

УДК 543.544

**Г. П. Петюнин**, заведующий кафедрой клинической биохимии, судебно-медицинской токсикологии и фармации Харьковской медицинской академии последипломного образования, доктор фармацевтических наук, профессор,

**А. В. Чубенко**, доцент кафедры клинической биохимии, судебно-медицинской токсикологии и фармации Харьковской медицинской академии последипломного образования, кандидат фармацевтических наук,

**Н. В. Гузенко**, старший преподаватель кафедры клинической биохимии, судебно-медицинской токсикологии и фармации Харьковской медицинской академии последипломного образования, кандидат фармацевтических наук

### **МОДИФИКАЦИЯ МЕТОДА «ТСХ-СКРИНИНГА» ДЛЯ НЕКОТОРЫХ КОНТРОЛИРУЕМЫХ СОЕДИНЕНИЙ**

*Представлены результаты исследований по изучению хроматографического поведения некоторых контролируемых веществ в условиях нормально- и обращенно-фазных вариантах скрининга, осуществляемого методом хроматографии в тонких слоях сорбента. Особенностью его проведения является использование общей для обоих механизмов разделения системы растворителей, что позволяет повысить селективность обнаружения ряда токсикологически важных веществ.*

*Ключевые слова: хроматография в тонких слоях сорбента, скрининг, системы растворителей, контролируемые вещества.*

Мнообразие токсикантов, являющихся причиной отравлений, требует предварительного исследования. В токсикологическом анализе такого рода исследования принято называть аналитическим скринингом. Это исследование представляет собой поэтапный процесс обнаружения индивидуального вещества путем последовательного исключения токсикантов, а затем отсеивания их в обнаруженной группе до выявления конкретного соединения. Из современных скрининговых методов токсикологического анализа широко применяются методы иммуноферментного анализа (ИФА) и тонкослойной хроматографии (ТСХ). При этом скрининг методом хрома-

тографии в тонких слоях сорбента в настоящее время осуществляется как в нормально-фазном<sup>1</sup>, так и в обращенно-фазном варианте<sup>2</sup>.

В продолжение ранее начатых исследований<sup>3</sup> нами была предпринята попытка разработать вариант скрининга для ограниченного круга контролируемых веществ, при котором процедура ТСХ-скрининга совмещала в себе два разных по своим принципам механизма разделения токсикантов в одной системе растворителей. Для реализации этого варианта мы использовали системы, применяемые для группового скрининга методом обращенно-фазной хроматографии на пластинках Merk с привитой фазой C18<sup>4</sup>. В нашем случае исследования проводились параллельно как в нормально-фазном варианте на пластинках «Сорбфил» ПТСХ-П-А-УФ, так и на обращенно-фазных пластинках «Плазохром» с RP-3 слоями. В качестве объектов исследования были использованы экстракты, полученные из биологического материала пациентов наркологического диспансера. Присутствие в экстрактах соответствующих веществ доказывалось методом хроматомасс-спектрометрии на хроматомасс-спектрометре Agilent 6890N/5973N/FID производства Agilent Technologies с пневматическим микропоточковым переключателем Дина и дополнительным детектором ионизации в пламени. Колонка № 1 – кварцевая капиллярная HP-5MS 0,25 мм × 30 м, выход колонки присоединен к детектору ионизации в пламени. Колонка № 2 – кварцевая капиллярная DB-17MS 0,25 мм × 30 м, конец колонки непосредственно входит в масс-спектрометр. Температура инжектора – 250 °С, интерфейса масс-спектрометра (Transfer line) – 280 °С, источника ионов – 230 °С, квадруполя – 150 °С, детектора ионизации в пламени – 250 °С. Режим ионизации масс-спектрометра – электронный удар, энергия электронов – 70 эВ. Диапазон сканирования 40–700 а. е. м., порог – 100, скорость сканирования – 4,29 скан./с. Режим программирования температуры термостата: 70 °С – 2 мин, потом повышение до 210 °С со скоро-

<sup>1</sup> См.: *Петюнин Г. П.* Скрининг токсических веществ органической природы в биологических жидкостях / Г. П. Петюнин, А. В. Чубенко, Ж. В. Дмитриевская // Проблемы диагностики, профилактики та лікування екзогенних та ендогенних інтоксикацій : тези доп. Всеукр. наук.-практ. конф., Чернівці, 16–18 жовтня 2004 р. — Чернівці : Медик, 2004. — С. 64–65.

