

# PËRZGJEDHJA E METODIKËS Më TË SAKTË TË NDARJES DHE IDENTIFIKIMIT TË KANABINOIDEVE ME ANË TË KROMATOGRAFISË NË SHITESË TË HOLLË

ZANA BRUCI, BESNIK JUCA\*

## Summary

### "SELECTION OF THE MOST EXACT METHOD FOR SEPARATION AND IDENTIFICATION OF CANNABINOIDS BY THIN LAYER CHROMATOGRAPHY (T.L.C)"

The article described the experimental laboratory work for selection of the most exact method for separation and identification of j-Cannabinoids (THC, CBD, CBN) by thin layer chromatography. Are experimented 7 (seven) development systems and in the base of results (presented in table) is selected the best development system, which is used by authors in their scientific and routine laboratory work for separation and identification of cannabinoids in plant material, biological fluids and postmortem materials.

Trafiku i jashtëligjshëm (kultivimi, depozitimi, tregtimi) dhe abuzimi i bimës drogë prodhuese të Kërpit indian (*Cannabis sativa* v. *indica*) është një dukuri e re shoqërore që po merr përmasa shqetësuese në vendin tonë. Droga në këtë bimë përfaqësohet me majat e lulëzuar të bimës femërore si edhe me resinën dhe vajin e kanabisit që nxirren nga përpunimi laboratorik i kësaj pjese të bimës. Vetitë e drogës kësaj bime (dhe rrjedhimisht drogës së prodhuar prej saj) ia japin principet aktive kanabinoidike, tetrahidrokanabinoli (THC), kanabinoli (CBN), kanabidoli (CBD) ku përcaktues është përmbajtja e tetrahidrokanabinolit (1). përmbajtja e principeve aktive të sipërpërmendura në bimë është e lidhur ngushtë me faktorin gjenetik të saj (varietetin e bimës së kësaj gjinie) si dhe me kushtet klimaterike (temperaturë, lagështi) dhe agroteknikë (plehërim, prashitje) të kultivimit të saj. Konventat ndërkombëtare, literatura shkencore dhe në përputhje me to edhe ligji ynë njeht si bimë drogë atë varietet të bimës së kanabisit që përmban tetrahidrokanabinol (THC) në sasi mbi 0.5gr % (2). Në bazë të këtij faktori në grupin e substancave drogë përfshihet bima e Kërpit Indian (*Cannabis sativa* v. *indica*) që kultivohet edhe në vendin tonë. Në analogji me studime të kryera në vende të tjera të botës (3), ne ndërmorëm studimin e vartësisë së përmbajtjes së kanabinoideve (THC, CBD, CBN) në pjesë të ndryshme të bimës së Kërpit Indian (*C.S.* v. *indica*) të kultivuar në vendin tonë si dhe ndikimin e faktorëve agroteknikë dhe klimaterikë në këtë përmbajtje. Studimi eksperimental (4) i kryer nga ana jonë përfshin përzgjedhjen e parametrave të metodikës

së identifikimit (zbulimin) të kanabinoideve (THC, CBN, CBD) me anë të kromatografisë në shitesë të hollë.

## Materiali dhe metoda

U përdorën tretësirat alkoolike të standardeve kanabinoidike (THC, CBN, CBD) në përqëndrimin 0.5mg/ml, përzierja e standardeve kanabinoidike në të njëjtin përqëndrim si dhe ekstraktet e përftuara gjatë ekstraktimit të materialeve bimore (maja të lulëzuara), lëngjeve biologjike (urinë, gjak) (5) dhe organeve kufomore (6) me përmbajtje kanabinoidike. Për kromatografi u përdorën pllaka qelqi 20x20cm të firmës Merck me ndajthithës silikaxhel 60 F 254nm, trashësi shprese 0,25mm. Gjatësia e shtegimit 10cm. Reagent ngjyruar tretësirë Fast blu b 0.25% në NaOH 0.1N(4, 7). Për ndarjen dhe identifikimin e kanabinoideve u provuan sisteme shtegëtuese të mëposhtem :

1. Toluen (100ml) (4)
2. Eter petroli-eter etilik (80:200) (7)
3. Eter petroli-eter etilik (50:50) (2)
4. Heksan-toluen-dietilamine (75:25:5) (3)
5. Cikloheksan- diizopropileter-dietilamine (52:40:8) (5)
6. Heksan-dioksan-metanol (70:20:10) (6)
7. Eter petroli (100ml) (4)

Tretësirat standarde së bashku me provat u pikuan në pllakat kromatografike dhe mbas tharjes së tretësirave të pikuara, pllakat u zhvillua në kamera të veçanta me sistemet shtegëtuese të sipërpërmendura. Më tej pllakat

\* Dorëzuar në Redaksi në 25 Tetor 1996, miratuar për botim më 26 Dhjetor 1996.

