

Качественный и количественный состав опия как уникальная характеристика его партии

БАРАМ Г.И.
БАРСЕГЯН С.С.

д.х.н., заместитель генерального директора ЗАО Институт хроматографии «ЭкоНова»
эксперт Экспертно-криминалистического отдела Управления Федеральной службы
Российской Федерации по контролю за оборотом наркотиков по Кемеровской области

Разработана методика качественного и количественного определения наркотически активных компонентов и микропримесей опия с целью установления общности источника их происхождения с применением жидкостного хроматографа. Оптимальные условия проведения анализа позволяют достигать высокую воспроизводимость результатов. Оптимизирована процедура подготовки пробы при количественном определении компонентов опия методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). С помощью предлагаемой методики возможно формирование базы образцов, которая позволит проследить пути распространения и перемещение опия, значительно повысит надежность и достоверность сравнительного исследования образцов и даст возможность установить общность источника их происхождения.

Введение

Среди употребляемых наркотических средств одним из самых распространенных на территории России является опий. При проведении химико-токсикологических исследований в лабораториях наркологических учреждений в биосредах организма часто обнаруживаются не только основные алкалоиды, но и минорные компоненты опия, причем состав и количественное соотношение наркотических средств (НС) заметно варьируют в зависимости от того, какие партии наркотиков поступают в данный регион. Для повышения качества проводимых исследований в данном случае необходимо сотрудничество наркологических учреждений и экспертных служб, контролирующих незаконный оборот наркотических средств. Современная наркология и экспертная практика нуждаются в усовершенствовании аналитической базы, разработке методов сравнительного исследования НС. При проведении экспертизы НС опия бывает трудно выбрать достаточное количество идентификационных признаков, по которым можно установить общность источника происхождения НС [1, 3, 4]. Существуют также некоторые проблемы при оценке идентичности образцов НС путем сравнения доверительных интервалов концентрации наркотически активных компонентов (НАК), описанные в [4]. Проведение экспертиз в этой области затрудняет и отсутствие методических разработок по сравнительным исследованиям НС растительного происхождения.

Цели и задачи

Целью данной работы являлась разработка методики качественного и количественного определения НАК и микропримесей опия с целью установления общности источника их происхождения с применением жидкостного хроматографа. При этом особое внимание уделялось воспроизводимости методики для того, чтобы максимально снизить влияние ошибки эксперимента на разброс данных, получаемых при сравнении образцов.

Результаты исследования

Для решения данной задачи мы оптимизировали процедуру подготовки пробы при количественном определении НАК опия методом ВЭЖХ. При проведении предварительных исследований установлено, что максимально информативные хроматограммы получаются при экстрак-

ции опия слабо подкисленным водным раствором этилового спирта с концентрацией этанола 10–20%. Повышение концентрации этанола приводило к появлению неразделенных пиков вблизи пиков морфина и кодеина. Стабильные результаты концентрации НАК получали только при постоянном перемешивании экстракционной смеси при комнатной температуре. Оптимизировали также и время экстракции НАК из опия в описанных ниже условиях в диапазоне от 0,25 до 24 ч. Результаты приведены в табл. 1.

Как видно из табл. 1, уже 15 мин достаточно для проведения экстракции алкалоидов. За 24 ч экстракции наблюдается увеличение концентрации веществ на 11–13%, но их относительная концентрация (относительно концентрации морфина) практически не меняется. Через 2–4 ч концентрация веществ в растворе практически не меняется, следовательно, можно получить более воспроизводимые результаты. В дальнейшей работе мы применяли двухчасовую экстракцию.

Для оценки воспроизводимости методики проводили исследование образца опия, высушенного до постоянного веса при 110°C, как описано в [4]. Исследование проводили в описанных ниже условиях ($n=10$) и определяли среднее значение (X_{cp}), доверительный интервал (x_{cp}) и относительную погрешность среднего результата (σ_{cp}) (табл. 2). Содержание НАК определяли по методике, описанной в работе [2], относительное содержание НАК и микропримесей определяли по методу внутренней нормализации, где площадь пика морфина принимали за 100.

Как видно из табл. 2, значения σ_{cp} процентного и относительного содержания основных НАК не превышают 4%; σ_{cp} относительного содержания минорных компонентов также не превышают 4% (кроме веществ с площадью пиков меньше 2,5–3 е.о.п. х мкл). Таким образом, мы предлагаем использовать этот параметр для определения меры правильности полученных результатов анализа.

После оценки правильности проведенного исследования можно провести сравнение доверительных интервалов процентного содержания НАК и относительного содержания наркотически активных и минорных компонентов разных образцов опия.