<sup>2</sup> См.: *Поспелова А. А.* Обращенно-фазный вариант тонкослойной хроматографии в химико-токсикологическом анализе ряда лекарственных средств основного характера : автореф. дис. на соискание уч. степени канд. фарм. наук : спец. 14.04.02 «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» / А. А. Поспелова. — Пермь, 2012. — 24 с.

<sup>3</sup> См.: *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. — 2011. — Вип. 11. — С. 378–384.

<sup>4</sup> См.: *Поспелова А. А.* Экстракционное вымораживание и твердофазная экстракция в судебно-химическом исследовании ряда антигистаминных средств, нейрорептиков, транквилизаторов, опиатов, опиоидов, местных анестетиков / А. А. Поспелова, Т. Л. Малкова, Л. Н. Карпова [Электронный ресурс]. — Режим доступа : [www.MEDLINE.RU](http://www.MEDLINE.RU), Токсикология, т. 13, ст. 8 (с. 94–102). — 01.02.2012.

стью – 45 °С/мин, затем повышение до 320 °С со скоростью – 15 °С/мин и выдержка при этой температуре 17,56 мин. Давление газа – носителя (гелия) на входе в первую колонку – 179,66 кПа (26,06 psi), вторую – 133,06 кПа (19,30 psi). Режим ввода пробы – 1мкл без делителя потока.

Результаты хроматографической подвижности исследуемых веществ представлены в табл. 1.

Таблица 1

**Хроматографическая подвижность исследуемых веществ**

Препарат	$R_f$ в системах растворителей на «Плазмахром» (I) и «Сорбфиле» (II)							
	1		2		3		4	
	I	II	I	II	I	II	I	II
Кодеин	0,62	0,59	0,6	0,87	0,76	0,85	0,76	0,82
Морфин	0,25	0,22	0,31	0,87	0,76	0,85	0,76	0,82
Папаверин	0,82	0,82	0,44	0,80	0,74	0,85	0,74	0,88
Трамадол	0,75	0,67	0,56	0,84	0,74	0,85	0,74	0,81
Метадон	0,66	0,69	0,18	0,81	0,69	0,85	0,69	0,82
Кокаин	0,81	0,87	0,56	0,81	0,65	0,83	0,77	0,75
Кетамин	0,82	0,79	0,37	0,81	0,62	0,84	0,71	0,75
Декстрометорфан	0,75	0,79	0,37	0,87	0,56	0,76	0,68	0,85
Димедрол	0,68	0,68	0,18	0,44	0,33	0,76	0,68	0,75
Метамфетамин	0,60	0,46	0,82	0,79	0,83	0,80	0,83	0,68
Амфетамин	0,56	0,64	0,60	0,71	0,60	0,80	0,60	0,75

Примечание:

- 1) ацетонитрил – этанол – 25% р-р аммиака (3:6,5:0,5);
- 2) метанол – вода – 25% р-р аммиака (6:4:4);
- 3) этанол – вода – 25% р-р аммиака (6:2:4);
- 4) метанол – 25% р-р аммиака (7:3).

