

УДК 543.544.51+343.977

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГАММА-ГИДРОКСИМАСЛЯНОЙ КИСЛОТЫ И ЕЕ ПРЕКУРСОРОВ В ОБЪЕКТАХ КРИМИНАЛИСТИЧЕСКОЙ ЭКСПЕРТИЗЫ

И.М. Фицев, О.А. Степущенко, О.В. Власова, Г.К. Будников

Аннотация

С использованием хроматографических методов (ТСХ, ГХ-МС, ГХ) и ИК-спектроскопии разработаны способы определения гамма-гидроксимасляной кислоты и ее прекурсоров в объектах криминалистической экспертизы. Для получения хроматографически лабильных соединений использованы реакции гамма-гидроксимасляной кислоты и ее прекурсоров с N,O-бис-(триметилсилил)-трифторацетамидом.

Ключевые слова: гамма-гидроксимасляная кислота, гамма-бутиролактон, тонкослойная хроматография, газовая хроматография, хроматомасс-спектрометрия, ИК-спектроскопия.

Введение

В последнее время в незаконном обороте контролируемых веществ и препаратов на территории Российской Федерации, и в частности на территории Республики Татарстан, все чаще встречаются препараты, содержащие гамма-гидроксимасляную кислоту (ГОМК) и ее прекурсоры, например гамма-бутиролактон (ГБЛ). Соли ГОМК – оксибутираты (ОБ) – психотропные вещества [1, 2], используемые в медицине как средства неингаляционного наркоза [3]. При приеме повышенных доз солей ГОМК и ее прекурсоров наблюдаются эйфорические эффекты, которые обуславливают немедицинское злоупотребление этими препаратами. При воздействии температуры или при кислых значениях рН водных растворов ОБ теряют воду и циклизуются в ГБЛ, обладающий более выраженным и длительным снотворным эффектом и другими близкими с ОБ фармакологическими проявлениями [4] Это вещество, наряду с ОБ и вместо них, используется для получения различных наркотических средств. Аналогичным образом в качестве заместителей ОБ используются гамма-гидроксibuтираль, 1,4-бутандиол, транс-4-гидроксикротоно-вая кислота, ее лактон, а также различные гомологи ОБ [5].

Проведение определения ОБ и их прекурсоров в различных препаратах затруднено, так как связано с идентификацией целевых компонентов среди большого количества схожих по свойствам веществ. Аналоги и гомологи 1,4-бутандиола, например 1,3-бутандиол, 2,3-бутандиол, 1,2-пропандиол, их сложные и простые эфиры наряду со спиртами, другими эфирами, альдегидами, кетонами и летучими жирными кислотами являются составными частями спиртных и безалкогольных напитков, продуктов питания. Определенные трудности

при исследовании солей ГОМК связаны с тем, что сами ОБ методами тонкослойной (ТСХ) и газовой хроматографии (ГХ) не детектируются из-за их малой хроматографической подвижности [6].

Анализ литературных данных [4–6] показывает, что задача определения производных ГОМК и ее прекурсоров, обладающих психоактивными эффектами, в объектах криминалистической экспертизы является актуальной.

Цель настоящей работы состояла в разработке надежных экспресс-методов качественного и последующего количественного определения производных ГОМК и ее прекурсоров в объектах криминалистической экспертизы с использованием хроматографических и спектральных методов.

1. Экспериментальная часть

Аппаратура. Исследования методом ГХ-МС выполняли на ГХ с масс-селективным детектором модели «6890 Network GC System» – «5973N Network Mass Selective Detector» («Agilent Technologies», США). Условия проведения анализа: колонка HP5-MS (30 м × 0.25 мм, толщина пленки фазы – 0.25 мкм), начальная температура термостата колонки – 75 °С, скорость увеличения температуры – 10 °С/мин, конечная температура термостата колонки – 280 °С (выдержка 10 мин); температура инжектора – 280 °С, температура интерфейса – 290 °С, режим ввода пробы с делением потока (40 : 1), объем вводимой пробы – 1 мкл. Газ-носитель – гелий (ос.ч), поток газа-носителя через колонку – 1.0 мл/мин. Масс-селективный детектор работал в режиме электронного удара (70 эВ), сканирование выполнялось в интервале от 25 до 550 Да. Регистрацию хроматограмм проводили по полному ионному току, а полученные масс-спектры сравнивали с библиотечными масс-спектрами (библиотеки NIST'2002, Wiley 7N, PMW-TOX 3, США).

