



UNIwersytet  
JAGIELLOŃSKI  
W KRAKOWIE

**Monika Ciechomska**

**NOWOCZESNE ANALITYCZNE TECHNIKI  
BADANIA ZWIĄZKÓW PSYCHOAKTYWNYCH  
I TRUJĄCYCH W POPULARNYCH ROŚLINACH  
OZDOBNYCH**

AUTOREFERAT

Promotor: prof. dr hab. Paweł Kościelniak

Promotor pomocniczy: dr hab. Michał Woźniakiewicz, prof. UJ

Wydział Chemii  
Zakład Chemii Analitycznej  
Pracownia Chemii Sądowej

Kraków 2022

Rośliny o działaniu psychoaktywnym uważane są za jedne z najstarszych narkotyków. Dotychczas opisano około pół miliona gatunków roślin, z czego ponad czterysta pięćdziesiąt wykazuje działanie na ośrodkowy układ nerwowy, w tym około sto dwadzieścia powoduje halucynacje. Działanie halucynogenne wykazują m.in. rośliny gatunków *Datura*, *Brugmansia*, *Scopolia*, *Hyoscyamus*, *Atropa*, *Mandragora* i *Ipomoea*, które stanowią przedmiot badań niniejszej rozprawy doktorskiej. Rośliny te nie są substancjami objętymi restrykcjami prawnymi dotyczącymi ich posiadania, czy zażywania. Dlatego też, w odczuciu użytkowników takich substancji, stanowią legalną i często tańszą alternatywę np. dla marihuany czy tzw. „dopalaczy”, będąc tym samym przyczyną wielu zatruć wymagających hospitalizacji.

Celem niniejszej rozprawy doktorskiej było opracowanie metod analizy ilościowej i dyskryminacyjnej próbek liści i nasion roślin *Solanaceae* oraz metody jednoczesnego oznaczania i identyfikacji występujących w nich alkaloidów tropanowych i alkaloidów sporyszu obecnych w nasionach *Ipomoea*.

Aby zapewnić wysoką wydajność ekstrakcji wymienionych alkaloidów z próbek liści i nasion o niewielkich masach (10 i 50 mg), zastosowano nowoczesne techniki ekstrakcji wspomaganą mikrofalami (MAE) i wspomaganą ultradźwiękami (UAE), modyfikując dotychczas stosowane metody i opracowując nowe. W przypadku wymienionych technik kluczowy jest właściwy dobór parametrów procesu, który może być dokonany wieloma metodami. Optymalizację niektórych parametrów prowadzono metodą pojedynczej zmiennej, która choć szybka, może nie zapewniać wystarczającej ilości informacji, dlatego powinna być uzupełniona chociażby o analizę chemometryczną (np. ANOVA). W związku z tym opierano się w dużej mierze na optymalizacji prowadzonej w oparciu o plan doświadczalny  $3^2$  czy plan optymalizacyjny Doehlerta. Pierwszy z nich służył wstępnej ocenie kierunku optymalizacji, zaś do ostatecznego doboru parametrów wykorzystano plan Doehlerta, ponieważ przy minimalizacji liczby eksperymentów (w stosunku do np. planu  $3^2$ ) dostarcza on bardzo wielu informacji i pozwala przewidywać zachowanie układu również pomiędzy punktami planu, a także nieznacznie poza jego zakresem. Potwierdzono to, prowadząc estymacje wynikające z przewidywań obliczeniowych wykonanych w oparciu o otrzymane powierzchnie odpowiedzi, które częściowo pokryły się z danymi doświadczalnymi.

Ogromnym wyzwaniem w analizie wymienionych próbek były ich bogata matryca, która z jednej strony może prowadzić do szybszego zużycia elementów aparatury, a z drugiej poprzez efekt interferencyjny może mieć wpływ na otrzymywane wyniki. Aby rozwiązać ten problem opracowano metodę oczyszczania ekstraktów roślin *Solanaceae* ze składników

matrycy techniką QuEChERS, która pozwoliła na usunięcie chlorofili i innych składników matrycy. Stopień oczyszczenia ekstraktów oceniano w oparciu o autorską nowatorską procedurę matematyczną o nazwie *purity index*. Do obliczeń wykorzystano sygnały chromatograficzne (GC-MS) składników matrycy, absorbancję (648, 665 nm) chlorofili w ekstraktach liści, przy jednoczesnym monitorowaniu stężeń atropiny i skopolaminy. Metoda ta okazała się rozwiązaniem bardzo dobrym, relatywnie prostym i możliwym do zastosowania również w innych przypadkach niż analiza roślin *Solanaceae*.

