

СКРИНИНГ СЛАБОПОЛЯРНЫХ НАРКОТИЧЕСКИХ И СИЛЬНОДЕЙСТВУЮЩИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ В КРОВИ МЕТОДОМ ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ - МАСС СПЕКТРОМЕТРИИ

Мелентьев, А.Б., Латышева Г.А. (Челябинск)

С помощью газовой хроматографии (ГХ) на капиллярных колонках возможно разделение сложных смесей веществ из экстрактов биологических жидкостей, что позволяет проводить скрининг легколетучих наркотических и сильнодействующих веществ без предварительной дериватизации в судебной и клинической токсикологии. Скрининг методом ГХ без дериватизации используют, в основном, для анализа экстрактов крови и внутренних органов, так как с мочой наркотические и лекарственные вещества выделяются в виде полярных метаболитов, для анализа которых необходимо преобразование полярных групп в неполярные. В опубликованных методиках скрининга крови применяли, в основном, термоионный, или пламенно-ионизационный детекторы. Для извлечения анализируемых веществ из крови использовали различные растворители: бутилхлорид, бутилацетат или смеси растворителей, реже использовали твердофазную экстракцию,

в основном, для плазмы. Применяемые для сепарации колонки также различались полярностью от полностью неполярных на основе 100% диметилсилоксана до фаз средней полярности -14% цианопропилфенил диметилсилоксан.

Мы обобщили эти методики и разработали усовершенствованную схему скрининга слабополярных наркотических и сильнодействующих лекарственных веществ в трупной крови, основанную на одноступенчатой экстракции для извлечения "кислых", "нейтральных" и "основных" веществ, основы которой были опубликованы нами ранее. Процедура включает введение внутреннего стандарта (циклизин), коррекцию pH среды для создания условий одновременного извлечения в органический растворитель (дихлорметан) веществ кислого, нейтрального и основного характера. После отделения органического растворителя и его отгонки остаток реконструируется в метаноле и анализируется на газовом хроматографе HP5890 с масс селективным детектором HP5972. Для анализа используется капиллярная колонка HP-5 длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм и толщиной пленки неподвижной фазы 0,25 мкм. Режимы работы хроматографа и масс селективного детектора: температура инжектора 250°C, устройства сопряжения 290°C, температура колонки меняется от 80°C с выдержкой 1 мин, нагрев до 200°C со скоростью 40 град/мин и дальнейший нагрев со скоростью 12,5 град/мин до 300°C с выдержкой при конечной температуре 5 мин, газ-носитель гелий, режим постоян-

Таблица 1

Состав тестовой смеси № 1 и характеристики контролируемых веществ.

№ п/п.	Название вещества	Конц. в крови мкг/мл	Интервал времени удерживания, мин	Характеристические ионы, а.е.м.		
				m/z 1	m/z 2	m/z 3
1	Эфедрин (артифакт)	2	4,0-4,5	71	56	105
2	Промедол	1	5,9-6,5	186	201	275
3	Кетамин	0,5	6,1-6,7	180	182	209
4	Трамадол	1	6,5-7,3	58	263	135
5	Кокаин	1	8,0-8,8	182	303	272
6	Амитриптилин	0,5	8,0-8,7	58	202	215
7	Атропин	0,5	8,2-8,9	124	289	140
8	Имизин	0,5	8,2-9	234	235	280
9	Циклодол	0,5	8,4-9,1	98	218	219
10	Дипразин	2	8,5-9,3	72	180	284
11	Динезин	2	9,2-10	86	298	180
12	Аминазин	0,5	10-10,6	58	282	318
13	Тизерцин	2	10,1-10,7	58	328	228
14	Папаверин	1	11,8-12,6	324	310	325
15	Тиоридазин	2	14-14,8	98	370	244
16	Верапамил	1	14,1-14,9	303	304	151
17	Фепранон	0,5	4,4-5,0	100	77	105
18	Бутадион	10	9,1-9,8	183	77	308

Таблица 2

Состав тестовой смеси № 2 и характеристики контролируемых веществ.