Исследования методом ГХ проводили на газовом хроматографе «Кристалл-2000 М» (ЗАО «СКБ Хроматэк», Россия) на кварцевой капиллярной колонке длиной 50 м и диаметром 0.2 мм с нанесенной метилсиликоновой фазой типа «DB-1» (толщина пленки фазы 0.33 мкм). Условия анализа: температура инжектора – 280 °С, температура пламенно-ионизационного детектора – 290 °С, температура колонки изменялась по программе от 200 °С до 280 °С со скоростью 12 °С /мин. Время выдержки при конечной температуре 10 мин. Газ-носитель – азот (ос.ч.). Инъекцию осуществляли микрошприцем «Perkin Elmer 1 µl» (фирма «Perkin Elmer», США), объем инжестируемой пробы – 1 мкл. Пробу вводили в режиме с делением потока 1 : 40. Регистрацию хроматографических пиков на хроматограммах проводили путем сравнения времени удерживания пиков с временем удерживания пиков на хроматограммах соответствующих свободных образцов. Обработку хроматографической информации проводили с использованием прикладной программы «Хроматэк Аналитик.Вер.1.21» (ЗАО «СКБ Хроматэк», Россия).

ИК-спектры регистрировали на ИК-Фурье спектрометре «Spectrum BX FT-IR» (фирма «Perkin-Elmer», США) при следующих условиях: разрешение – 4 см⁻¹, усиление – 1, число сканирований – 32, интервал записи – 4000÷400 см⁻¹ в микротаблетках из бромида калия. Идентификацию спектров проводили с использованием библиотеки ИК-спектров «Sadtler Canadian Forensics Package Library».

Для исследований методом ТСХ использовали пластины «Sorbfil ПТСХ-АФ-В-УФ» (ЗАО «Сорбполимер», Россия). Разделение проводили в стандартных стеклянных камерах. Детектирование хроматографических зон осуществляли при длине волны 254 нм.

Реагенты. Применяли этилацетат, гидроксилламин, гидроксид натрия, ацетонитрил, метилстеарат (МС) квалификации «хч», хлорид железа(III) и концентрированную хлористоводородную кислоту квалификации «чда». Использовали гамма-бутиролактон, оксибутират натрия, N,O-бис-(триметилсилил)-трифторацетамид (BSTFA) квалификации «для хроматографии», предоставленные научно-исследовательской группой главного научного сотрудника НИЛ ЭКЦ МВД России, кандидата химических наук В.И. Сорокина (г. Москва). Проявляющие растворы для ТСХ готовили на бидистиллированной воде растворением точной навески препаратов.

2. Результаты и их обсуждение

Исследования методом ТСХ. Метанольный раствор ГБЛ наносили на линию старта пластины и хроматографировали восходящим методом в этилацетате до подъема фронта элюента на 100 мм. После просушивания пластину рассматривали при длине волны 254 нм. При этом на хроматограмме была обнаружена интенсивная зона поглощения флуоресценции со значением R_f 0.56. Проявление зоны осуществляли последовательно, с промежуточным просушиванием, двумя растворами [7]:

1) 10%-ным раствором гидроксилламина в 20%-ном растворе гидроксида натрия (1 : 1);

2) 2.6%-ным раствором хлорида железа (III) в концентрированной хлористоводородной кислоте (15 : 2). Растворы готовили непосредственно перед процессом хроматографирования. Выявленные зоны окрашивались в оранжево-коричневый цвет.

Таким образом, метод тонкослойной хроматографии позволяет быстро на качественном уровне обнаруживать ГБЛ и не требует дорогостоящего аналитического оборудования. Метод прост и удобен, позволяет в короткое время оценить присутствие в исследуемом объекте ГБЛ, что особенно ценно в криминалистической экспертизе, где требуется оперативное принятие решений. Недостатком метода ТСХ является предел чувствительности на уровне 10^{-5} г/мл.