W przypadku roślin *Solanaceae*, które wykazują się dużym bogactwem gatunkowym, zróżnicowanym zarówno pod kątem zawartości psychoaktywnych alkaloidów, jak i innych składników matrycy, opracowana została metoda chemometrycznej dyskryminacji tych próbek zarówno ze względu na gatunek rośliny, jak i miejsce zbioru. W tym celu zastosowano zaawansowane metody chemometryczne, takie jak PCA i CA, wykazując ich komplementarność. W oparciu o sygnały analityczne otrzymane w wyniku analizy próbek opracowaną metodą MAE/QuEChERS/GC-MS i MAE/GC-MS, możliwe było oznaczenie atropiny i skopolaminy oraz wyznaczenie sygnałów analitycznych pozostałych składników matrycy roślinnej. Część z tych składników udało się zidentyfikować w oparciu o bazę widm NIST. Jednakże, mimo iż jednoznaczna identyfikacja większości tych składników była niemożliwa, zaproponowana w pracy analiza dyskryminacyjna pozwoliła na rozróżnienie znacznej większości próbek, nie tylko ze względu na gatunek, ale również miejsce pochodzenia i wiek. Co więcej, ze względu na opracowaną bogatą bazę widm EI-MS tych składników, metoda ta może być dalej wykorzystywana i rozwijana.

W przypadku jednoczesnej analizy próbek roślin *Solanaceae* i *Ipomoea*, do identyfikacji i oznaczania atropiny, skopolaminy, erginy, ergometryny i lizergolu zastosowana została technika elektroforezy kapilarnej sprzężonej ze spektrometrią mas (CE-MS), a opracowana z jej udziałem metoda pozwoliła na pominięcie etapu oczyszczania próbek roślinnych ze składników matrycy. W przypadku zmielonego materiału roślinnego, gdzie niemożliwa jest ocena gatunku w oparciu o różnice morfologiczne, wyzwaniem było opracowanie takiej metody, która pozwoliła na analizę skryningową i oznaczenie analitów. Wykazano, że stężenie tego samego analitu w próbce tego samego organu roślinnego jednego gatunku może różnić się nawet kilkadziesiąt razy, zaś różnice międzygatunkowe mogą sięgać kilku tysięcy razy. Dlatego też do analizy skryningowej materiału roślinnego i oznaczania w nim atropiny, skopolaminy, erginy, ergometryny i lizergolu w materiale roślinnym, opracowano uniwersalną procedurę przygotowania nieznannej próbki w oparciu o protokół zateżania/rozcieńczenia ekstraktów

otrzymanych metodą UAE i ich analizę metodą CE-MS. Metoda ta wymaga dalszych badań na dużej grupie próbek *Solanaceae* i *Ipomoea*.

Tym samym w toku pracy opracowano i poddano walidacji trzy metody: metody MAE/QuEChERS/GC-MS i UAE/QuEChERS/GC-MS do analizy liści i nasion roślin *Solanaceae* oraz metodę UAE/CE-MS do analizy nasion roślin *Ipomoea*, a także liści i nasion roślin *Solanaceae*. Analizę dyskryminacyjną próbek roślin *Solanaceae* prowadzono w oparciu o wyniki uzyskane metodą MAE/QuEChERS/GC-MS. Wysoka czułość, dobra powtarzalność i precyzja pośrednia oznaczeń oraz powtarzalny efekt matrycy i akceptowalny odzysk sprawiają, że metody te mogą być stosowane w analizie małych i śladowych ilości materiału roślinnego. Metody te zastosowane w analizie kilkudziesięciu próbek materiału roślinnego *Solanaceae*, pozwoliły na kompleksowe zbadanie stężeń atropiny i skopolaminy, a także na wnikliwe poznanie składników ich matryc.