Nga Shërbimi i Mjekësisë Ligjore dhe Laboratori i Toksikologjisë i Qendrës Spitalore Universitare. (Z.B.,B.J.)

Adresa për letërkëmbim: Z. Bruci: Shërbimi i Mjekësisë Ligjore dhe Laboratori i Toksikologjisë i Qendrës Spitalore Universitare. të Tiranës.

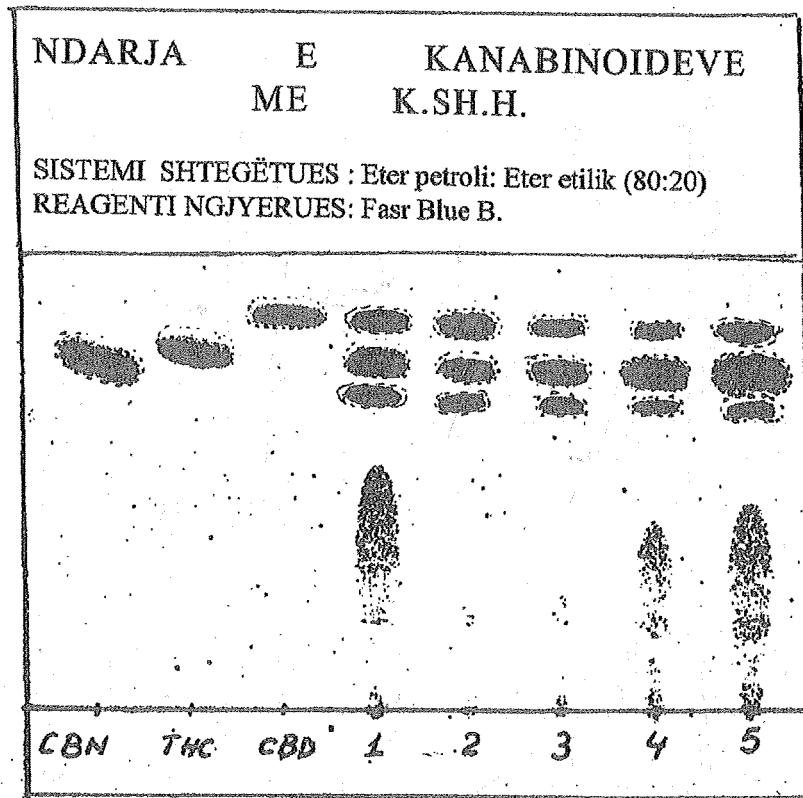
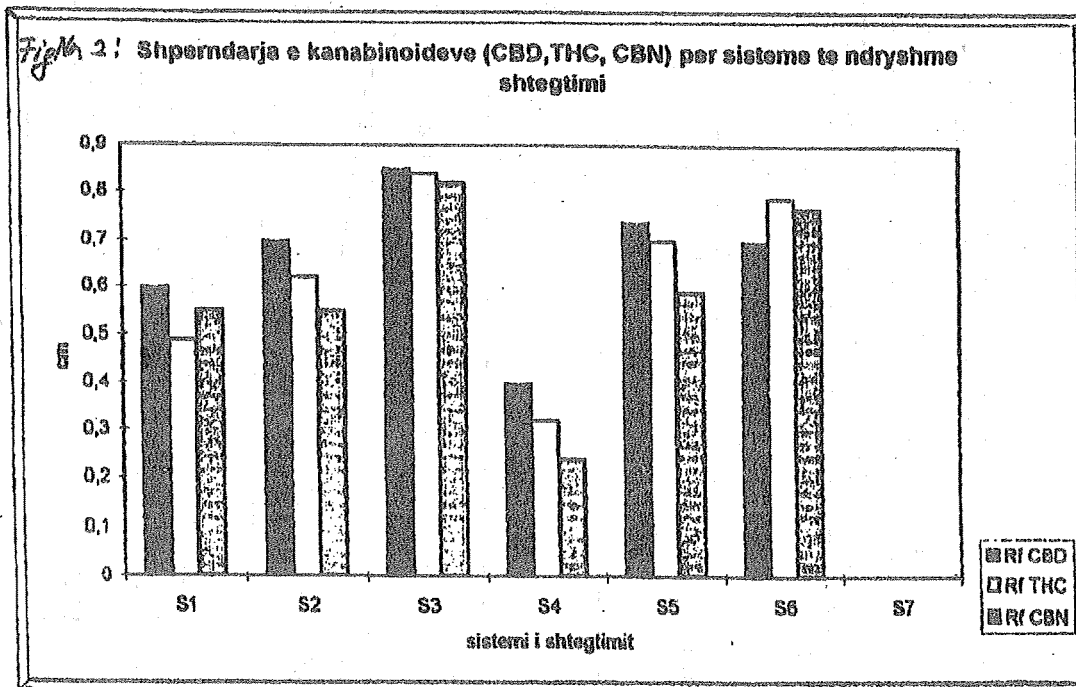