Исследования методами ГХ-МС и ГХ-ПИД. При определении ОБ натрия методом ГХ-МС использовали метод пробоподготовки – силирование с BSTFA [5, 6]. К исследуемому объекту, помещенному в виалу, прибавляли 200 мкл смеси 25%-ного раствора BSTFA в ацетонитриле. Смесь выдерживали при 70 °С в течение 40 мин на водяной бане, охлаждали и после этого проводили исследование методом ГХ-МС. На рис. 1, а представлена типичная ионная хроматограмма силильного производного ОБ натрия, зарегистрированная в ГХ-МС, а на рис. 1, б – его масс-спектр. Для последующего использования результатов, полученных методом ГХ-МС, проводили определение индекса удерживания силильного производного ОБ натрия. Определение проводили по стандартной процедуре [8] с использованием смеси *n*-алканов с числом углеродных

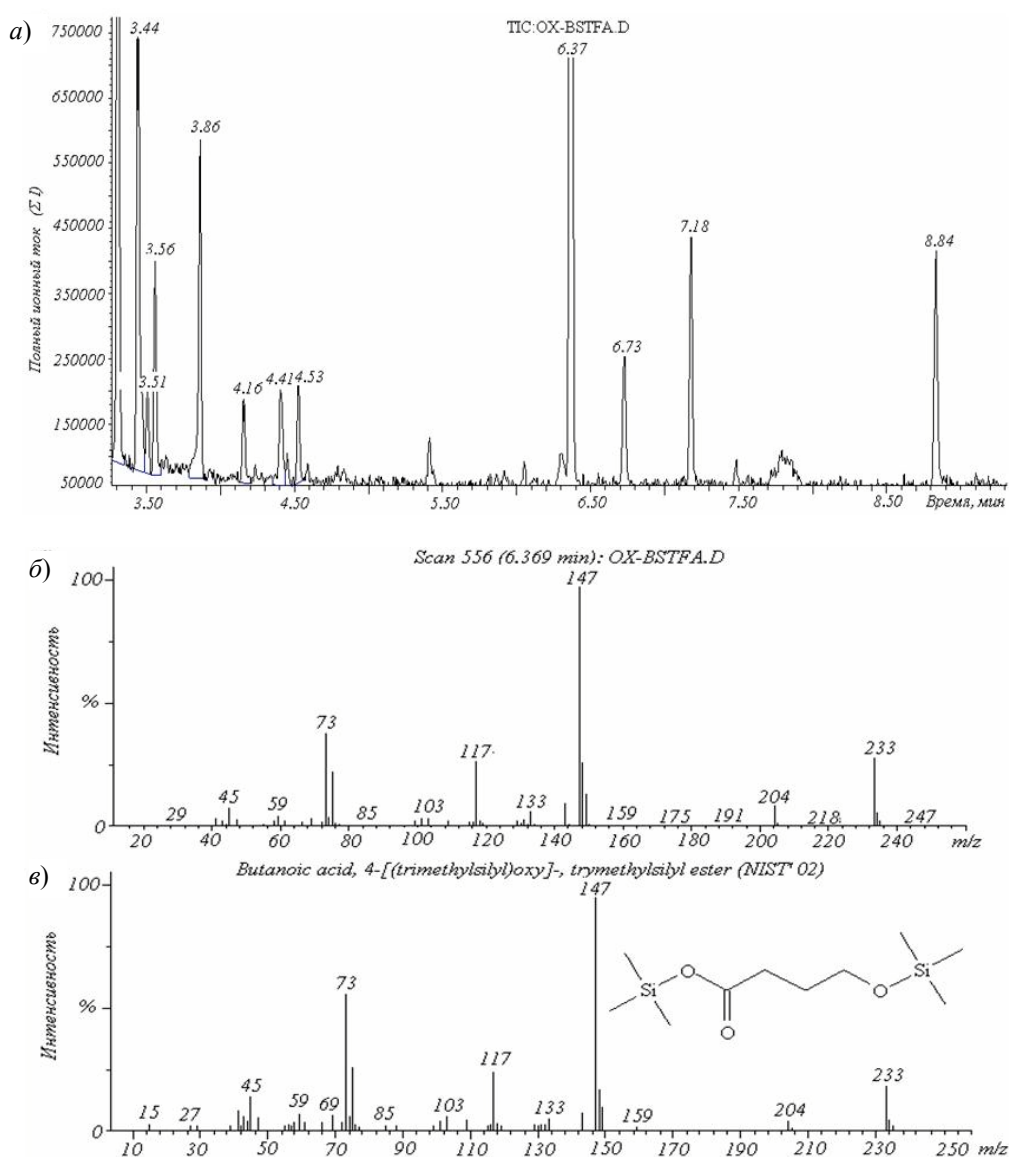


Рис. 1. Ионная хроматограмма силильного производного ОБ натрия (а), его масс-спектр (б) и библиотечный масс-спектр (библиотека масс-спектров NIST'2002) сильного производного ОБ натрия (в)

атомов $C_6 - C_{33}$. Было установлено, что силильное производное ОБ натрия элюируется между C_{11} и C_{12} , а его индекс удерживания равен: $I_a = 1235$. Полученные результаты использовали для количественного ГХ-определения в ОБ натрия. Количественное определение силильного производного ОБ натрия проводили с использованием внутреннего стандарта. В качестве внутреннего стандарта использовали метилстеарат.

Перед определением готовили раствор внутреннего стандарта в 25%-ном растворе BSTFA в ацетонитриле с концентрацией МС, равной 2.5 мг/мл. Навеску ОБ натрия массой 1–4 мг помещали в вialу, добавляли 1.0 мл раствора

Табл. 1

Результаты ГХ-определения различных концентраций силильного производного оксибутирата натрия ($n = 3, P = 0.95$)

№	Введено, мг	Найдено в ГХ-ПИД ($x \pm \delta x$), мг
1	6.00	6.04 ± 0.20
2	5.40	5.42 ± 0.52
3	3.00	2.90 ± 0.30

внутреннего стандарта в 25%-ном растворе BSTFA в ацетонитриле. Полученную смесь выдерживали при 70 °С в течение 30 мин и после охлаждения хроматографировали в указанных выше условиях. Для расчета количества силильного производного ОБ натрия использовали относительный массовый коэффициент ГОМК к МС, равный 0.50. Статистическую обработку результатов количественного ГХ определения различных концентраций силильного производного ОБ натрия проводили по методике, приведенной в работе [9]. Результаты проверки правильности определения способом «введено-найдено» представлены в табл. 1.

