

ХІМІКО-ТОКСИКОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ НОВИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ – ПОТЕНЦІЙНИХ ОБ'ЄКТІВ НЕМЕДИЧНОГО ВИКОРИСТАННЯ МЕТОДОМ ХРОМАТОГРАФІЇ У ТОНКИХ ШАРАХ СОРБЕНТУ

Ключові слова: контрольовані засоби, токсикологічний скринінг, тонкошарова хроматографія

Однією з ключових проблем напруженої наркологічної ситуації в Україні є широке розповсюдження немедичного використання лікарських засобів. Поява на фармацевтичному ринку нових препаратів з психотропною активністю, а також застосування деяких з них у спеціальних програмах [3] актуалізує необхідність розроблення токсикологічних методів їх виявлення у біологічних об'єктах для встановлення факту незаконного прийому. До таких препаратів можна віднести фенотропіл, метадон [7] та зопіклон [10].

Як відомо, першим етапом токсикологічних досліджень є скринінг, який виконується методом тонкошарової хроматографії. Однак, вказані вище засоби у рамках токсикологічного скринінгу не вивчалися, тому параметри їх хроматографічної рухомості та методи візуалізації невідомі. Тож метою роботи було розроблення методу виявлення фенотропілу, метадрону та зопіклону на стадії скринінгу, вивчення впливу ефектів матриці, інших контролюємих засобів (метамфетаміну, амфетаміну, МДМА, псевдоефедрину) та об'єктів немедичного використання (трамадолу, кетаміну, декстропропоксифену, декстрометорфану) у рамках раніше розпочатих досліджень [1, 2, 4–6, 8, 9] на можливість отримання перехресних хибнопозитивних результатів.

Матеріали та методи дослідження

Відповідно до вимог United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC) та Scientific Working Group for Forensic Toxicology (SWGTOX) розчини лікарських засобів готували розчиненням їх у «чистій» сечі (з рахунку 0,01 г у 10 мл сечі) із посліду ючим стандартним екстрагуванням, прийнятим у разі дослідження сечі у скринінгу. Оскільки всі відмічені лікарські засоби є основами, то для досліджень використовували «лужні» хлороформні екстракти.

Дослідження здійснювали методами нормально-фазової хроматографії на пластинках «Сорбфіл» (сілікагель ПТСХ–П–А–УФ; 10см x 10см) та обернено-фазової хроматографії на пластинках «Плазмохром RP-3» (10см x 10см). По 20 мкл розчинів досліджуваних речовин наносили на лінію старту, що знаходиться на відстані 1,5 см від нижнього краю пластинки і, після висушування на повітрі, вміщували в камеру.

Хроматографування виконували тричі у ненасичених скляних камерах об'ємом 500 мл, що містять 10 мл рухомої фази, яку використовували одноразово. Розділення робили в загальновідомих рухомих фазах:

система 1 – толуол–ацетон–етанол–25% розчин амоніаку (45:45:7,5:0,25);

система 2 – етилацетат–метанол–25% розчин амоніаку (85:10:2,5);

система 3 – метанол–25% розчин амоніаку (100:1,5);

система 4 – гексан–ацетон (2:1);

система 5 – вода–ацетон–тетрагідрофуран (1:1:1);

система 6 – вода–ацетон–метанол (1:1:1).

Після підйому рухомої фази на відстань 8,5 см пластинку виймали, сушили на повітрі до видалення запаху розчинників і обробляли відповідним проявником.

Результати дослідження та обговорення

У табл. 1 наведено забарвлення, які виникли під час взаємодії лікарських засобів з реактивами-проявниками.

Як видно з даних таблиці, досліджувані препарати не дають специфічних забарвлень, тому їх виявлення тільки по забарвленим продуктам є неможливим.

