ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ГИДАЗЕПАМА, ЕГО МЕТАБОЛИТОВ И ПРОДУКТОВ ГИДРОЛИЗА

Савченко М. А., Петюнин Г. П.

Рассмотрены результаты взаимодействия гидазепама, его метаболитов и продуктов гидролиза с различными реактивами для дериватизации. Представлены экспериментальные данные хроматографических исследований полученных дериватов с помощью газожидкостной хроматографии.

Ключевые слова: гидазепам, метаболиты, дериватизация, газожидкостная хроматография.

GAS CHROMATOGRAPHY STUDY OF HYDAZEPAM, ITS METABOLITES AND HYDROLYSIS PRODUCTS

Savchenko M. A., Petiunin H. P.

The article deals with the outcomes of interaction between hydazepam, its metabolites and hydrolysis products with various agents to achieve derivatization. It also present experimental data of chromatography study of the obtained derivatives with the use of gas-liquid chromatography.

Keywords: hydazepam, metabolites, derivatization, gas-liquid chromatography.

УДК 343.98:340.67, 547.26

К. М. Даньшина, старший науковий співробітник Харківського НДІСЕ

ДОСЛІДЖЕННЯ НАРКОТИЧНИХ, СИЛЬНОДІЮЧИХ, ОТРУЙНИХ, ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ ТА ПСИХОТРОПНИХ РЕЧОВИН В АЛКОГОЛЬНИХ І БЕЗАЛКОГОЛЬНИХ НАПОЯХ МЕТОДОМ ТОНКОШАРОВОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ СКРИНІНГУ

Наведено експериментальні дані щодо виявлення наркотичних, сильнодіючих, отруйних лікарських засобів та психотропних речовин в алкогольних і безалкогольних напоях методом тонкошарової хроматографії. Викладено детальний хід скринінгового дослідження.

Ключові слова: тонкошарова хроматографія, хроматографічні плями, скринінг, діюча речовина, лікарський засіб.

Використання не з медичними цілями лікарських засобів, віднесених до сильнодіючих, отруйних, наркотичних або психотропних речовин, має місце як в Україні, так і за її межами, що завдає великої шкоди здоров'ю людей і призводить до соціальної небезпеки. При розслідувані отруєнь, зґвалтувань, крадіжок, убивств, махінацій та інших злочинів в експертні установи слідчими органами на дослідження надсилаються різноманітні напої – як алкогольні, так і безалкогольні. Перед експертами виникає необхідність вирішення діагностичних завдань, пов'язаних з визначенням наявності й природи лікарських наркотичних, сильнодіючих, отруйних засобів, психотропних

© Даньшина К. М., 2013

речовин або їх сумішей у складі наданих на дослідження об'єктів. Зазначені групи лікарських засобів і психотропні речовини (кустарного чи заводського виготовлення) є неоднорідними за природою та хімічними властивостями. За хімічною класифікацією до них належать похідні: пірозолону, 1,4-бенздіазепіну, імідозоліну, фенотіазину[1], фенілалкіламіну, фенілпропаноламіну, барбітурової й саліцилової кислот, алкалоїди різних хімічних груп (пурину, тропану, ізохіноліну та ін.), синтетичні лікарські засоби основного характеру (промедол, фентаніл, клофелін, дімедрол та ін.)[2].

Важливим етапом для вирішення поставленого завдання стало введення окремих експертних спеціальностей: 8.6 «Дослідження наркотичних засобів, психотропних речовин, їх аналогів та прекурсорів» (1995 р.) і 8.13 «Дослідження сильнодіючих і отруйних речовин» (2005 р.) у сфері експертних установ Міністерства юстиції України.

Експертні дослідження наркотичних, сильнодіючих, отруйних лікарських засобів, наданих у вигляді лікарських форм, які відпускаються з аптечних установ, проводяться відповідно до спеціальних нормативно-аналітичних документів і методичної літератури. При цьому застосовуються сучасні хімічні й інструментальні методи досліджень (газова хроматографія, газорідинна хроматографія, хромато-мас-спектрометрія, спектрофотометричне дослідження в ультрафіолетових променях (УФ-промені) та інфрачервоних променях (ІЧ-промені) спектру). Віднесення лікарського засобу до відповідної групи згідно з існуючими нормативними документами є вирішенням діагностичних завдань при експертних дослідженнях.

Пропонуємо інший спосіб визначення лікарських наркотичних, сильнодіючих, отруйних засобів, психотропних речовин або їх сумішей у складі наданих на дослідження напоїв, який включає ізолювання (виділення) та подальше скринінгове дослідження зазначених груп лікарських засобів і психотропних речовин методом тонкошарової хроматографії (ТШХ) як найбільш доступним, селективним, швидким та дешевим, сутність якого полягає в застосуванні найбільш ефективних хроматографічних систем і реактивів для проявлення. Хроматографічні системи та проявники були підібрані таким чином, що б отримані результати мали б максимальну збіжність і відтворюваність.