В целом следует подчеркнуть, что при проведении скрининга на поиск производных ГОМК и ее прекурсоров (в частности, ОБ натрия), следует иметь в виду, что данные ОБ являются хроматографически малоподвижными веществами [4–6], поэтому для исследования таких препаратов методами ГХ или ГХ-МС необходимо получение их силильных производных либо перевод ОБ в ГБЛ с последующей экстракцией органическими растворителями. В качестве органического растворителя могут служить петролейный эфир, хлороформ. При использовании данных растворителей легко добиться наилучшего разделения фаз, а также их легко отгонять. В связи с этим были также проведены эксперименты по исследованию поведения ГБЛ в условиях ГХ-МС и ГХ. Исследования выполняли в условиях, приведенных выше. Типичная ионная хроматограмма ГБЛ и его масс-спектр представлены на рис. 2, а–в.

В связи с этим получение ГБЛ и его ГХ- или ГХ-МС-определение можно рассматривать как альтернативный способ определения ОБ натрия, например, в случае отсутствия необходимых силирующих реагентов.

Таким образом, результаты исследования производных ГОМК методами ГХ и ГХ-МС позволяют заключить, что основными преимуществами этих методов является то, что при строгом соблюдении условий газохроматографического разделения они не требуют стандартного вещества. Метод ГХ для характеристики определяемого вещества позволяет использовать его индекс удерживания, а метод ГХ-МС, кроме того, – масс-спектральные характеристики (масс-спектр) определяемого вещества, в отличие от метода ТСХ, при использовании которого наличие образца сравнения является необходимым условием. Методы ГХ и ГХ-МС обладают высокой чувствительностью (зависимость площади ионного тока пика от концентрации ГБЛ определяется соотношением $S_{\text{пика}} (\text{у.е.}) = a + bC$, где C – содержание ГБЛ (г/мл), a и b – соответствующие коэффициенты уравнения градуировочной прямой, и имеет вид:

$$S_{\text{пика}} = (56.5 \pm 16.0) + (62.5 \cdot 10^8 \pm 4.0 \cdot 10^8)C \quad \text{при } n = 10, r = 0.996,$$

