

УДК 615.1
ББК 52.81
К-27

Карташов В.А., доктор фармацевтических наук, профессор, декан фармацевтического факультета медицинского института Майкопского государственного технологического университета;

Чернова Л.В., кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармации фармацевтического факультета медицинского института Майкопского государственного технологического университета.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ НАРКОТИЧЕСКИХ, ПСИХОТРОПНЫХ И ДРУГИХ ОДУРМАНИВАЮЩИХ ВЕЩЕСТВ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТАХ (рецензирована)

Статья посвящена определению наркотических, психотропных и других одурманивающих веществ в биологических объектах – одному из объективных методов борьбы со злоупотреблением, незаконным производством и оборотом наркотиков. Результаты определения этих веществ позволяют ответить на различные вопросы, имеющие судебно-правовое, социальное и медицинское значение.

Ключевые слова: наркотические, психотропные, одурманивающие вещества, биологические объекты, анализ.

Злоупотребление наркотическими, психотропными и другими одурманивающими веществами (НПиОВ), незаконное производство и оборот наркотиков в настоящее время создают угрозу для здоровья и жизни людей, подрывают нравственные основы общества, наносят серьезный ущерб экономике.

Одним из инструментов борьбы с этим злом является аналитическая служба, осуществляющая химико-токсикологический анализ НПиОВ. Определение этих веществ в объектах исследования, в том числе в биологических объектах животного происхождения (б/о), позволяет контролировать все уголовно-наказуемые действия, связанные с оборотом и злоупотреблением наркотиков, способствует эффективной диагностике и лечению больных наркоманией.

Определение НПиОВ может быть условно разделено на несколько этапов:

1. Отбор образцов б/о, содержащих НПиОВ;
2. Пробоподготовка;
3. Анализ;
4. Интерпретация результатов анализа.

Каждый из этапов определения НПиОВ в б/о имеет ряд специфических особенностей, отличающих данные исследования от других видов анализа.

1. Одной из особенностей определения НПиОВ является разнообразие б/о, отличающихся своей природой, структурой, морфологическими особенностями, химическим составом и т.д.

Биологические объекты можно подразделить:

Животного происхождения (кровь, сыворотка, моча, слюна, cerebro-спинальная жидкость, смывы срук, полости рта, промывные воды желудка, желчь, стекловидное тело, волосы, ногти, ткани внутренних органов).

Растительного происхождения (мак, опий, конопля, лист кока, табак, чай, кофе).

Лекарственные средства (порошки, таблетки, инъекционные растворы, другие лекарственные формы, содержащие НП и ОВ).

Продукты подпольного производства (героин, каннабис, эфедрон, кокаин и др.)

Другие (пищевые продукты, «неизвестный яд» и т. д.)

Как видно из приведенного перечня объектов исследования, наиболее разнообразными являются объекты животного происхождения. Одним из распространенных б/о для обнаружения в нем наркотических и одурманивающих веществ является моча. В последнее время для этих целей, кроме других объектов чаще стали использовать слюну, волосы, а, в случае смертельных интоксикаций - стекловидное тело, цереброспинальную жидкость. Правила отбора и хранения проб, а также более подробные сведения о б/о представлены в книге [1].

Вторая отличительная особенность определения НПиОВ заключается в том, что экспертам приходится проводить анализ на большое число разнообразных веществ, которые сильно отличаются по своим физико-химическим свойствам. Достаточно привести только наиболее распространенные НПиОВ, чтобы убедиться в этом:

Опиаты и опиоиды (опиум, омнопон, морфин, кодеин, наркотин, неопин; полусинтетические: героин, этилморфин (дионин), гидроморфон, бупренорморфин; синтетические: промедол, фентанил, просидол, трамадол, эстоцин, дипидолор)

Каннабиноиды (*марихуана, гашиш, гашишное масло*): транс- Δ^9 и Δ^8 -тетрагидроканнабинолы (ТГК), каннабинол, каннабидиол, ТГК-кислота.

Амфетамины (фенилалкиламины): амфетамин, метамфетамин, эфедрин, эфедрон.

Психотропные средства: аминазин, хлорпротиксен, галоперидол; бензодиазепины; имипрамин, амитриптилин; натрия оксibuтират.