Ізолювання. Діючі речовини, що входять до складу зазначених груп лікарських засобів і психотропні речовини, є слабкими органічними солями чи основами. Оскільки вони знаходяться в розчинах, то доцільно застосовувати метод ізолювання екстракцією органічними розчинниками з водяної або водно-спиртової фази (відповідно до наданого напою) при різних значеннях *pH*. Крім того, що зазначеним методом можливе виділення речовин,

[1] Див.: Про затвердження переліку наркотичних засобів, психотропних речовин і прекурсорів : постанова Кабінету Міністрів України від 6 травня 2000 р. № 770 (із змінами та доповненнями) [Електронний ресурс]. — Режим доступу : http://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/770-2000-п.

[2] Див. Про затвердження Переліків отруйних та сильнодіючих лікарських засобів : наказ МОЗ України від 17 серпня 2007 р. № 490 (із змінами та доповненнями) [Електронний ресурс]. — Режим доступу : http://www.apteka.ua/article/5402.

які досліджуються, з різноманітних напоїв, екстракція відіграватиме й роль методу очищення, оскільки наявність барвників і баластних речовин значно ускладнюватиме подальше дослідження в тонкому шарі сорбенту (методом ТШХ).

Отже, 50–100 мл наданого напою (або доступна для дослідження його частина) поміщається у воронку для розділення, підкисляються насиченим розчином щавлевої кислоти до *pH* = 2 за універсальним індикаторним папером (УІП) і екстрагується діетиловим ефіром тричі порціями по 50 мл. Ефірні витяги об'єднуються, фільтруються через паперовий фільтр із безводним сульфатом натрію, попередньо змоченим ефіром. Ефір з об'єднаного фільтрату відганяється на відкритому повітрі при кімнатній температурі. Отриманий сухий залишок розчиняється в 1 мл хлороформу. У такий спосіб отримано екстракт із кислого середовища напою (екстракт № 1 після кислотного гідролізу). В екстракті № 1 утримуються речовини слабо-кислого характеру: саліцилати, бензоати, меконова кислота, пуринові алкалоїди, похідні піразолону, барбітурати, ноксирон, деякі похідні 1,4-бенздіазепіну.

Водяний (водно-спиртовий) шар, що залишився у воронці для поділення, підлуговується 0,1 М розчином натрію гідроксиду до *pH* = 8–9 (за УІП) і тричі екстрагується хлороформом порціями: 50, 50, 25 мл, далі знову підлуговується до *pH* = 11–12 та екстрагується 50 мл хлороформу. Отримані хлороформні екстракти об'єднуються, а рідина, що залишилась у воронці для поділення, видаляється. Об'єднані хлороформні екстракти фільтруються через паперовий фільтр із безводним сульфатом натрію, який попередньо змочений хлороформом, концентруються до 1 мл у потоці повітря кімнатної температури. Отриманий концентрований екстракт з лужного середовища позначається як «екстракт № 2». В ньому знаходяться речовини основного характеру: алкалоїди різних хімічних груп, похідні фенотіазину, 1,4-бенздіазепіну, фенілалкіламіни, синтетичні речовини основного характеру. Ці екстракти окремо досліджуються методом ТШХ.

Для вилучення з напоїв четвертинних амонієвих основ (піпекуронія бромід – діюча речовина лікарського засобу «Ардуан», дитилін – діюча речовина лікарського засобу «Дитилін-Біолік» та ін.) застосовується така схема: до напою додається фосфатний буфер (*pH* = 4,8) та 1 мл 1 % розчину пікринової кислоти, а потім проводиться екстракція хлороформом порціями по 50, 50, 25 мл. Хлороформні екстракти відповідно поєднуються та концентруються на відкритому повітрі до об'єму 1–2 мл[1].

Дослідження екстракту № 1. На стартові лінії трьох хроматографічних пластинок «Сорбфіл» з товщиною шару 90–120 мкм наносяться по 50 мкл екстракту № 1, а поряд (в одну точку) – розчини «свідків»: фенобарбіталу – на пластинку № 1, амідопірину – на пластинку № 2, сібазону – на пластинку № 3.

[1] Див. *Петюнин Г. П.* Исследование некоторых лекарственных и наркотических препаратов – аналогов по структуре и действию методом хроматографии в тонких слоях сорбента / Г. П. Петюнин, А. В. Чубенко, Н. В. Гузенко // Теорія та практика судової експертизи і криміналістики : зб. наук. праць. — Х. : Право, 2011. — Вип. 11. — С. 378–384.

