

УДК 343.983.2 : 615.78

Ф.Н. Кахановский, старший научный сотрудник

*Научно-исследовательского экспертно-криминалистического
Центра при ГУМВД Украины в г. Киеве*

В.С. Москаленко, судебный-медицинский эксперт

Главного бюро судебно-медицинской экспертизы МЗ Украины

О.А. Посильский, кандидат химических наук,

начальник отдела специальных видов исследований

*Научно-исследовательского экспертно-криминалистического
Центра при ГУМВД Украины в г. Киеве*

Н.В. Шалыга, старший эксперт Государственного

*научно-исследовательского экспертно-криминалистического
центра МВД Украины*

ГАММА-ОКСИМАСЛЯНАЯ КИСЛОТА И ЕЕ ПРЕКУРСОРЫ: ОБНАРУЖЕНИЕ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

Представлен краткий обзор истории распространения оксибутирата и его аналогов в качестве психотропных средств, их влияния на организм человека. Рассмотрены основные методы выделения, обнаружения и количественного определения солей гамма-гидроксимасляной кислоты и гамма-бутиролактона с использованием микрокристаллических реакций, реакций окрашивания, тонкослойной хроматографии, а также газовой хроматографии с масс-селективным и пламенно-ионизационным детектированием.

Ключевые слова: оксибутират, гамма-гидроксимасляная кислота, гамма-бутиролактон, тонкослойная хроматография, газовая хроматография с масс-селективным и пламенно-ионизационным детектированием.

Наведено стислий огляд історії розповсюдження оксибутирату та його аналогів як психотропних речовин, їх впливу на організм людини. Розглянуто основні методи виділення, виявлення і кількісного визначення солей гама-гідроксимасляної кислоти та гама-бутиролактона з використанням мікрокристалічних реакцій, реакцій фарбування, тонкошарової хроматографії, а також реакцій хроматографії з мас-селективним і полум'я-іонізаційним детектуванням.

The essay outlines the history of use of oxybutirate and its analogues as psychotropic substances and their effect on human body. Methods of detection, extraction, and quantification of salt of gamma-hydroxybutyric acid and hydroxy butanole acid lactone with the use of granular reactions, staining reactions, TLC and GCMS FID are described.

Немедицинское применение гамма-гидроксимасляной кислоты в виде солей оксибутиратов получило широкое распространение в 80-х годах XX века, и прежде всего среди культуристов, которые использовали способность этих веществ стимулировать выделение гормона роста, увеличивать утилизацию жиров и наращивание мышечной ткани. Эти вещества нередко рассматривались как альтернатива анаболикам или как заменители триптофана в препаратах контроля веса тела, а также для восстановления организма после продолжительных физических нагрузок.

Резкое увеличение немедицинского потребления оксибутиратов (в том числе его прекурсоров) и связанные с ними последствия для здоровья людей вынудили правоохранительные органы целого ряда стран ввести строгие меры контроля над оборотом этих веществ (как и всегда, «черный» рынок наркотиков ответил на это появлением целого ряда новых средств).

Оксибутираты (GHB) (рис. 1) способствуют коррекции продолжительности действия стимуляторов группы «экстази». Распространяются под названиями: «GHB», «G», «Easy Lay», «Natures Quaalude», «4-hydroxybutyrate», «Sodium oxybutyрат», «Liquid Ecstasy», «Liquid E», «Easy Lay», «Scoop», «Liquid X», «Fantasy», «Cherry Meth».

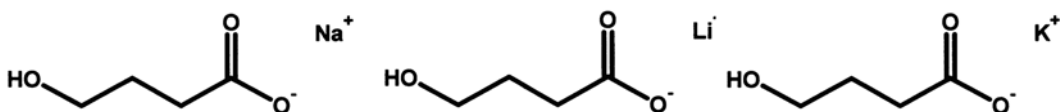


Рис. 1. Оксибутираты

Одним из проявлений интоксикации оксибутиратом является усиление полового влечения как у мужчин, так и у женщин, а также увеличение сексуальных возможностей партнеров. Данное свойство широко используется за рубежом при производстве многочисленных пищевых добавок и безалкогольных напитков.

