

Рекомендована д.ф.н., професором П.О.Безуглим

УДК 615.214.24:543.544.42

ЗАСТОСУВАННЯ ТОНКОШАРОВОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ В АНАЛІЗІ СНОДІЙНИХ ЗАСОБІВ ЗОПІКЛОНУ ТА ДОНОРМІЛУ

В.В.Болотов, Л.Ю.Клименко, І.М.Іванчук

Національний фармацевтичний університет
Івано-Франківська державна медична академія

Проведено дослідження зопіклону, продукту його лужного гідролізу — 2-аміно-5-хлорпіридину та донормілу методом тонкошарової хроматографії в присутності снодійних засобів групи бензодіазепінів та димедролу з використанням загальних та деяких окремих систем розчинників, що є загальноприйнятими в токсикологічному скринінгу речовин основного характеру, та п'яти типів тонких шарів. Вивчено відношення зазначених речовин до проявників, які застосовуються в загальному скринінгу речовин основного характеру, та запропоновані реактиви для проявлення плям зопіклону та 2-аміно-5-хлорпіридину, встановлена їх чутливість.

Снодійні засоби на сьогоднішній день посідають певне місце у структурі споживання лікарських засобів. Серед них є препарати, що відпускаються за рецептом, і препарати групи безрецептурного відпуску.

Зопіклон — (5RS)-6-(5-хлоропіридин-2-іл)-7-оксо-6,7-дигідро-5H-піроло-[3,4-b]піразин-5-іл-4-метилпіперазин-1-карбоксилат є снодійним препаратом групи циклопіролонів, що відпускається за рецептом та широко застосовується для лікування безсоння [10, 17]. Донорміл (доксиламін) — N,N-диметил-2-[1-феніл-1-(піридиніл)-етокси]етанамін — снодійний засіб, який в Україні належить до препаратів безрецептурного відпуску на відміну від інших препаратів, що застосовуються для лікування розладів сну, і тому дуже популярний серед усіх верств населення [5, 16]. Окрім цього донорміл виявляє антигістамінну та М-холінолітич-

ну дію, а тому іноді входить до складу комплексних протизастудних препаратів [5] (див. схему).

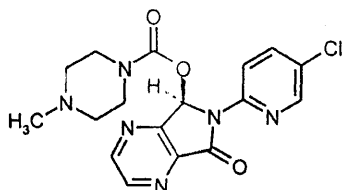
Обидва препарати за даними наукової літератури викликають інтерес у хіміко-токсикологічному відношенні [3, 6, 9, 11, 13, 15]. Клінічна картина отруєнь зопіклоном та донормілом і морфологічні зміни в організмі при цьому не є характерними і мають багато спільного з препаратами групи бензодіазепінів [8-9, 14] та димедролом (особливо це стосується донормілу — димедрол та донорміл схожі як за фармакодинамікою, так і за хімічною структурою) [9]. Діагностика отруєнь цими препаратами, як і взагалі снодійними засобами, ускладнюється ще тим, що разом з ними застосовуються інші препарати (бензодіазепіни, фенотіазини, золпідем, варфарин, лепонекс, фенобарбітал та ін.) [3, 8, 11, 15]. Саме тому в діагностиці цих отруєнь велике значення мають результати хіміко-токсикологічних досліджень.

Зопіклон та його метаболіти піддаються гідролізу в лужному середовищі з утворенням 2-аміно-5-хлорпіридину [7, 12].

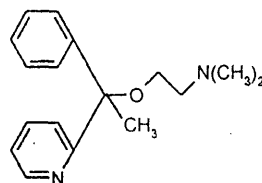
Метою даної роботи була розробка умов виявлення зопіклону, 2-аміно-5-хлорпіридину та донормілу в присутності інших лікарських препаратів, що можуть застосовуватись разом з ними, за допомогою хроматографії в тонких шарах сорбенту (ТШХ).

