje ze stanem klinicznym pacjentów ostro zatrutych werapamilem niż stężenie racematu.