Оксибутират и его аналоги (гамма-бутиролактон — GBL, 1,4-бутандиол — 1,4-BD) также используются как средства для совершения сексуального насилия, ослабляя сопротивление жертвы и усиливая либидо, что необходимо учитывать при осмотре мест происшествия, расследуя подобные преступления. Данные вещества труднее всего анализировать и интерпретировать результаты исследований из-за скорости, с которой они выводятся из организма (поэтому на момент обращения жертвы и проведения исследования их, как правило, уже нельзя обнаружить в организме). Оксибутираты также могут вызвать у человека амнезию. Причиной злоупотреблений этим препаратом является эффект эйфории, который проявляется при определенных повышенных дозировках.

Оксибутираты почти безвкусны в чистом виде, но имеют «солёный» или «мыльный» вкус, когда они недостаточно очищены, поэтому могут незаметно добавляться в относительно большом количестве в алкогольные напитки или подмешиваться к другим препаратам, в связи с чем необходимо обращать особое внимание на остатки жидкости и наслоения веществ в различной посуде (стаканах, бутылках или других емкостях) при сборе вещественных доказательств с места происшествия.

Фармакологические эффекты от приема оксибутиратов имеют сложную, нелинейную зависимость от количества принятого вещества, чем напоминают

алкоголь. Оба эти вещества при достижении определенной для каждого человека концентрации в организме способны приводить к серьезным физиологическим нарушениям, вплоть до потери сознания и комы. Более того, оба эти вещества при совместном приеме могут резко потенцировать действие друг друга. Аналогично взаимодействуют с оксибутиратами анальгетики (опиаты и опиоиды). Причем их болеутоляющая активность возрастает более чем в 1,5 раза, но при этом уменьшается или не изменяется токсичность. В свою очередь, наркотические анальгетики не только усиливают, но и удлиняют наркотический эффект оксибутиратов.

В отличие от медицинской практики, где в подавляющем большинстве случаев используются натриевые и крайне редко литиевые соли оксибутирата, из незаконного оборота также изымаются калиевые, магниевые, кальциевые, аммониевые соли и их смеси в любых пропорциях. Смешивание этих солей используется для восполнения потери электролитов при тяжелых физических нагрузках (как правило, в местах распространения наркотиков — на дискотеках, в различных увеселительных заведениях).

Оксибутираты натрия, лития, калия — белые или белые со слабым желтоватым оттенком кристаллические порошки, имеющие специфический запах, они легко растворимы в воде и спирте, гигроскопичны. Водные растворы имеют pH от 7,9 до 8,9.

При воздействии температуры или в кислых водных растворах оксибутираты теряют воду и циклизируются в гамма-бутиролактон (GBL, бутиролактон) (рис. 2).

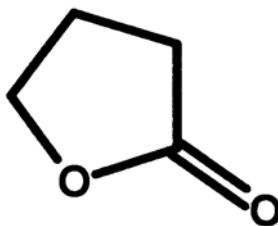


Рис. 2. Гамма-бутиролактон

Гамма-бутиролактон (брутто-формула $C_4H_6CO_2$; М.м. = 86,1) — маслянистая жидкость с характерным запахом. Плотность при $t = 15\text{ }^\circ\text{C}$ равна 1,1286, при $t = 20\text{ }^\circ\text{C}$ — 1,1299. Он растворяется в воде, этаноле, эфире, бензоле, ацетоне, хлороформе. Применяется в крупнотоннажном химическом синтезе, а также как растворитель для многих полимеров.

Аналогично бутиролактону в качестве заменителя оксибутиратов используются гамма-гидроксибутираль (альдегид оксибутирата, гамма-гидроксибутираль-дегид) и 1,4-бутандиол (1,4-БД, бутан-1,4-диол). Кроме уже упомянутых веществ, схожими фармакологическими свойствами обладает целый ряд веществ, например, транс-4-гидрокси-котоновая кислота и ее лактон, различные гомологи оксибутирата и гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК), а также многие другие.