Figura nr.1 . 1. Përzierje e tretësirave standarte(THC,SBD, CBN); 2. Ekstraktim bimor;  
 3. Ekstrakt urine; 4. Ekstrakt gjaku; 5. Ekstrakt organesh.



Rezultatet e fituara të vlerave të Rf-ve të kanabinoideve sipas sistemeve të ndryshme të aplikuar nga ana jonë

Tab. Nr. 1: "Vlerat e Rf-ve të kanabinoideve në sistemet e ndryshme të shëgimit".

Tretesirat e analizuar.	Sist. shëg. Nr1		Sist. shëg. Nr2		Sist. shëg. Nr3		Sist. shëg. Nr4		Sist. shëg. Nr5		Sist. shëg. Nr6		Sist. shëg. Nr7	
	CBD	THC CBN	CBD	THC CBN	CBD	THC CBN	CBD	THC CBN	CBD	THC CBN	CBD	THC CBN	CBD	THC CBN
Tret. standarde CBD 0,5%	0,6		0,7		0,85		0,4		0,74		0,7		0	
Tret. standarde THC 0,5%		0,5		0,62		0,84		0,32		0,7		0,79		0
Tret. standarde CBN 0,5%														0
Perzierje tret. stand. 0,5%.	0,6	0,5	0,55	0,7	0,62	0,55	0,4	0,32	0,24	0,74	0,7	0,59	0,7	0
Ekstrakt bimor (maja lulzuar)	0,6	0,5	0,55	0,7	0,62	0,55	0,4	0,32	0,24	0,74	0,7	0,59	0,7	0
Ekstrakt urne	0,6	0,5	0,55	0,7	0,62	0,55	0,4	0,32	0,24	0,74	0,7	0,59	0,7	0
Ekstrakt gjaku	0,6	0,5	0,55	0,7	0,62	0,55	0,4	0,32	0,24	0,74	0,7	0,59	0,7	0
Ekstrakt organesh	0,6	0,5	0,55	0,7	0,62	0,55	0,4	0,32	0,24	0,74	0,7	0,59	0,7	0

u vrojtuan në llampën UV 254 nm dhe u spërkatën me reagentin ngjyruar. U shfaqën njollat karakteristike të principeve aktive kanabinoidike me ngjyrat respektive (THC-rozë, CBD-portokall, CBN-lejla) dhe u matën vlerat e Rf-it. Gjatë punës tonë u realizuan 10 (dhjetë) shtegtime të tretësirave standarde dhe provave bimore dhe biologjike për secilin sistem shtegtues dhe vlerat e Rf-ve të secilit kanabinoid, mbas përpunimit statistikor me metodën e shmangies mesatare kuadratike të çdo vlere mesatare, janë paraqitur në tab. nr. 1. Grafikisht ndarja e kanabinoideve (THC, CBD, CBN) sipas sistemeve shtegëtuese të përdorura është paraqitur në fig. nr.2.

Në vlerësimin e metodikave të përdorura (sistemet shtegtuese) parametri kryesor është diferenca e Rf-ve të kanabinoideve (Rf-THC; Rf-CBD; Rf-CBN) të analizuar qofshin këto në tetësirat e standardeve apo provat bimore dhe biologjike. Sa më e madhe të jetë kjo diferencë aq më mirë ndahen principet aktive (njollat kromatografike) nga njëra tjetra. Parametra të tjerë që merren parasysh kur kjo diferencë është e njëjtë janë koha sa më shpejtë e kryerjes së analizës dhe kostoja sa më e ulët e saj.