Пластинки з нанесеним екстрактом і розчинами «свідків» сушаться на відкритому повітрі при кімнатній температурі протягом 10 хв, а потім поміщаються в камеру з сумішшю розчинників: хлороформ – ацетон в об'ємному співвідношенні 9:1 відповідно та хроматографуються висхідним способом. Після проходження фронтом розчинників 8 см від стартової лінії пластинки виймаються із камери й сушаться в потоці повітря кімнатної температури в робочому отворі витяжної шафи.

Перед проявленням пластинки необхідно оглянути в ультрафіолетовому світлі. При цьому відмічається наявність плям, що флуоресціюють, або плям, що гасять загальний фон пластинок у зонах хроматографування екстракту № 1, оскільки більшість речовин, розчини яких нанесено як «свідки», мають властивість флуоресціювати в ультрафіолетових променях або гасити флуоресценцію. Слід зауважити, що при незначних концентраціях речовин, які визначаються, флуоресценція може бути непомітна.

Пластинка № 1 послідовно проявляється розчином сульфату ртуті (до 5 г окису ртуті добавляється 10 мл концентрованої сірчаної кислоти й 100 мл дистильованої води). Після розчинення окису ртуті об'єм рідини доводиться дистильованою водою до 250 мл і додається 0,02 % розчин дифенілкарбазону в хлороформі.

Після обприскування пластинки розчином сульфату ртуті необхідно знову її оглянути в ультрафіолетовому світлі (розчин сульфату ртуті підсилює властивість речовин флуоресціювати), а потім проявити 0,02 % розчином дифенілкарбазону в хлороформі – у зоні хроматографування фенобарбіталу з'являється пляма фіолетового кольору зі значенням R_f = 0,34. При цьому проявляються й інші барбітурати та ноксирон. Ознакою наявності ноксирону є знебарвлення синьо-фіолетової плями зі значенням R_f = 0,80 (ноксирон) після прогрівання пластинки в потоці теплого повітря. Плями барбітуратів (фіолетового кольору) при цьому не знебарвлюються.

Пластинка № 2 проявляється 10 % розчином заліза (III) хлориду – у зоні хроматографування амідопірину утворюється пляма синьо-фіолетового кольору зі значенням R_f = 0,30. На цьому етапі проявляються також саліцилати, похідні пірозолону, меконова кислота.

Пластинка № 3 проявляється послідовно реактивом Драгендорфа (суміш рівних об'ємів 2,5 % розчину вісмуту нітрату в 30 % розчині оцтової кислоти та 15 % розчину калію йодиду в 4 % розчині оцтової кислоти)[1] та для підсилення забарвлення – 10 % розчином сірчаної кислоти, оскільки в разі незначної концентрації лікарського засобу в наданому напої можлива хибнонегативна реакція. У зоні хроматографування сібазону утворюється пляма жовтогарячого кольору зі значенням R_f = 0,48.

На підставі отриманих результатів проведеного скрінінгового дослідження екстракту з кислого середовища формується висновок про наявність або відсутність у складі наданого на дослідження напою речовин, які ізолюються з кислого середовища: барбітуратів, ноксирону, похідних пірозолону, бенздіазепіну, саліцилової кислоти, пуринових алкалоїдів та ін. У разі ви-

[1] Див.: *Крамаренко В. Ф.* Токсикологическая химия / В. Ф. Крамаренко. — К. : Вищ. шк., 1989. — С. 197–294.

явлення будь-якої речовини із перелічених груп необхідно дослідити напій із залученням додаткового методу для підтвердження наявності виявленої речовини згідно з окремим для її виявлення методом дослідження.

Дослідження екстракту № 2. На стартові лінії п'яти хроматографічних пластинок «Сорбфіл» з товщиною шару 90–120 мкм наносяться по 50 мкл екстракту № 2, а поряд (в одну крапку) – розчини «свідків»: димедролу – на пластинку № 1, амфетаміну та метамфетаміну – на пластинку № 2, аміназину – на пластинку № 3, морфіну, кодеїну – на пластинку № 4, клофеліну – на пластинку № 5.

Пластинки з нанесеним екстрактом і розчинами «свідків» сушаться на відкритому повітрі при кімнатній температурі протягом 10 хв, поміщаються в хроматографічну камеру з сумішшю розчинників: хлороформ – ацетон – етанол – 25 % розчин аміаку (20:20:3:1 відповідно) і хроматографуються висхідним способом. Після проходження фронтом розчинників 8 см від лінії старту пластинки виймаються з камери й сушаться в потоці повітря кімнатної температури.

Перед проявленням пластинки необхідно оглянути в ультрафіолетовому світлі. При цьому відмічається наявність плям, що флуоресціюють, або плям, що гасять загальний фон пластинок у зонах хроматографування екстракту № 2, оскільки більшість речовин, розчини яких нанесені як «свідки», володіють властивістю флуоресціювати в ультрафіолетових променях або гасити флуоресценцію. Слід зауважити, що при незначних концентраціях речовин, які визначаються, флуоресценція може бути непомітна.