Учитывая специфические особенности данной группы веществ, целесообразным является разработка условий проведения их газохроматографического и масс-спектрометрического анализа, обобщение известных методов определения оксибутиратов и внедрение их в экспертную практику.

Микрокристаллический тест и качественные реакции при исследовании оксибутиратов и гамма-бутиролактонов

Реакция оксибутиратов с серебряно-медным реактивом. Водный раствор серебряно-медного реактива (0,1-г нитрата меди + 0,1 г нитрата серебра в 10,0 мл воды) может использоваться как микрокристаллический тест на наличие оксибутирата. Серебряно-медный реактив формирует прямоугольные кристаллы по периферии капли с оксибутиратом (рис. 3). С другими наркотическими веществами, включая и те, у которых есть подобная оксибутиратам биологическая активность, этот реактив таких кристаллов не образует. Формирование характерных кристаллов с оксибутиратом происходит на протяжении 5 мин при концентрациях приблизительно 2,0 мг/мл. Кристаллы серебряно-медного реактива представлены на рис. 4.

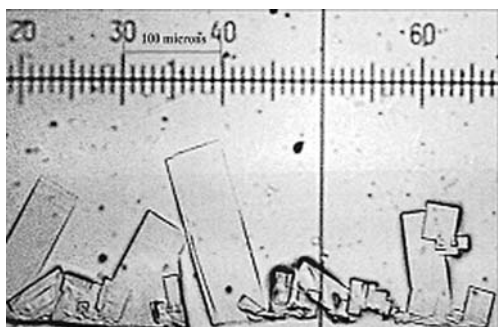


Рис. 3. Микрофотография продукта реакции оксибутирата с серебряно-медным реактивом

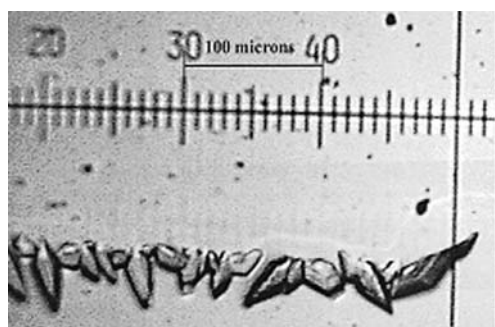


Рис. 4. Микрофотография кристаллов серебряно-медного реактива

Цветные реакции

Реагенты и их изготовление

Раствор хлорфенолового красного: 0,04 г хлорфенолового красного растворяют в 100 мл воды, добавляют 0,01 М-раствор гидроксида натрия до pH = 7.

Модифицированный реактив Швепса:

- 2,0 г декстрозы растворяют в 20 мл воды;
- 2,4 г анилина гидрохлорида растворяют в 20 мл этанола;
- смешивают вместе указанные выше растворы и разбавляют до 80 мл метанолом.

Раствор бромкрезолового пурпурного: 0,04 г бромкрезолового пурпурного растворяют в 100 мл воды, добавляют 0,01 М-раствор гидроксида натрия до pH = 7.

Раствор бромтимолового синего: 0,04 г бромтимолового синего растворяют в 100 мл воды, добавляют 0,01 М-раствор гидроксида натрия до pH = 7.

Раствор бромкрезолового зеленого: 0,03 г бромкрезолового зеленого растворяют в 100 мл метанольно-водного раствора (4:1), добавляют 0,01 М-раствор гидроксида натрия до pH = 7.

Раствор метилового оранжевого: 0,01 г метилового оранжевого растворяют в 100 мл метанола, добавляют 0,01М-раствор гидроксида натрия до pH = 7.

Цветной тест 1

Реагент: хлорфеноловый красный смешивают с модифицированным реактивом Швепса в пропорции 3:1.

Метод: 0,5 мл жидкого образца помещают в пробирку. Создают pH от 5 до 8 путем добавления 0,01 М-раствора гидроксида натрия, добавляют две капли реагента и перемешивают. Изменение цвета с оранжево-красного на темно-красный будет свидетельствовать о наличии оксибутирата, на желтый — о наличии гамма-бутиролактона.