Далее использовали алгоритм, описанный в [4]. Если перекрываются доверительные интервалы процентного содержания НАК и относительного содержания наркотиче-

Таблица 1

Зависимость абсолютного и относительного содержания морфина, кодеина и тебаина в образце опия от времени экстракции

Время экстракции, ч	Содержание веществ в образце							
	Морфин		Кодеин		Тебаин		Наркотин*	
	<i>C</i>	<i>Q</i>	<i>C</i>	<i>Q</i>	<i>C</i>	<i>Q</i>	<i>C</i>	<i>Q</i>
0,25	7,097	100	2,951	39,53	1,628	28,97	—	28,97
0,5	7,334	100	3,061	39,33	1,657	28,42	—	28,42
1	7,366	100	3,109	39,87	1,734	30,15	—	30,15
2	7,562	100	3,189	39,91	1,758	29,09	—	29,09
4	7,624	100	3,220	39,89	1,738	28,79	—	28,79
9	7,663	100	3,242	39,96	1,763	29,04	—	29,04
24	8,048	100	3,348	39,29	1,801	28,25	—	28,25

Примечание. *Q* — относительное содержание вещества как отношение $S_{\text{вещество}}^{210} / S_{\text{морфин}}^{210}$; *C* — содержание вещества в опии (вес. %); * — здесь и далее под пиком "наркотин" подразумевается суммарный пик наркотина и папаверина, где папаверин находится в значительно меньших количествах, чем наркотин. Абсолютное содержание наркотина в образце опия не определяли в связи с отсутствием стандарта для калибровки хроматографа

Таблица 2

Результаты количественного определения веществ в образце опия (n=10)

Процентное содержание основных НАК			
Вещество	$X_{\text{ср}}$	$x_{\text{ср}}$	ср
Кодеин	3,76	0,13	3,46
Морфин	9,85	0,25	2,54
Тебаин	2,06	0,06	2,91
Наркотин	—	—	—
Относительное содержание веществ основных НАК			
Кодеин	36,08	1,31	3,63
Морфин	100	—	—
Тебаин	26,33	0,28	1,06
Наркотин	124,98	1,55	1,24
Относительное содержание минорных компонентов			
Объем удерживания*	$X_{\text{ср}}$	$x_{\text{ср}}$	ср
889	4,323	0,163	3,770
1200	2,351	0,097	4,125
1239	9,358	0,171	1,827
1295	3,619	0,128	3,537
1385	3,586	0,134	3,737
1530	1,820	0,118	6,483

Примечание. * — приведены средние значения объемов удерживания

ски активных и минорных компонентов опия, то можно предположить, что образцы ранее могли составлять единую массу. Если перекрываются доверительные интервалы только относительного содержания наркотически активных и минорных компонентов опия, то можно предположить, что образцы ранее могли составлять единую массу по сырью и технологии изготовления. Если доверительные интервалы относительного содержания наркотически активных и минорных компонентов опия не перекрываются и имеют разные значения, то можно предположить, что образцы не составляли ранее единую массу.

Как показала практика, только сравнение доверительных интервалов без оценки воспроизводимости результатов может привести к ложноположительным результатам, так как, чем больше относительная погрешность среднего результата, тем больше доверительный интервал.

В табл. 3 представлены результаты сравнительных исследований экспертных образцов опия, обнаруженных в автомашине, выполненных по описанной ниже методике. Из результатов следует, что значения $x_{\text{ср}}$ процентного и относительного содержания НАК для образцов А-1 и А-2 не превышает 3% и доверительные интервалы перекрываются. Это дает