№ п/п.	Название вещества	Конц. в крови мкг/мл	Интервал времени удерживания, мин	Характеристические ионы, а.е.м.		
				m/z 1	m/z 2	m/z 3
1	Барбитал	5	4,5-5,1	141	156	155
2	Амобарбитал	1	5,3-6,0	156	141	197
3	Пентабарбитал	5	5,5-6,1	156	141	197
4	Мепробамат	12,5	5,7-6,3	83	55	144
5	Димедрол	0,5	6,1-6,7	58	165	167
6	Лидокаин	2	6,1-6,8	58	120	234
7	Фенобарбитал	5	6,7-7,4	204	117	232
8	Циклобарбитал	5	6,8-7,5	207	141	208
9	Оксазепам артифакт	0,5	7,2-7,9	239	205	241
10	Диклофенак- H2O	5	7,7-8,4	214	242	277
11	Супрастин	1	7,9-8,6	58	125	127
12	Медазепем	1	8,3-9,1	242	207	270
13	Карбамазепин	5	8,9-9,6	236	193	192
14	Диазепам	1,5	9,6-10,3	283	256	285
15	Хлордиазепоксид(дезокс)3		10,1-10,8	282	283	284
16	Феназепам	2	11,2-12,0	350	321	348
17	Нитразепам (АНБ)	4	9,2-9,9	241	77	242
18	Клозапин	1	12,2-13,0	243	256	258
18	Триоксазин	2,5	8,3-9,1	195	281	196

ного потока, первоначальное давление на колонке 14 psi (корректируется по мере выработки ресурса колонки или при ее замене для сохранения постоянного времени удерживания внутреннего стандарта 7,4 мин), ввод пробы без деления потока, объем образца 1 мкл, режим сканирования ионов от 40 до 450 а. е. м.

Серийная схема проведения анализов по скринингу позволяет использовать комбинации стандартов, введенных в образцы "холостой" крови, для контроля пробоподготовки, состояния аппаратуры и качества идентификации контролируемых веществ. В табл. 1 и 2 приведены используемые контрольные смеси (смесь №1 анализируется перед анализом серий образцов, а смесь №2 после серии), а также концентрации контролируемых веществ к контрольным образцам крови и интервалы времени, в которых ведется поиск веществ по хроматограммам характеристических ионов. Идентификация веществ производится с помощью дублирующей системы по масс-спектрам и индексам удерживания (автоматическая система масс-спектральной деконволюции и идентификации (AMDIS) и по хроматограммам характеристических ионов в определенном временном интервале поиска. Как видно из таблицы, большинство контролируемых веществ определяется в крови в терапевтических или нижних токсических концентрациях, и только некоторые из них в летальных. Совместно с анализом опиатов и некоторых других полярных наркотических и лекарственных веществ, которые анализируются нами по ранее опубликованной методике, описанный выше анализ перекрывает практически весь круг наркотических и сильнодействующих лекарственных веществ, анализ которых обязателен при общем судебно-химическом анализе. Кроме перечисленных в списке стандартов веществ методика позволяет обнаруживать широкий круг других сильнодействующих средств, анализ которых не является обязательным, однако на практике случаи отравления этими препаратами встречаются не редко, так по данной методике в одной из экспертиз в крови был обнаружен перметрин. Использование внутреннего стандарта, введенного в каждую пробу перед анализом, позволяет не только контролировать качество пробоподготовки и ГХ анализа, но и ориентировочно определить концентрации обнаруженных веществ, что необходимо для выбора методики дальнейшего подтверждающего анализа с количественным определением. Методика была успешно использована для скрининга около 1500 образцов за 2003 и 2004 годы в Челябинском областном бюро судебно-медицинской экспертизы.