Цветной тест 2

Реагент: бромкрезоловый пурпурный смешивают с бромтимоловым синим в пропорции 1:1, затем этот комбинированный реагент смешивают с модифицированным реактивом Швепса в пропорции 7:1.

Метод: схема процедуры аналогична схеме в цветном тесте 1. Оксибутират дает пурпурный цвет, гамма-бутиролактон — желтый.

Цветной тест 3

Реагент: смешивают бромкрезоловый зеленый с метиловым оранжевым в пропорции 1:1, затем этот комбинированный реагент смешивают с модифицированным реактивом Швепса в пропорции 3:1.

Метод: pH среды доводят до нейтрального состояния и добавляют две капли реагента. Темно-зеленый цвет будет указывать на оксибутират, а желтый — на гамма-бутиролактон.

Цветной тест 4

Реагент: 1 % раствор нитрата кобальта.

Метод: 0,5 мл жидкого образца помещают в пробирку, добавляют две капли реагента. Розово-фиолетовый цвет будет указывать на наличие оксибутирата.

Исследование методом хроматографии в тонком слое сорбента (ТСХ)

Предлагаемая методика основана на жидкостной экстракции бутиролактона, образующегося из оксибутирата в кислой среде, хлористым метилом, хлороформом или эфиром и дальнейшем хроматографировании в системах:

- этилацетат;
- гексан : этилацетат : изобутанол (5:4:1).

В делительную воронку помещают порошок (1—2 г) или 10 мл 20-процентного раствора препарата, добавляют 10 мл соляной кислоты, 4 г натрия хлорида, 10 мл эфира и встряхивают в течение 3 мин. После отстаивания смеси в течение 5 мин 5 мкл эфирного слоя наносят на пластинку «Силуфол». Рядом в качестве свидетеля на пластинку наносят 5 мкл 0,4-процентного раствора гамма-бутиролактона в абсолютном спирте. Пластинку хроматографируют восходящим способом в системе этилацетат ($R_f = 0,58—0,64$) или гексан : этилацетат : изобутанол (5:4:1) ($R_f = 0,35—0,38$). После прохождения подвижной фазы до линии финиша пластинку вынимают и сушат на воздухе в течение 5 мин. Проявление осуществляют смесью 10-процентного раствора гидроксиламина гидрохлорида и 20-процентного раствора натрия гидроксида (1:1), через 15 мин — смесью, состоящей из железа (III) хлорида (2,7 г хлорида железа (III) растворяют в смеси: 60 мл воды и 40 мл ледяной уксусной кислоты) с добавлением хлористоводородной кислоты концентрированной (15:2). При наличии оксибутиратов в анализируемой пробе

должно появиться пятно оранжево-коричневого цвета на уровне контрольного пятна бутиролактона. Предел обнаружения оксибутирата натрия по данной методике $> 0,05$ мг/мл.

Исследование методом хромато-масс-спектрометрии

При использовании метода хромато-масс-спектрометрии пробоподготовку проводят так же, как и для анализа, проводимого методом тонкослойной хроматографии. После проведения экстракции 0,5 мл органической фазы отбирают в стеклянные вials вместимостью 2 мл. К каждому экстракту в качестве внутреннего стандарта добавляют по 50 мкл метанольного раствора метилстеарата с концентрацией 0,5 мг/мл. Конечные экстракты исследуют методом хромато-масс-спектрометрии (рис. 5). Условия исследования:

- хроматограф TRACE GC ULTRA;
- масс-детектор — DSQ II, THERMO SCIENTIFIC;
- колонка капиллярная TR-5MS 30 x 0,25 мм;
- температура инжектора — $T = 250$ °C;
- температура интерфейса масс-спектрометра (Transfer line) — $T = 220$ °C;
- температура источника ионов — $T = 200$ °C;
- режим ионизации — электронный удар;
- энергия электронов — 70 эВ;
- диапазон сканирования 28—650 а.о.м.;
- режим программирования температуры термостата:
 - $T = 100$ °C — 3 мин;
 - подъем температуры до $T = 280$ °C со скоростью — 35 °C/мин;
 - газ-носитель — гелий — 1,1мл/мин;

- время удерживания — 5,22 мин;
- основные характеристические ионы — m/z 42, 28, 56 и 86;
- наиболее интенсивные ионы масс-спектра гамма-бутиролактона m/z 42, 86 и 56.