Т а б л и ц я 1

Забарвлення, що виникають при прояві різними реактивами досліджуваних речовин

Речовина	Реактив				
	реактив Драгендорфа	1% розчин нінгідрину в ацетоні	реактив Маркі	реактив Маркі після нінгідрину	розчин іодплатинату кислий
Фенотропіл	жовто-гаряче	–	коричневе	коричневе	біле
Метадон	жовто-гаряче	сіро-блакитне	–	–	жовто-коричневе
Зопіклон	жовто-гаряче	–	–	–	жовто-коричневе
Пірацетам	жовто-гаряче	фіолетове	коричневе	коричневе	рожеве
Метамфетамін	жовто-гаряче	фіолетове	буро-коричневе	буро-коричневе	синьо-коричневе
Амфетамін	жовто-гаряче	фіолетове	буро-коричневе	буро-коричневе	синьо-коричневе
МДМА	жовто-гаряче	фіолетове	синьо-чорне	синьо-чорне	синьо-коричневе
Псевдоэфедрин	жовто-гаряче	фіолетове	–	малинове	синьо-коричневе
Трамадол	жовто-гаряче	синьо-сіре	буре	буро-коричневе	вишневе
Кетамін	жовто-гаряче	жовто-зелене	–	–	блакитне
Декстропропосифен	жовто-гаряче	темно-сіре	чорно-фіолетове	чорно-зелене	жовто-коричневе
Декстрометорфан	жовто-гаряче	темно-коричневе	чорно-зелене	–	синьо-фіолетове

Хроматографічна рухливість досліджуваних речовин у методі нормально-фазової хроматографії наведена у табл. 2.

Т а б л и ц я 2

Хроматографічна рухливість досліджуваних речовин за нормально-фазової хроматографії

Речовина	Величина R _f у системах		
	1	2	3
Фенотропіл	0,46	0,56	0,65
Метадон	0,60	0,60	0,72
Зопіклон	0,62	0,26	0,67
Пірацетам	0,30	0,42	0,58
Метамфетамін	0,33	0,53	0,31
Амфетамін	0,62	0,62	0,46
МДМА	0,33	0,53	0,32

1	2	3	4
Псевдоефедрин	0,65	0,68	0,66
Трамадол	0,88	0,87	0,68
Кетамін	0,74	0,81	0,63
Декстропроксифен	0,80	0,82	0,70
Декстрометорфан	0,70	0,81	0,50

Як випливає з даних табл. 2, стандартні умови токсикологічного скринінгу також не забезпечують надійного виявлення цільових речовин. Для вирішення цієї проблеми було запропоновано використання обернено-фазової хроматографії. Отримані дані подано у табл. 3.

Т а б л и ц я 3

Хроматографічна рухливість речовин за обернено-фазової хроматографії

Речовина	Величина R_f у системах		
	4	5	6
Фенотропіл	0	0,76	0,80
Метадон	0,24	0,20	0,56
Зопіклон	0	0,88	0,40
Пірацетам	0	0,76	0,74
Метамфетамін	0	0,38	0,23
Амфетамін	0,19	0,25	0,29
МДМА	0	0,16	0,18
Псевдоефедрин	0	0,52	0,23
Трамадол	0,29	0,23	0,25
Кетамін	0,46	0,75	0,60
Декстропроксифен	0,40	0,22	0,26
Декстрометорфан	0,10	0,20	0,10

Як видно з наведених даних, використання пластинок з нормально- та обернено-фазовим механізмом розподілу забезпечує практично для всіх досліджуваних речовин одержання некорелюючих показників хроматографічної рухливості, які з використанням комплексу наведених в табл. 1 реагентів дають змогу здійснити виявлення цільових речовин.

В и с н о в к и

1. Вивчено параметри хроматографічної рухливості фенотропілу, метадону та зопіклону, інших контрольованих засобів (метамфетаміну, амфетаміну, МДМА, псевдоефедрину, трамадолу, кетаміну, декстропроксифену, декстрометорфану) в умовах нормально-фазової та обернено-фазової тонкошарової хроматографії.

2. Встановлено, що використання обох типів пластинок дає змогу практично для всіх досліджуваних речовин отримати некорелюючі показники хроматографічної рухливості, які з використанням комплексу наведених реагентів-проявників уможливають виявлення вищеперелічених засобів у біологічних рідинах.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. *Гузенко Н. В.* Определение кетамина при проведении судебно-токсикологического анализа / Теорія та практика судової експертизи і криміналістики. – Харків, 2006. – С. 298–302.
2. *Гузенко Н. В.* Оптимізація рухомої фази при визначенні кетаміну, фенциклідину та трамадолу методом тонкошарової хроматографії / Мат. XIV міжнар. мед. конгресу студентів та молодих вчених. – Тернопіль, 2010. – С. 225.
3. Наказ МОЗ України від 13 квітня 2005 р. № 161 «Про розвиток та удосконалення заміс-

ної підтримуючої терапії та профілактики ВІЛ/СНІДу серед споживачів наркотиків».