Таблица 3

Процентное и относительное содержание НАК в экспертных образцах опия

Образец	Процентное содержание			Относительное содержание			Образец	Процентное содержание			Относительное содержание			
	К	М	Т	К	Т	Н		К	М	Т	К	Т	Н	
<i>A-1</i>	4,05	9,95	2,85	38,43	36,20	130,13	<i>B-1</i>	4,35	11,52	2,46	35,70	27,01	124,53	
<i>A-1</i>	3,97	9,85	2,79	38,10	35,78	130,59	<i>B-1</i>	4,49	11,87	2,58	35,70	27,42	127,07	
<i>A-1</i>	4,03	9,97	2,82	38,15	35,78	130,74	<i>B-1</i>	4,14	11,08	2,37	35,26	26,96	123,98	
<i>A-2</i>	3,88	9,71	2,71	37,73	35,26	128,30	<i>B-1</i>	4,20	11,10	2,40	35,72	27,25	126,04	
<i>A-2</i>	3,85	9,62	2,79	37,83	36,69	127,19	<i>B-1</i>	4,27	11,29	2,43	35,76	27,13	125,08	
<i>A-2</i>	4,00	9,96	2,79	37,91	35,43	130,77	<i>B-1</i>	4,17	10,98	2,39	35,89	27,48	126,19	
<i>A-2</i>	4,13	10,20	2,89	38,19	35,82	131,70								
Статистические данные						Статистические данные								
X _{ср}	3,99	9,89	2,81	38,05	35,85	129,92	X _{ср}	4,27	11,31	2,44	35,67	27,21	125,48	
x _{ср}	0,09	0,18	0,05	0,22	0,44	1,47	x _{ср}	0,14	0,35	0,08	0,22	0,22	1,21	
ср	2,23	1,80	1,89	0,59	1,23	1,13	ср	3,23	3,10	3,31	0,63	0,82	0,97	
Образец	Процентное содержание			Относительное содержание			Образец	Процентное содержание			Относительное содержание			
	К	М	Т	К	Т	Н		К	М	Т	К	Т	Н	
<i>C-1</i>	5,51	14,50	3,55	35,91	30,94	122,65	<i>E-1</i>	4,58	9,50	2,75	45,51	36,52	137,30	
<i>C-1</i>	5,38	14,20	3,47	35,77	30,83	124,88	<i>E-1</i>	4,58	9,50	2,76	45,48	36,72	135,97	
<i>C-1</i>	5,26	13,93	3,41	35,64	30,87	121,35	<i>E-1</i>	4,70	9,73	2,84	45,56	36,81	137,20	
<i>C-1</i>	5,26	14,06	3,37	35,35	30,28	125,42	<i>E-1</i>	4,71	9,77	2,83	45,51	36,57	137,48	
						<i>E-1</i>	4,77	9,90	2,87	45,49	36,61	137,52		
Статистические данные						Статистические данные								
X _{ср}	5,35	14,17	3,45	35,67	30,73	123,58	X _{ср}	4,66	9,68	2,81	45,51	36,65	137,09	
x _{ср}	0,19	0,39	0,13	0,38	0,48	3,03	x _{ср}	0,11	0,22	0,06	0,04	0,15	0,80	
ср	3,58	2,74	3,69	1,06	1,57	2,45	ср	2,29	2,27	2,31	0,08	0,41	0,58	
Примечание. К — кодеин; М — морфин; Т — тебаин; Н — наркотин														

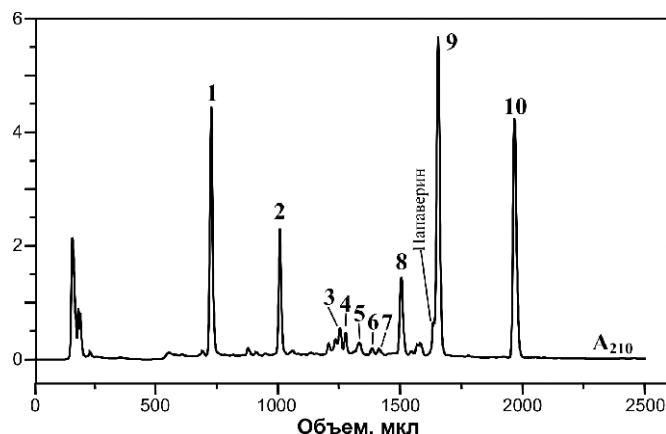
Примечание. К — кодеин; М — морфин; Т — тебаин; Н — наркотин

Таблица 4

Результаты хроматографического исследования опия

№	V_R	S_{210}	Спектральные отношения S/S_{210}							Вещество	Q	C
			S_{220}	S_{230}	S_{240}	S_{250}	S_{260}	S_{280}	S_{300}			
1	751	72,13	0,62	0,24	0,17	0,08	0,02	0,06	0,01	Морфин	100,0	5,17
2	1044	32,95	0,67	0,24	0,20	0,11	0,03	0,06	0,01	Кодеин	45,68	2,50
3	1250	1,83	1,33	1,15	0,45	0,17	0,37	0,35	0,19	—	2,53	—
4	1279	1,33	1,42	1,17	0,49	0,19	0,36	0,34	0,23	—	1,84	—
5	1299	3,88	0,22	0,20	0,13	0,00	0,01	0,11	0,02	—	5,38	—
6	1321	3,94	0,77	0,71	0,45	0,30	0,26	0,38	0,34	—	5,47	—
7	1380	3,74	0,40	0,25	0,18	0,04	0,03	0,04	0,16	—	5,19	—
8	1558	23,51	0,57	0,52	0,33	0,15	0,14	0,28	0,18	Тебаин	32,59	1,34
9	1715	102,6	0,84	0,44	0,35	0,35	0,14	0,06	0,078	Наркотин	142,5	5,82
10	2035	84,45	0,65	0,28	0,035	0,03	0,03	0,00	0,00	Димедрол	117,1	5,90

Примечание. Нумерация пиков см. на рисунке; V_R — объем удерживания (мкл); S_{210} — площадь пика при длине волны детектора = 210 нм (е.о.п. х мкл)



Хроматограмма образца опия. Условия разделения в тексте

основание предположить, что образцы одинаковы. $X_{\text{ср}}$ концентрации исследуемых веществ в образцах **B-1**; **C-1** и **E-1** различаются между собой и от образцов **A-1** и **A-2**, а доверительные интервалы не перекрываются. Учитывая, что значения $x_{\text{ср}}$ для них не превышают 4%, можно сделать вывод, что образцы **A**, **B**, **C** и **E** не составляли ранее единую массу.