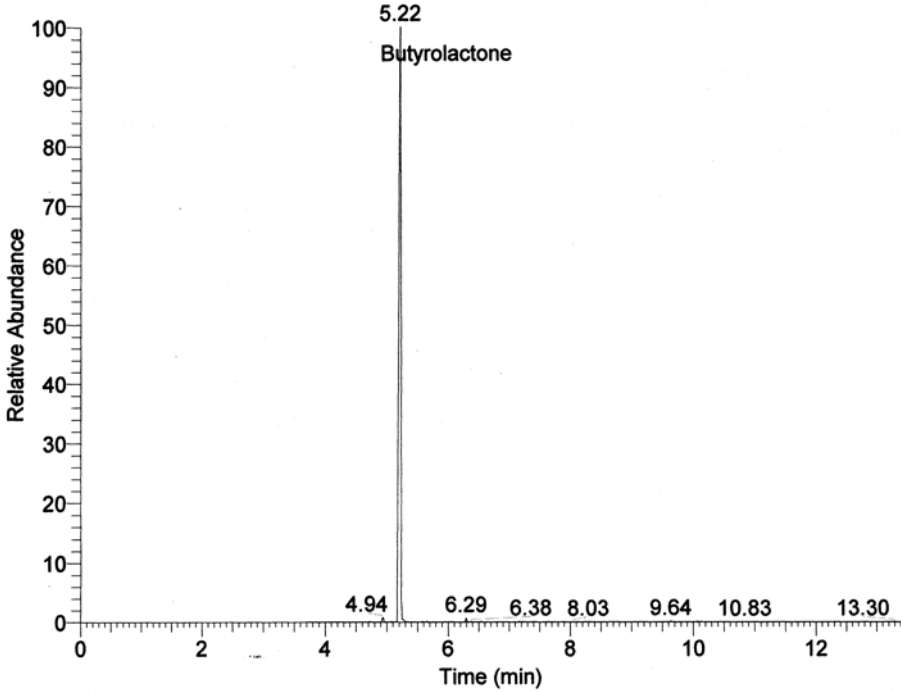
Исследование методом газовой хроматографии

Метод газовой хроматографии используют для качественного выявления и количественного определения солей гамма-гидроксимасляной кислоты, а также гамма-бутиролактона. Исследование солей гамма-гидроксимасляной кислоты производят с использованием силильных производных этой кислоты, получаемых с помощью модифицирующего агента бис-(триметилсилил)-трифторацетамида (BSTFA).

Подготовку пробы проводят следующим образом.

При поступлении раствора соли гамма-гидроксимасляной кислоты на исследование 5—10 мг жидкости упаривают досуха при температуре не выше $T = 90$ °C (твердые вещества исследуют в нативном виде). К сухому остатку, а в случае поступления твердого вещества к навеске вещества массой 1—4 мг добавляют 0,2—0,5 мл 25-процентного раствора бис-(триметилсилил)-трифторацетамида в ацетонитриле. Смесь выдерживают при $T = 70$ °C в течение 30 мин и исследуют на газовом хроматографе.

RT: 0.00 - 13.40



NL:
1.56E5
m/z=
53.55-
54.55 MS
GBL_35gr_
min

GBL_35gr_min #109 RT: 5.22 AV: 1 NL: 1.74E7
T: + c Full ms [38.00-450.00]