4. Пат. України на корисну модель № 25975, МПК G01N 33/493. Спосіб визначення заборонених наркотиків в суміші з лікарськими засобами в сечі людини / *Г. П. Петюнін, Н. В. Гузенко, О. В. Чубенко*; Заявник і патентовласник Харківська медична академія післядипломної освіти – № у 2007 05116; Заявл. 10.05.2007; Опубл. 27.08.2007, Бюл. № 13.

5. Пат. України на корисну модель № 56025, МПК G01N 33/493. Спосіб визначення заборонених наркотиків та сильнодіючих лікарських засобів у біологічному матеріалі людини / *Г. П. Петюнін, О. В. Чубенко, Н. В. Гузенко*; Заявник і патентовласник Харківська медична академія післядипломної освіти – № у 2010 05636; Заявл. 11.05.2010; Опубл. 27.12.2010, Бюл. № 24.

6. Пат. України на корисну модель № 64698, МПК G01N 33/493. Спосіб виявлення кетаміну та сильнодіючих лікарських засобів в біологічному матеріалі / *Н. В. Гузенко, Г. П. Петюнін, О. В. Чубенко*; Заявник і патентовласник Харківська медична академія післядипломної освіти – № у 2011 06325; Заявл. 20.05.2011; Опубл. 10.11.2011, Бюл. № 21.

7. Постанова Кабінету Міністрів України від 4 квітня 2004 р. № 264 «Про затвердження Концепції стратегії дій Уряду, спрямованих на запобігання поширенню профілактики ВІЛ-інфекції/СНІДу, на період до 2011 року та Національної програми забезпечення профілактики ВІЛ-інфекції, допомоги та лікування ВІЛ-інфікованих і хворих на СНІД на 2004–2008 р.».

8. *Петюнін Г. П., Хижниченко О. В.* Виявлення декстпропоксифену та його метаболітів методом хроматографії в тонких шарах сорбенту // Вісник фармації. – Харків. – 2008. – № 4 (56). – С. 9–12.

9. *Чубенко О. А.* Использование метода хроматографии в тонких слоях сорбента для исследования декстрометорфана и некоторых «диссоциативных галлюциногенов» / Актуальні питання та перспективи розвитку судової медицини та криміналістики. – Харків, 2005. – С. 151–153.

10. *Hajak G., Muller W. E., Pittow D., Kirch W.* Abuse and dependence potential for the non-benzodiazepid hypnotics zolpidem and zopiclon: a review of case reports and epidemiological data // Additison. – 2003. – V. 98 (10) – P. 1371–1378.

Надійшла до редакції 28. 01. 2013.

О. В. Хижниченко, Н. В. Гузенко, А. В. Чубенко

ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ – ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ОБЪЕКТОВ НЕМЕДИЦИНСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДОМ ХРОМАТОГРАФИИ В ТОНКИХ СЛОЯХ СОРБЕНТА

Ключевые слова: контролируемые средства, токсикологический скрининг, тонко-слойная хроматография

Р Е З Ю М Е

Изучены параметры хроматографической подвижности фенотропила, метадона и зопиклона, других контролируемых средств (метамфетамина, амфетамина, МДМА, псевдоэфедрина, трамадола, кетамина, декстпропоксифена, декстрометорфана) в условиях нормально-фазовой и обращенно-фазовой тонкослойной хроматографии. Установлено, что использование двух типов пластинок позволяет практически для всех веществ получить некоррелирующие показатели хроматографической подвижности, которые с использованием комплекса реактивов-проявителей обеспечивают обнаружение исследуемых веществ в биологических жидкостях.

CHEMICAL-TOXYCOLOGICAL STUDIES OF NEW DRUGS – POTENTIAL OBJECT OF NONMEDICAL USE BY METHOD OF THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY

Key words: illicit drugs, toxicological screening, thin layer chromatography

S U M M A R Y

Parameters of chromatographycal mobility of phenotropil, methadone and zopiclone and other controlled drugs (methamphetamine, amphetamine, MDMA, pseudoephedrine, tramadol, ketamine, dextropropoxyphene, dextromethorphan) were studied in condition of normal phase and reverse phase thin-layer chromatography. Found that the use of two types of plates allows to achieve non-correlated performance of chromatographyc mobility for nearly all types of that using a set of reagents-developers provide detection of these substances in biological fluids.