На основе приведенных в табл. 1 данных о хроматографической подвижности исследуемых веществ можно сделать вывод о том, что в этих системах вещества удалось разделить как на пластинках «Плазмахром», так и на пластинках «Сорбфил». Для повышения селективности обнаружения веществ, показавших близкие величины  $R_f$ , были использованы расчетные показатели, подобные изложенным в источнике<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> См.: Пат. України на корисну модель № 64698, МПК G01N 33/493. Спосіб виявлення кетаміну та сильнодіючих лікарських засобів в біологічному матеріалі /

Показатель рассчитывали по формуле

$$R_x = \frac{R_{f_x(I)} + R_{f_x(II)}}{R_{f_{ст(I)}} + R_{f_{ст(II)}}},$$

где  $R_{f_x(I)}$  – численное значение хроматографической подвижности анализируемого вещества в варианте I;  $R_{f_x(II)}$  – численное значение хроматографической подвижности анализируемого вещества в варианте II;  $R_{f_{ст(I)}}$  – численное значение хроматографической подвижности вещества – стандарта в варианте I;  $R_{f_{ст(II)}}$  – численное значение хроматографической подвижности вещества – стандарта в варианте II.

В качестве вещества, принятого за стандарт, был выбран димедрол (табл. 2).

Таблица 2

**Рассчитанная хроматографическая подвижность исследуемых веществ**

Препарат	$R_x$ в системах растворителей			
	1	2	3	4
Кодеин	0,66	2,37	1,47	1,10
Морфин	0,34	1,90	1,47	0,68
Папаверин	1,20	2,00	1,47	1,13
Трамадол	1,04	2,16	1,47	1,08
Метадон	0,97	1,59	1,22	1,05
Кокаин	1,23	1,72	1,35	1,06
Кетамин	1,18	1,90	1,33	1,02
Декстрометорфан	1,13	2,00	1,21	1,06
Димедрол	2,00	1,00	1,00	1,00
Метамфетамин	0,77	2,59	1,49	1,05
Амфетамин	0,76	2,11	1,28	0,94

Приведенные данные показали, что предпочтительнее использовать систему 1, в которой имеется наименьшее количество повторяющихся или близких результатов.

Г. П. Петюнін, О. В. Чубенко, Н. В. Гузенко ; заявник і патентовласник Харківська медична академія післядипломної освіти. — № u201005636 ; заявл. 10.11.2011 ; опубл. 27.12.12, Бюл. № 24.

Кроме параметров хроматографической подвижности, в современном скрининге определяющее значение имеют результаты визуализации. Мы воспользовались последовательностью проявления пластинок, изложенной в источнике<sup>1</sup>. Результаты первого этапа представлены в табл. 3, а после нанесения указанных реактивов-проявителей – в табл. 4.

Таблица 3

**Флюоресценция исследуемых веществ в ультрафиолете (УФ)**

Препарат	Длина волны в УФ, нм			
	на «Плазмахроме» (I)		на «Сорбфиле» (II)	
	254	365	254	365
Кодеин	фиолетовая	голубая	голубая	желтая
Морфин	фиолетовая	голубая	голубая	желтая
Папаверин	фиолетовая	желтая	желтая	желтая
Трамадол	синяя	–	–	–
Метадон	фиолетовая	–	–	–
Кокаин	голубая	–	–	–
Кетамин	фиолетовая	белая	–	белая
Декстрометорфан	фиолетовая	желтая	желтая	желтая
Димедрол	синяя	–	–	–
Метамфетамин	голубая	голубая	голубая	желтая
Амфетамин	голубая	голубая	–	–

Таблица 4

**Окрашивание исследуемых веществ с реактивами-проявителями**

Препарат	Реактивы-проявители			
	Драгендорфа по Мунье	Манделина	1 % р-р нингидрина в ацетоне	Марки
1	2	3	4	5
Кодеин	оранжевое	сине-зеленое	–	сине-зеленое

<sup>1</sup> Clarke's Analysis of Drugs and Poisons in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material / Consulting Editions A. C. Moffat, M. D. Osselson, B. Widdop. — Fourth Editions. — © Pharmaceutical Press, 2011.