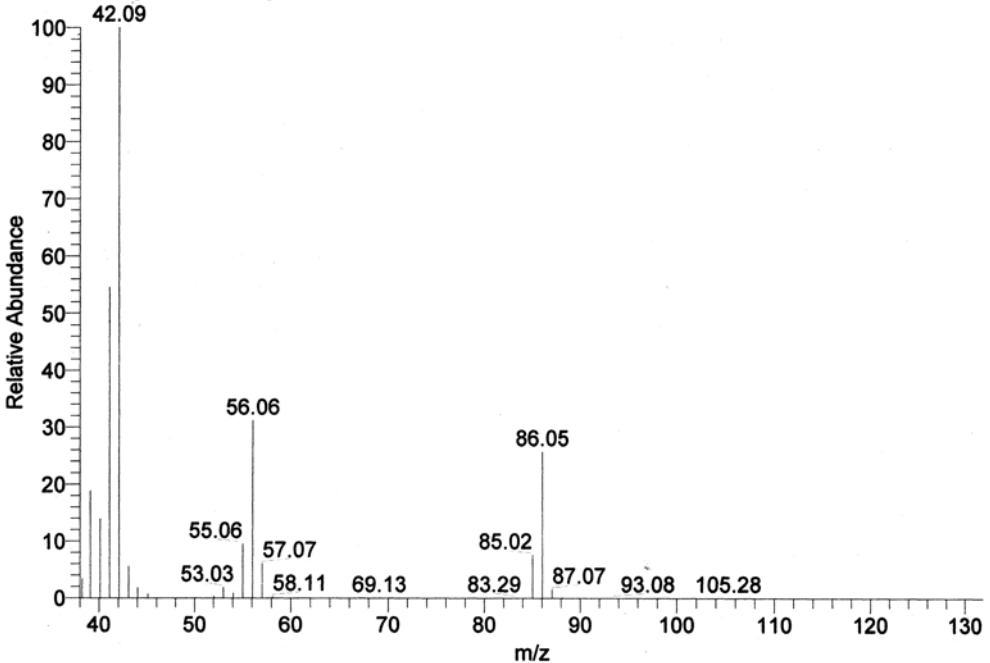


Рис. 5. Хроматограма и масс-спектр бутиролактона

При исследовании гамма-бутиролактона каплю исследуемой жидкости растворяют в 0,5 мл хлороформа, перемешивают, полученную смесь исследуют без дополнительной обработки силирующим реагентом.

Газохроматографическое определение проводят при следующих условиях анализа:

- колонка кварцевая капиллярная длиной 30 м, диаметром 0,25 мм, с метил-силиконовой стационарной фазой Rxi — 5MS;
- газ-носитель — азот (гелий), детектор — пламенно-ионизационный;
- температура испарителя — $T = 250\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- температура детектора — $T = 300\text{ }^{\circ}\text{C}$;
- температура колонки меняется от $T = 70\text{ }^{\circ}\text{C}$ до $T = 300\text{ }^{\circ}\text{C}$ со скоростью $15\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{мин}$;
- ввод пробы осуществляют с делением потока 1:150.

На рис. 6 представлена хроматограмма гамма-бутиролактона. Время удерживания — 3,51 мин.