Другие: кокаин, барбитураты, димедрол, галлюциноген, летучие растворители и другие вещества, включенные в список наркотических веществ Постоянного комитета по контролю наркотиков.

Кроме того, попадая в организм, НПиОВ подвергаются биотрансформации, образуя целый ряд метаболитов, которые чаще всего отличаются от нативных соединений по своим физико-химическим свойствам и аналитическим характеристикам. Это создает дополнительные трудности при выделении, очистке и идентификации анализируемых веществ.

2. При использовании любого метода определения НПиОВ в б/о необходима преданалитическая подготовка. Это связано с тем, что НПиОВ в объектах исследования находятся, как правило, в небольших количествах в большом объеме биологической матрицы, содержащей различные сопутствующие вещества, оказывающие отрицательное влияние на результаты анализа. Пробоподготовка, как правило, включает следующие основные операции:

- выделение (изолирование) НПиОВ из б/о,
- очистку,
- предварительное разделение веществ, концентрирование и ряд других операций в зависимости от характера объекта и с учетом используемого аналитического метода.

Наиболее важным этапом пробоподготовки являются выделение (изолирование) из б/о и очистка НПиОВ. При изолировании исследуемых веществ из биологических жидкостей наибольшее распространение получили экстракционные методы выделения:

- жидкость-жидкостная экстракция (распределение веществ между двумя несмешивающимися жидкостями);
- твердофазная экстракция (сорбция веществ на твердом сорбенте и элюирование их подходящим растворителем).

Преимущество экстракционных методов заключается в том, что они позволяют не только выделить НПиОВ из объектов исследования, но и очистить их от значительного количества сопутствующих веществ.

Часто для установления причин летальных интоксикаций наркотическими и психотропными средствами необходимо изолировать эти вещества из тканей внутренних органов. Вопросы изолирования веществ из тканей (печени, почки и др.), по сравнению с

экстракцией из биологических жидкостей, изучены недостаточно полно. Некоторые теоретические и практические вопросы экстрагирования токсических лекарственных веществ из тканей внутренних органов были разработаны нами [2, 6,]. В частности доказано, что наиболее эффективными и универсальными растворителями для экстрагирования исследуемых веществ являются амфифильные растворители, т.е. растворители, смешивающиеся при экстрагировании и с водой и липидами тканей внутренних органов. В табл. 1 представлены полученные нами данные количественного определения некоторых НПиОВ, изолированных из ткани печени с помощью одного из амфифильных растворителей (нейтрального ацетона).

Таблица 1 - Данные по экстрагированию некоторых НП и ОВ

Вещество	Выход в %	Вещество	Выход в %
Мелипрамин	92,7±2,6	Промедол	89,1±2,5
Аминазин	85,7±3,7	Мезапам	85,2±4,6
Амитриптилин	85,0±1,1	Галоперидол	94,5±6,3
Хлорпротиксен	92,4±4,3	Димедрол	93,7±2,2

Как видно из табл. 1, выход веществ является высоким и составляет 85-94%.

В результате проведенных исследований нами установлены закономерности экстракционного выделения веществ, построены кривые экстрагирования, которые могут быть использованы для прогнозирования выхода веществ; установлены оптимальные условия изолирования (продолжительность экстрагирования, объем растворителя, степень измельчения тканей и др.).

Из способов очистки выделенных веществ используются хроматографические методы и, чаще всего, метод тонкослойной хроматографии (ТСХ). Этот метод дает возможность не только очистить НПиОВ, но и провести их предварительное разделение и отделение нативных веществ от метаболитов. Нами [3] разработан скрининговый метод ТСХ, который кроме очистки позволяет провести групповую идентификацию многих ядовитых и сильнодействующих лекарственных веществ, в том числе и НПиОВ, что значительно сокращает продолжительность анализа и особенно поиск неизвестного вещества.

Кроме метода ТСХ для очистки изолированных из б/о исследуемых веществ применяются экстракционные методы, варианты колоночной хроматографии, их сочетание и некоторые другие способы очистки.