Окончание табл. 4

1	2	3	4	5
Морфин	оранжевое	фиолетовое	–	фиолетовое
Папаверин	оранжевое	сине-фиолетовое	–	фиолетовое
Трамадол	оранжевое	сине-зеленое	серое	бурое
Метадон	оранжевое	сине-зеленое	–	–
Кокаин	оранжевое	–	–	–
Кетамин	оранжевое	–	зеленое	–
Декстрометорфан	оранжевое	сине-черное	изумрудно-зеленое	сине-черное
Димедрол	оранжевое	желтое	фиолетовое	желтое
Метамфетамин	желтое	–	фиолетовое	оранжевое
Амфетамин	желтое	–	фиолетовое	оранжевое

Таким образом, можно предложить последовательность выполнения ТСХ-скрининга в одной системе растворителей на двух пластинках с разными механизмами разделения (рисунок):

Используя предложенную схему ТСХ-скрининга в токсикологическом анализе, можно значительно повысить селективность обнаружения в случае направленного исследования на группу контролируемых веществ. Кроме того, применяя одновременно два механизма разделения в методе хроматографии в тонких слоях сорбента, можно повысить и достоверность полученных результатов. Отметим, что предложенные системы растворителей вполне могут конкурировать с системами, рекомендованными Международным комитетом по токсикологическому анализу, как по времени хроматографирования, так и по отсутствию в составе систем растворителей – прекурсоров.



Рисунок. Последовательность выполнения ТСХ-скрининга

### МОДИФИКАЦІЯ МЕТОДУ «ТШХ-СКРИНІНГУ» ДЛЯ ДЕЯКИХ КОНТРОЛЬОВАНИХ СПОЛУК

Петюнін Г. П., Чубенко О. В., Гузенко Н. В.

Репрезентовано результати досліджень з вивчення хроматографічної поведінки деяких контрольованих речовин в умовах нормально- і зворотньо-фазних варіантів скринінгу, здійснюваного методом хроматографії в тонких шарах сорбенту. Особливістю його проведення є використання загальної для обох механізмів поділу

системи розчинників, що дозволяє підвищити селективність виявлення деяких токсикологічно важливих речовин.

Ключові слова: хроматографія в тонких шарах сорбенту, скринінг, системи розчинників, контрольовані речовини.

## TLC-SCREENING METHOD MODIFICATION FOR CERTAIN CONTROLLED SUBSTANCES

*Petunin G. P., Chubenko A. V., Guzenko N. V.*

Modern screening methods in toxicology are represented by several variants – the use of enzyme-linked immunosorbent assay and chromatographic analysis principles. While screening with thin-sorbent-layer chromatography method is now conducted both in normal phase and reverse phase modes for substances grouped as to their acid-base nature. The undertaken studies were aimed at developing a TLC-screening scheme for a limited number of controlled substances, which would combine two mechanisms with different underlying principles of dividing toxic agents within one system of solvents. In order to implement that we have applied systems used for group screening by the method of reverse-phase chromatography on slabs with inoculated RP-phase. The studies were conducted concurrently both as a normal-phase variant on Sorbfil slabs and in reverse-phase Plasmokhrom slabs variant with RP-3 layers. The findings allowed to develop the analysis scheme based on the use of calculated parameters of chromatographic mobility with the use of two division mechanisms and color-reactions, received with the help of two respective developing agents.

Keywords: chromatography in thin sorbent layers, screening, systems of solvents, controlled substances.

УДК 343.985

**Н. Н. Космина**, начальник отдела НИЭКЦ при ГУ МВД Украины в Харьковской области, кандидат юридических наук

## СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ В ЭКСПЕРТИЗЕ НАРКОТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ И ПСИХОТРОПНЫХ ВЕЩЕСТВ

Рассмотрены возможности методики составления профилей как средства сравнительного анализа образцов незаконно изготовляемых наркотиков для повышения эффективности и доказательственной значимости экспертиз по исследованию наркотических средств и психотропных веществ.

Ключевые слова: наркотические средства, психотропные вещества, экспертиза, сравнительное исследование, создание профилей.

Как известно, процессуальными источниками доказательств являются показания свидетелей, вещественные доказательства, документы, заключение эксперта. Процессуальная роль судебной экспертизы заключается в ее