Таким образом, мы предлагаем следующую методику качественного и количественного определения наркотически активных компонентов и микропримесей опия, а также фармакологически активных добавок с целью установления общности источника происхождения с применением жидкостного хроматографа.

После отбора проб опия сушить их при 110°C до постоянного веса и измельчить в ступке до мелкодисперсного состояния. Из каждого образца брать по 3 пробы массой 5–20 мг (точная навеска), поместить их во флаконы емкостью 1,5 мл, добавить 1 мл 20%-ного раствора этилового спирта в 0,01%-ном водном растворе соляной кислоты. Образцы экстрагировать 2 ч при комнатной температуре при постоянном перемешивании, центрифугировать и 2 мкл полученного экстракта исследовать на жидкостном хроматографе «Милюхром А-02» в следующих условиях:

- колонка: 2 75 мм с фазой ProntoSIL-120-5-C18 AQ (тип «ДБ-2003» ТУ 25-7405.0040-95);
- подвижные фазы: «А» — (4 М LiClO₄ — 0,1 М HClO₄):H₂O (95:5); «Б» — CH₃CN марки «для ВЭЖХ»;
- градиентная элюция: 800 мкл 5% «Б», ввод пробы, 4000 мкл от 5 до 100 «Б», 300 мкл «Б»;
- скорость подачи элюента 100 мкл/мин;
- температура колонки 40°C;
- детектор: длины волн 210; 220; 230; 240; 250; 260; 280 и 300 нм;
- объем вводимой пробы 2 мкл.

В каждом исследуемом объекте необходимо идентифицировать наркотически активные компоненты и фармакологически активные добавки и сравнить хроматограммы, обращая внимание на пики неизвестных веществ. Далее следует определить абсолютное содержание морфина, кодеина и тебаина, после чего вычислить отно-

сительное содержание кодеина, тебаина и наркотина относительно морфина. После этого необходимо вычислить средние значения, доверительные интервалы и относительную погрешность среднего результата. Если значение $x_{\text{ср}}$ составляет менее 4,0%, то можно считать, что анализ проведен верно и значимых систематических ошибок нет. Последний этап — сравнение доверительных интервалов исследуемых образцов, как описано в работе [4].

Если сравниваемые образцы по качественному компонентному составу, основным наркотически активным компонентам, фармакологически активным компонентам и по пикам неизвестных веществ на хроматограмме совпадают, и если доверительные интервалы содержания морфина, кодеина, тебаина перекрываются, то делают вывод, что данные образцы, согласно данным ВЭЖХ, составляли ранее единую массу.

На рисунке показана типичная хроматограмма образца опия. В табл. 4 представлены основные хроматографические данные, полученные из этой хроматограммы. Как видно из таблицы, по совокупности выявленных признаков:

- объем удерживания;
- площадь хроматографического пика;
- значения спектральных отношений;
- идентифицированные компоненты;
- содержание относительно морфина;
- содержание морфина —

можно количественно охарактеризовать каждый экспертный образец опия.

Заключение

Таким образом, разработана методика качественного и количественного определения НАК и микропримесей опия. Выявлены идентификационные признаки, по которым можно установить общность источника происхождения опия. Полученные данные дают основания для формирования базы образцов, которая позволит проследить пути распространения и перемещения наркотических средств.

Предлагаемая методика в комплексе с другими физико-химическими методами дает возможность значительно повысить надежность и достоверность сравнительного исследования образцов опия и установить общность источника их происхождения.

Список литературы

1. Бабаян Э.А. (ред.). Определение вида наркотических средств, получаемых из конопли и мака: Методические рекомендации ЭКЦ МВД РФ, Российского Федерального центра судебных экспертиз МЮ РФ. — М., 1995.
2. Барам Г.И., Рейхарт Д.В., Гольдберг Е.Д., Изотов Б.Н. и др. Новые возможности высокоэффективной жидкостной хроматографии в фармакопейном анализе // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2003. — Т. 135, №1. — С. 75–79.
3. Веселовская Н.В., Коваленко А.Е. Наркотики. — М.: Трида-Х, 2000.
4. Сорокин В.И. и др. Установление общности источника происхождения героина: Методические рекомендации. ГУ ЭКЦ МВД РФ. — М., 2002.