В зависимости от физико-химических свойств объектов исследования и от того, какой метод обнаружения и количественного определения будет применен, пробоподготовка может включать концентрирование, дериватизацию, введение внутреннего стандарта и другие операции. Дериватизацию проводят для улучшения хроматографических характеристик и повышения чувствительности определения. Для этого НПиОВ переводят в сложные эфиры, силильные, ацильные или другие производные. Внутренний стандарт добавляют к анализируемой пробе для получения наиболее точных и воспроизводимых результатов.

В некоторых случаях пробоподготовка значительно сокращается, если объектами исследования являются, например, инъекционные растворы или другие лекарственные формы, содержащие наркотические вещества.

3. Анализ НПиОВ.

Для определения НП и ОВ в б/о применяются разные аналитические методы качественного и количественного анализа. В крупных лабораторных центрах по анализу НП и ОВ используют главным образом следующие методы:

- хроматографические (тонкослойная хроматография - ТСХ, газожидкостная хроматография - ГЖХ, высокоэффективная жидкостная хроматография - ВЭЖХ);
- оптические (УФ-спектрофотометрия);
- иммунные (иммуноферментный анализ, радиоиммунный анализ, поляризационно-флуоресцентный иммунный анализ и др.);
- комбинированные (хромато-масс-спектрометрический метод - ГХ/МС).

Не вдаваясь подробно в аналитические характеристики указанных методов, хотелось бы остановиться на некоторых их достоинствах и недостатках. Из хроматографических методов метод ТСХ подкупает своей экспрессностью, простотой и низкой стоимостью анализа, дает возможность разделять смеси НП и ОВ, отделять нативные соединения от их метаболитов.

Как уже отмечалось выше, разработанный нами вариант ТСХ-скрининга [3], позволяет провести предварительную групповую идентификацию исследуемых веществ. Метод заключается в том, что при хроматографировании веществ параллельно со смесью пяти стандартных веществ, нанесенных по краям пластинки, последние разделяются в условиях эксперимента и «делят» хроматограмму на шесть зон. Исследуемые вещества попадают в одну из этих зон и могут быть отнесены к одной из шести хроматографических групп. В табл. 2 приведены данные по хроматографическому анализу некоторых наркотических и психотропных веществ основного характера.

Таблица 2 - Вещества и хроматографические группы (I-VI), к которым они отнесены

I	II	III	IV	V	VI
Морфин Гидрокодон	Кодеин Этилморфин Промедол Аминазин Имипрамин Дипразин	Хлорпротексен	Галоперидол Тизерцин Фторацизин Хлордиазепоксид Кокаин Динезин	Оксазепам Феназепам Нитразепам Меzapам	Эфедрин

После хроматографического разделения и элюирования веществ, их анализ может быть продолжен с помощью других методов (ГЖХ, ВЭЖХ).

Близкими по своим аналитическим характеристикам являются методы ГЖХ и ВЭЖХ. Они более эффективны по сравнению с ТСХ, позволяют проводить серийные анализы, одновременно сочетая идентификацию и количественное определение веществ. В литературе широко представлены и применяются в практике многочисленные способы и варианты хроматографических методов. Однако хроматографические методы являются недостаточно специфичными, особенно при анализе неизвестного НП и ОВ. И все же эти методы незаменимы, когда речь идет об анализе на конкретное вещество или на подозреваемую группу НП и ОВ.

Метод УФ-спектрофотометрии широко применяется в различных лабораториях для анализа многих веществ. Для получения с помощью этого метода надежных результатов определения НП и ОВ, выделенных из б/о, необходимо, чтобы они были предварительно отделены от сопутствующих веществ, других исследуемых веществ и метаболитов. Кроме того, чувствительность метода очень сильно зависит от величины удельного (малярного) коэффициента поглощения анализируемых веществ.

Иммунные методы, в основе которых лежит реакция антител с молекулами определяемых веществ (антигенами), т.е. реакция «антигенантитело» являются, прежде

всего, более специфичными по сравнению с другими методами и чувствительными, позволяют одновременно анализировать большое число проб, удобны для скрининг-диагностики. Одним из крупных недостатков иммунных методов при анализе НПиОВ является большая по сравнению с другими методами вероятность получения ложноположительных и ложно-отрицательных результатов. Поэтому иммунные методы, как правило, применяются в сочетании с другими методами, чаще с хроматографическими.