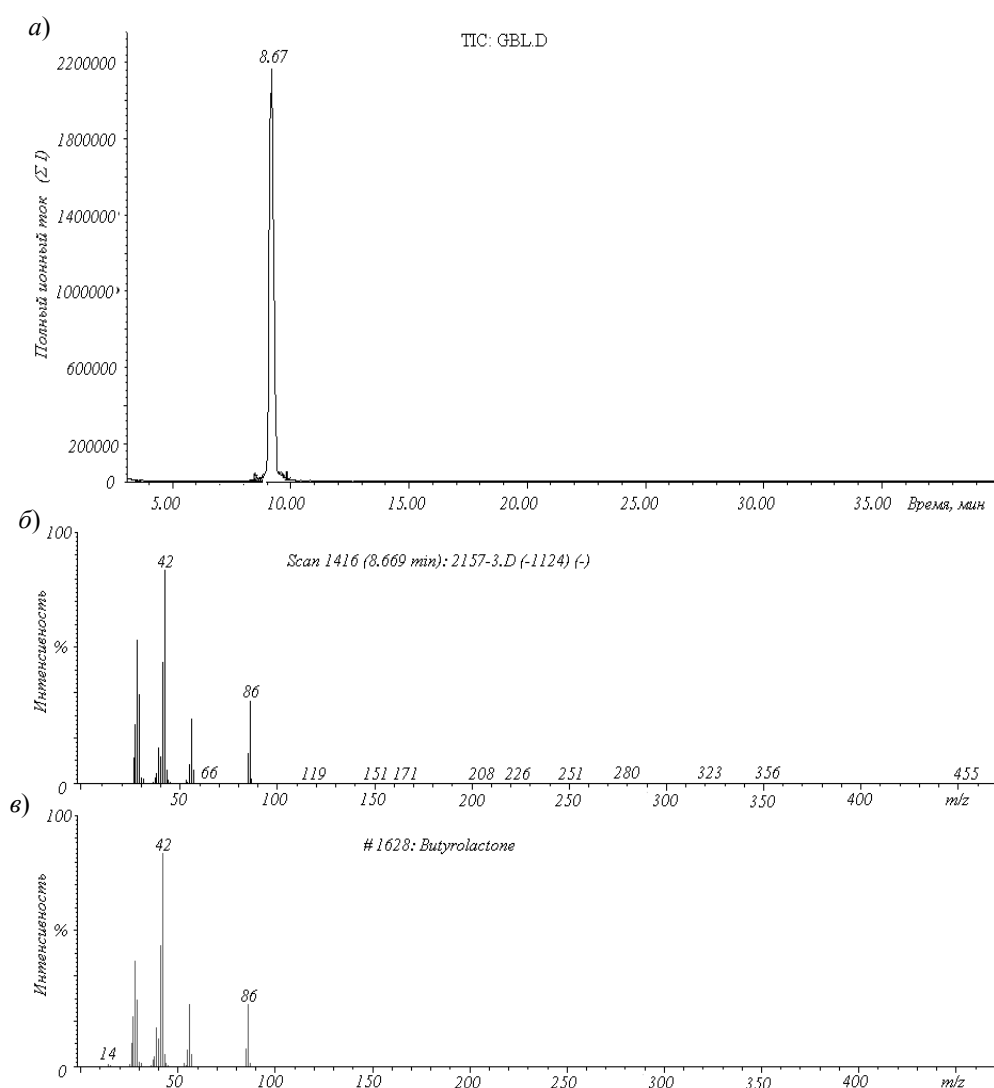


Рис. 2. Ионная хроматограмма метанольного раствора ГБЛ (а), его масс-спектр (б) и масс-спектр ГБЛ (в) из библиотеки масс-спектров NIST'02

предел обнаружения ГБЛ составляет $8 \cdot 10^{-9}$ г/мл) и по времени выполнения самой процедуры определения производных ГОМК по одной из альтернативных схем (получение либо силильного производного, либо ГБЛ) являются экспресс-ными.