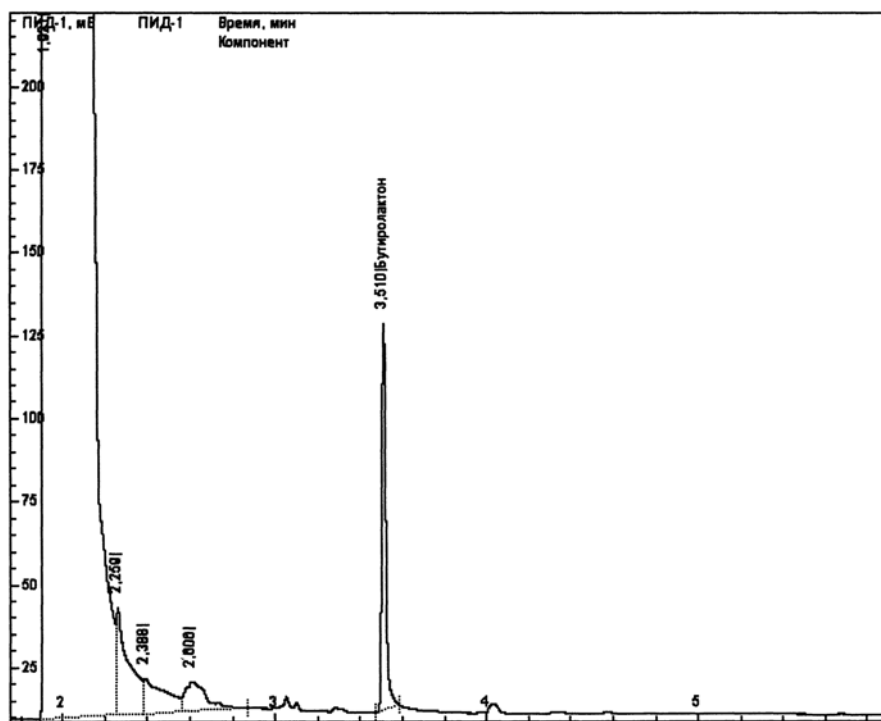


Рис. 5. Хроматограмма и масс-спектр бутиролактона

Количественное определение гамма-гидроксимасляной кислоты

Количественное определение гамма-гидроксимасляной кислоты и ее солей проводят с использованием внутреннего стандарта, в качестве которого используют метилстеарат или подходящий насыщенный углеводород. Перед анализом готовят раствор внутреннего стандарта в 25-процентном растворе бис-(триметил-силил)-трифторацетамида в ацетонитриле с концентрацией внутреннего стандарта 2,5 мг/мл. Затем взвешивают точную навеску исследуемой жидкости массой

5—15 мг, что зависит от концентрации поступившего на исследование раствора (при исследовании порошкообразных веществ берут точную навеску массой 1—4 мг), и осторожно упаривают досуха при температуре не выше 90 °С. После этого к сухому остатку добавляют 1,0 мл раствора внутреннего стандарта в 25-процентном растворе бис-(триметилсилил)-трифторацетамида в ацетонитриле. Полученную смесь выдерживают при $T = 70\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 30 мин и после охлаждения хроматографируют, соблюдая указанные выше условия. Калибровку хроматографа проводят с использованием внутреннего стандарта и какой-либо соли гамма-гидроксимасляной кислоты. Расчет содержания гамма-гидроксимасляной кислоты проводят в пересчете на основание. При отсутствии чистых образцов солей гамма-гидроксимасляной кислоты можно воспользоваться относительным массовым коэффициентом, который для гамма-гидроксимасляной кислоты относительно метилстеарата равен 0,85. При его использовании расчет массовой доли (X , %_масс.) гамма-гидроксимасляной кислоты в исследуемом веществе (жидкости) проводят по формуле:

$$X = \frac{S_x \cdot m_{\text{СТ}}}{S_{\text{СТ}} \cdot m_{\text{П}}} \cdot K \cdot 100$$

где: S_x — площадь пика силильного производного оксибутирата;
 $S_{\text{СТ}}$ — площадь пика внутреннего стандарта;
 $m_{\text{СТ}}$ — масса внутреннего стандарта, мг;
 $m_{\text{П}}$ — масса исходной пробы, мг;
 K — относительный массовый коэффициент.

Приведенные в данной работе исследования оксибутирата и гамма-бутиро- лактона методами микрокристаллических реакций, реакций окрашивания, тонко- слойной хроматографии, газовой хроматографии с масс-селективным и пламен- но-ионизационным детектированием с успехом могут применяться в практике экспертных учреждений.

Список рекомендованной литературы

1. *Stybe J.* Determination of gamma-hydroxybutyrate (GHB) by headspace-GC-MS (FID) in forensic samples / J. Stybe, F. Soren // *Problems of Forensic Sciences.* — 2000. — Vol. XLIII. — P. 126—130.
2. *Сорокин В.И.* Экспертное исследование оксибутирата натрия : метод. реком / В.И. Со- рокин, М.А. Дроздов. — 2003. — 24 с.
3. *Оксибутират*, его прекурсоры и метаболиты / [Симонов Е.А., Савчук С.А., Соро- кин В.И. и др.] // *Наркология.* — 2003. — № 3. — С. 12—18.
4. *Moffat A.C.* Clarkes isolation and identification of drugs / A.C. Moffat. — 2005. — P. 423—431.