В анализе НПиОВ является перспективным использование последовательного сочетания нескольких методов. В работах [4, 5] нами изложен принцип последовательного сочетания «вещствосберегающих» методов анализа в скрининговых вариантах (ТСХ-скрининг → УФ-СФМ-скрининг → ВФЖХ-скрининг). Применение такого сочетания методов значительно повышает эффективность определения токсических веществ в биологических объектах. Сочетание хроматографического разделения и масс-спектрального детектирования реализовано в хромато-масс-спектральном анализе (ГХ/МС-метод). Этот метод является высоко специфичным, чувствительным и экспрессным методом анализа, поэтому его преимущества перед другими методами признаны повсеместно. А использование программного компьютерного обеспечения не только значительно облегчает идентификацию веществ, но и дает возможность сделать вывод о строении и формуле анализируемого НПиОВ или его метаболита.

4. Интерпретация результатов анализа.

4.1. Отрицательный результат при анализе биологической жидкости означает следующее:

- обследуемый никогда не употреблял наркотик;
- обследуемый не употреблял наркотик только в последнее время;
- обследуемый разбавил образец во время отбора пробы или выпил большое количество жидкости или мочегонное средство перед тем, как у него должны брать пробу;
- обследуемый подменил пробу биожидкости;
- был использован недостаточно чувствительный метод.

4.2. Положительный результат означает, что обследуемый принимает наркотик постоянно, не регулярно, по рецепту врача или самостоятельно.

4.3. Результаты анализа позволяют не только подтвердить или опровергнуть наличие НПиОВ в образце, но и в случае положительного результата, различить случаи хронического или разового употребления вещества. Для этого нужно сопоставить концентрации нативного вещества и его метаболитов. Более высокие концентрации нативного вещества свидетельствуют об остром отравлении или разовом употреблении НПиОВ, а если выше концентрация метаболитов – о постоянном употреблении.

4.4. Установлено, что в образцах каннабиса, ввезенных из разных регионов, отсутствуют отдельные каннабиноиды или присутствуют в значительно больших количествах, по сравнению с другими образцами.

4.5. В образцах подпольного героина, амфетамина, эфедрона и других НПиОВ присутствуют характерные для каждого способа изготовления примеси, промежуточные продукты, продукты распада исследуемых веществ, остатки реагентов и т.д. Определение этих веществ может дать ценную информацию, касающуюся подпольного производства.

4.6. По результатам определения можно отличить наркотическое вещество, являющееся лекарственным средством от того же вещества, но изготовленного подпольно.

Таким образом, определение НПиОВ в биологических объектах является мощным объективным методом в борьбе с распространением и употреблением НПиОВ, позволяет ответить на различные вопросы, имеющие судебно-правовое, социальное и медицинское значение.

Литература

1. Еремин С. К., Изотов Б. Н., Веселовская Н. В. Анализ наркотических средств. М.: «Мысль», 1993.
2. Карташов В. А. Изучение вопросов экстракции лекарственных веществ из биологического материала: Дис. . . . докт. фармац. наук. Барнаул, 1990. - 361 с.
3. Карташов В. А., Овсянникова В. М., Кудрикова Л. Е. Вариант ТСХ-скрининга ядовитых и сильно-действующих азотсодержащих органических оснований//Судеб.-мед. экспертиза. - 1982. - № 3. - С. 39-41.
4. Карташов В. А., Чернова Л. В. Применение скрининговых методов и их сочетаний в химико-токсикологическом анализе лекарственных веществ основного и кислотного характера//Актуальные вопросы судебной медицины и экспертной практики: Сб. науч. тр. - Новосибирск, 1998. - В тп. 3. - С. 211-214.
5. Карташов В. А., Чернова Л. В. Идентификация токсических лекарственных веществ в биологических объектах путем последовательного сочетания скрининговых методов//Теоретические и прикладные аспекты проблемы здоровья населения Северного Кавказа. - Майкоп, 2002. - С. 137-139.
6. Чернова Л. В. Изолирование, обнаружение и определение хлорпротиксена, аминазина, амитриптилина и мелипрамина при исследовании биологического материала: Дис. ... канд. фармац. наук. - Барнаул, 1990, - 219 с.