Исследование методом ИК-спектроскопии. В качестве возможного способа определения производных ГОМК в объектах криминалистической экспертизы рассмотрено также применение метода ИК-спектроскопии. При исследовании методом ИК-спектроскопии жидкость, содержащую, например, ОБ натрия, предварительно помещали на часовое стекло и упаривали. Остаток высушивали в сушильном шкафу при температуре 90°C в течение нескольких часов.

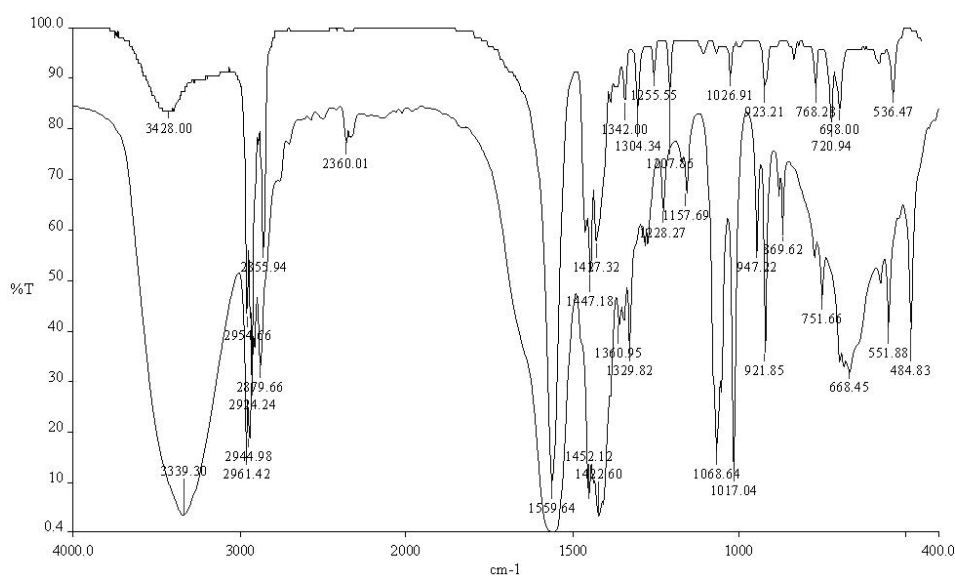


Рис. 3. ИК-спектр сухого остатка, содержащий ОБ натрия (нижний) и ГОМК (верхний) из библиотеки ИК-спектров «Sadtler Canadian Forensic Package Library»

Как правило, если концентрация ОБ натрия в пределах не ниже 1.0%, полученный остаток представляет собой белый кристаллический порошок со слабым специфическим запахом, быстро расплывающийся на воздухе (признак, свидетельствующий о высокой гигроскопичности вещества). 0.002 г от сухого остатка перетирала в агатовой ступке с бромидом калия в соотношении (1 : 200) и прессовали таблетку. В ИК-спектре сухого остатка (рис. 3), полученного в результате выпаривания содержащей ОБ натрия жидкости, имеются следующие полосы поглощения: широкая интенсивная полоса при 3339 см^{-1} , соответствующая валентным колебаниям О–Н-связи гидроксильной группы; группа полос при 2924 см^{-1} и ниже, соответствующая валентным колебаниям Н-связей метиленовых групп; интенсивные полосы при 1559 и 1422 см^{-1} , отвечающие соответственно асимметричным и симметричным колебаниям ионизированной карбоксильной группы.

Недостатками данного метода, в отличие от ТСХ, ГХ и ГХ-МС, является то, что если перечисленные выше хроматографические методы позволяют работать непосредственно с жидкими веществами, то для метода ИК-спектроскопии необходимо получать сухой остаток, что не всегда удается в случае сильно разбавленных растворов. Кроме того, соли ГОМК обладают высокой гигроскопичностью, что негативно сказывается на качестве ИК-спектра и его последующей интерпретации, даже с использованием компьютерных баз данных ИК-спектров.