Пластинка № 1 послідовно проявляється реактивом Драгендорфа й 10 % розчином сірчаної кислоти. У зоні хроматографування димедролу утворюється пляма жовтогарячого кольору зі значенням R_f = 0,73. При цьому також проявляються алкалоїди різних хімічних груп, синтетичні речовини основного характеру, які ізолюються з лужного середовища.

Пластинка № 2 проявляється 1 % розчином нінгідрину в ацетоні, а потім протягом 5–7 хв нагрівається в сушильній шафі при температурі +70 °С. У зоні хроматографування амфетаміну утворюється пляма темно-фіолетового кольору зі значенням R_f = 0,63 та рожево-фіолетова пляма метамфетаміну зі значенням R_f = 0,34. Цим проявником виявляються також інші похідні фенілалкіламіну, ефедрин, ефедрон.

Пластинка № 3 проявляється реактивом ФПН (суміш 5 % розчину хлориду окисного заліза; 20 % розчину хлорної кислоти та 50 % розчину азотної кислоти в об'ємному співвідношенні 1:9:10 відповідно). У зоні хроматографування аміназину утворюється пляма малинового кольору зі значенням R_f = 0,64. Цим проявником виявляються й інші похідні фенотіазіну.

Пластинку № 4 слід краплями проявляти реактивом Маркі (одна крапля формаліну додається до однієї краплі концентрованої сірчаної кислоти). У зоні хроматографування морфіну та кодеїну утворюються плями синьо-фіолетового кольору зі значеннями R_f = 0,17 (морфін) і R_f = 0,26 (кодеїн). При цьому також виявляються похідні фенілалкіламіну та димедрол.

Пластинка № 5 послідовно проявляється розчином сульфату міді, а потім розчином калію йодиду. У зоні хроматографування клофеліну утворюється

бура пляма зі значеннями R_f = 0,48. Наведена реакція дуже чутлива й дозволяє надійно виявляти клофелін у складі наданих на дослідження як алкогольних, так і безалкогольних напоїв навіть у випадках присутності його в незначній концентрації.

За отриманими результатами скринінгу при дослідженні екстракту з лужного середовища напоїв слід зробити висновок про наявність або відсутність речовин, які ізолюються з лужного середовища: алкалоїдів різних хімічних груп, похідних фенілалкіламіну, фенотіазіну, синтетичних речовин основного характеру (клофеліну, димедролу, ефедрону та ін.) у складі наданих на дослідження напоїв. При виявленні будь-якої речовини з наведених груп необхідно провести подальше дослідження напою із залученням додаткового методу для підтвердження наявності виявленої речовини згідно з окремим для її виявлення методом дослідження.

Запропонований спосіб виявлення наркотичних, отруйних, сильнодіючих лікарських засобів і психотропних речовин у складі алкогольних та безалкогольних напоїв методом ТШХ із застосуванням скринінгу є ефективним, дозволяє швидко, надійно й достовірно виявити (або виключити) наявність основних груп речовин, які мають судово-хімічне значення, та систематизувати й прискорити процес дослідження невідомого лікарського засобу, психотропної речовини або їх сумішей.

ИССЛЕДОВАНИЕ НАРКОТИЧЕСКИХ, СИЛЬНОДЕЙСТВУЮЩИХ, ЯДОВИТЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ И ПСИХОТРОПНЫХ ВЕЩЕСТВ В АЛКОГОЛЬНЫХ И БЕЗАЛКОГОЛЬНЫХ НАПИТКАХ МЕТОДОМ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ С ПРИМЕНЕНИЕМ СКРИНИНГА

Даньшина К. М.

Приведены экспериментальные данные по выявлению наркотических, сильнодействующих, ядовитых лекарственных средств и психотропных веществ в алкогольных и безалкогольных напитках методом тонкослойной хроматографии. Изложен подробный ход скринингового исследования.

Ключевые слова: тонкослойная хроматография, хроматографические пятна, скрининг, действующее вещество, лекарственное средство.

THE STUDY OF NARCOTIC, STRONG, TOXIC MEDICINES AND PSYCHOTROPIC SUBSTANCES IN ALCOHOLIC AND NONALCOHOLIC BEVERAGES APPLYING THIN LAYER CHROMATOGRAPHY METHOD WITH THE USE OF SCREENING

Danshyna K. M.

The article provides experimental data on detecting narcotic, strong, toxic medicines and psychotropic substances in alcoholic and nonalcoholic beverages applying thin layer chromatography method with the detailed description of the screening investigation.

Keywords: thin layer chromatography, chromatographic stains, screening, acting substance, medicine.