### Rezultatet

Gjatë vrojtimit të njollave në pllakat kromatografike të përfutuara me sistemet e ndryshme të shtegimit të përdorura (shtatë lloje) vërehet i njëjti rend shtegtimi, në nivelin më të lartë është kanabidioli CBD, pastaj tetrahidrokanabinoli THC dhe në fund kanabinoli CBN. Ndryshimi në vartësi të sistemit shtegtues qëndron tek madhësia e këtij shtegtimi (vlerat e Rf-ve) dhe ndarja sa më e mirë e njollave të principeve kanabinoidike nga njëra tjetra.

Sikurse shihet nga pasqyra nr. 1 diferencat e vlerave të Rf-ve për sistemin nr.1 është  $0.55 < Rf < 0.6$ ; për sist. nr.2 është  $0.55 < Rf < 0.7$  për sist. nr.3 është  $0.82 < Rf < 0.85$ ; për sist.nr.4 është  $0.24 < Rf < 0.4$ ; për sist nr.5 është  $0.59 < Rf < 0.7$ ; për sist nr.6 është  $0.7 < Rf < 0.77$ ; për sist nr.7 është  $Rf = 0$ . Duke qënë se metodika më e

mirë konsiderohet ajo që jep një ndarje sa me të saktë të principeve aktive në kromatogramë, në bazë të rezultateve të arritura gjatë punës tonë eksperimentale të paraqitura në pasqyrën nr.1 u vërejt që më i përshtatshmi për punën tonë ishte sistemi shtegtues nr. 2 (eter petroli : eter etilik (80:20)).

Kromatograma e përfutur gjatë përdorimit të këtij sistemi është paraqitur në fig. nr.1 Vërehet mjaft qartë në këtë figurë ndarja nga njëra tjetra e njollave të kanabidiolit me  $Rf = 0.7$ , të tetrahidrokanabinolit me  $Rf = 0.62$  si edhe të kanabinolit me  $Rf = 0.55$ . Diferencat e vlerave të Rf-ve në këtë sistem ( $0.55 < Rf < 0.7$ ) janë më të mëdha se ato të përfutuara në sistemet e tjera.

Kromatograma e përzgjedhur nga ana jonë e krahasuar është në rezultate më të mira se kromatograma e përzgjedhur nga disa autorë të huaj që kanë bërë studime (3) analoge në vendin e tyre.

### Përfundime

Bazuar në rezultatet e punës tonë eksperimentale arritëm në përfundimin se :

1. Metodika më e saktë për ndarjen nga njëri tjetri dhe identifikimin e kanabinoideve (THC,CBD,CBN) është ajo që përdor si sistem shtegtues përzierjen Eter petroli ; eter etilik ( 80 : 20) . Diferencat e Rf-ve të njollave të principeve aktive të shtegtuara sipas kesaj metodike janë në vlera  $0.3 < Rf < 0.7$ . kjo sjell si rezultat ndarje mjaft të qartë të principeve aktive kanabinoidike ( THC,CBD,CBN) në pllakën kromatografike. Kjo ndarje është e domostoshme gjatë analizës për faktin se është tetrahidrokanabinoli (THC-ja) elementi me veti psikoaktive përcaktuese në drogën e marijuanës. Koha e shtegëtimit me këtë sistem është më e shpejtë se ajo e sistemeve të tjera ( rreth 20 min).

2. Kjo metodikë e përzgjedhur analize përdoret nga ana jonë për ndarjen dhe zbulimin e kanabinoideve gjatë analizës së materileve bimore të sekuestuara (bimë, rezinë, vaj marihuane), lëngjeve biologjike (urinë, gjak) dhe organeve kufomore.

### BIBLIOGRAFIA

1. Mechoulam.R, Marijuana, Academic, Press, NewYork London. -1973; 25-30.
2. Macchia.T, Dell'utri.A, Mancineli. R, Manuale per l' analisi orientativa di alcunistupefacenti, Roma 1992; 25-30.
3. Terry A. Gough. The analysis of drugs of abuse. New York. 1980.536- 565.
4. The United Nation and Abuse Control -1992; 20-22.
5. Lillsnde. P, Korte. T, Comprehenive Drig Screening in Urine Using Solid Phase Extraction and Combined T. L. C.and GC/ MS identification. Journal of

Analytikal Toxicology.vol, 15. Mach/April 1991; 71-81.

6. Moffat. A.C.Thin layer chromatography.In Clarke 's isolation and identification of drugs,2nd ed, A.C Mofat J.V. Jackon, M.S.Moss, B.Widdep. Eds, The Pharmaceutical Press,London,1986; 160-177.
7. Recomendend methods for testing cannabis. N.Y; 1987; 27-30.
8. Thin layerchromatographicRf values of Toxicologically RelevantSubstanceon Standardized systems. 1992. 14-25.