Предложенные способы определения ГОМК и ее прекурсоров в настоящее время используются при проведении криминалистических экспертиз материалов, веществ и изделий в Экспертно-криминалистическом Центре МВД по Республике Татарстан.

Summary

I.M. Fitsev, O.A. Stepuschenko, O.V. Vlasova, H.C. Budnikov. Identification of Gamma-Hydroxybutyric Acid and Its Precursors in the Objects under Forensic Examination.

The article deals with some experiments using chromatographic methods (TLC, GC/MS) and IR-spectroscopy for qualitative and quantitative identification of gamma-hydroxybutyric acid derivatives in the process of forensic examination. The working conditions for detecting gamma-hydroxybutyric acid derivatives were determined. The reaction of gamma-hydroxybutyric acid with BSTFA (N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide) was used to obtain chromatographically labile compounds of sodium hydroxybutyrate and gamma-butyrolactone.

Key words: gamma-hydroxybutyric acid, gamma-butyrolactone, thin-layer chromatography, gas chromatography, gas chromatography – mass spectrometry, infrared spectroscopy.

Литература

1. Постановление Правительства Российской Федерации № 681 от 30 июня 1998 г. «Об утверждении Перечня наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, подлежащих контролю в Российской Федерации». Список III Перечня, раздел Психотропные вещества // Сборник нормативных документов по контролю за легальным оборотом наркотических средств, психотропных, сильнодействующих веществ и ядов / Под общ. ред. Первого заместителя министра внутренних дел РТ Р.З. Тимерзянова. – Казань: Изд-во МВД Республики Татарстан, 2001. – 314 с.
2. «Списки сильнодействующих и ядовитых веществ», утвержденные постановлением Правительства Российской Федерации от 29 декабря 2007 г. № 964 «Об утверждении списков сильнодействующих и ядовитых веществ для целей статьи 234 и других статей Уголовного кодекса Российской Федерации, а также крупного размера сильнодействующих веществ для целей статьи 234 Уголовного кодекса Российской Федерации» // Рос. газ. – 2008. – 16 янв. – № 4563.
3. *Машковский М.Д.* Лекарственные средства: в 2 ч. – М.: Медицина, 1994. – Ч. 1 – 736 с.
4. *Craig K., Gomez H.F., McManus J.L., Bania T.C.* Severe gammahydroxybutyrate withdrawal: a case report and literature review // J. Emerg. Med. – 2000. – V. 18, No 1. – P. 65–70.
5. *Симонов Е.А., Савчук С.А., Сорокин В.И., Кислун Ю.В., Клюев А.Е.* Оксibuтират, его прекурсоры и метаболиты // Наркология. – 2002. – № 3. – С. 12–19.
6. *Симонов Е.А., Сорокин В.И., Савчук С.А.* Применение газовой хроматографии и хроматомасс-спектрометрии для определения гамма-гидроксимасляной кислоты и ее прекурсоров в объектах различного происхождения // Журн. аналит. химии. – 2004. – Т. 59, № 10. – С. 1072–1076.
7. Фармакопейная статья. Раствор натрия оксibuтирата. ФС 42-1084-99. – М.: Изд-во Фармакопейного Комитета Минздрава РФ, 2000. – 10 с.
8. Высокоэффективная газовая хроматография / Под ред. К. Хайвера. – М.: Мир, 1993. – 228 с.
9. *Доерфель К.* Статистика в аналитической химии. – М.: Мир, 1969. – 240 с.

Поступила в редакцию
21.12.09

Фицев Игорь Михайлович – кандидат химических наук, заместитель начальника отдела специальных экспертиз Экспертно-криминалистического центра МВД по Республике Татарстан, г. Казань.

E-mail: fitzev@mail.ru

Степушенко Олег Александрович – заместитель министра внутренних дел по Республике Татарстан, МВД по Республике Татарстан, г. Казань.

Власова Ольга Витальевна – студент кафедры аналитической химии Химического института им. А.М. Бутлерова Казанского (Приволжского) федерального университета.

Будников Герман Константинович – доктор химических наук, профессор кафедры аналитической химии Химического института им. А.М. Бутлерова Казанского (Приволжского) федерального университета.

E-mail: *Herman.Budnikov@ksu.ru*