Експериментальна частина

У роботі нами були використані такі лікарські препарати та реактиви: зопіклон, донорміл, димедрол, нітразепам, феназепам, нозепам та діазепам фармакопейної чистоти, 2-аміно-5-хлорпіридин, о-фенілендіамін, бензидин, гідроксиламі-



Зопіклон



Донорміл

Значення R_f для зопіклону, 2-аміно-5-хлорпіридину, донормілу та деяких інших препаратів у різних системах розчинників та тонких шарах

Система розчинників	Тонкий шар	Препарати							
		зопіклон	2-аміно-5-хлорпіридин	донорміл	димедрол	нітразепам	феназепам	нозепам	діазепам
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	А	0,09	0,31	0,00	0,06	0,35	0,40	0,19	0,51
	Б	0,78	0,75	0,00	0,65	0,79	0,82	0,78	0,87
	В	0,76	0,74	0,00	0,38	0,87	0,88	0,77	0,91
	Г	0,39	0,54	0,00	0,20	0,60	0,79	0,49	0,76
	Д	0,50	0,65	0,00	0,26	0,71	0,84	0,54	0,88
2	А	0,04	0,51	0,00	0,05	0,49	0,49	0,38	0,50
	Б	0,06	0,53	0,00	0,07	0,56	0,55	0,40	0,54
	В	0,00	0,42	0,00	0,00	0,54	0,51	0,51	0,55
	Г	0,04	0,55	0,00	0,04	0,59	0,059	0,55	0,62
	Д	0,05	0,58	0,00	0,06	0,58	0,55	0,50	0,64
3	А	0,55	0,54	0,10	0,34	0,57	0,61	0,36	0,65
	Б	0,60	0,58	0,09	0,40	0,62	0,64	0,46	0,71
	В	0,60	0,56	0,00	0,29	0,63	0,67	0,40	0,75
	Г	0,49	0,51	0,05	0,28	0,57	0,62	0,38	0,73
	Д	0,56	0,52	0,05	0,30	0,60	0,67	0,42	0,72
4	А	0,26	0,64	0,20	0,35	0,64	0,64	0,51	0,68
	Б	0,38	0,65	0,33	0,52	0,65	0,65	0,52	0,65
	В	0,16	0,62	0,05	0,18	0,70	0,70	0,68	0,70
	Г	0,31	0,68	0,32	0,34	0,62	0,65	0,44	0,69
	Д	0,38	0,70	0,30	0,29	0,66	0,70	0,54	0,75
5	А	0,52	0,74	0,21	0,42	0,77	0,71	0,72	0,77
	Б	0,51	0,78	0,17	0,67	0,71	0,73	0,72	0,78
	В	0,22	0,62	0,03	0,07	0,75	0,67	0,76	0,78
	Г	0,47	0,78	0,17	0,35	0,82	0,78	0,78	0,82
	Д	0,52	0,80	0,06	0,26	0,81	0,84	0,86	0,91
6	А	0,32	0,68	0,10	0,28	0,68	0,54	0,65	0,71
	Б	0,39	0,78	0,16	0,36	0,70	0,77	0,83	0,80
	В	0,13	0,74	0,03	0,09	0,74	0,80	0,76	0,77
	Г	0,32	0,82	0,08	0,24	0,85	0,80	0,78	0,80
	Д	0,34	0,82	0,05	0,18	0,82	0,79	0,76	0,84
7	А	0,69	0,72	0,73	0,73	0,71	0,68	0,50	0,73
	Б	0,63	0,65	0,67	0,71	0,68	0,65	0,51	0,70
	В	0,42	0,63	0,40	0,53	0,67	0,58	0,40	0,58
	Г	0,57	0,72	0,59	0,65	0,71	0,74	0,66	0,74
	Д	0,61	0,68	0,67	0,80	0,76	0,62	0,58	0,78
8	А	0,04	0,06	0,49	0,62	0,00	0,06	0,00	0,29
	Б	0,00	0,06	0,50	0,60	0,00	0,03	0,00	0,28
	В	0,00	0,09	0,73	0,81	0,30	0,48	0,30	0,73
	Г	0,03	0,06	0,32	0,42	0,00	0,04	0,00	0,22
	Д	0,04	0,08	0,46	0,60	0,00	0,04	0,00	0,23

Продовження табл. 1.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
9	А	0,71	0,61	0,58	0,69	0,62	0,65	0,38	0,79
	Б	0,79	0,68	0,86	0,74	0,70	0,75	0,41	0,83
	В	0,51	0,49	0,26	0,44	0,50	0,56	0,46	0,83
	Г	0,63	0,60	0,37	0,57	0,60	0,61	0,40	0,79
	Д	0,79	0,73	0,64	0,78	0,59	0,59	0,34	0,82
10	А	0,36	0,54	0,39	0,47	0,49	0,52	0,38	0,42
	Б	0,34	0,61	0,49	0,56	0,43	0,60	0,19	0,67
	В	0,25	0,64	0,15	0,24	0,65	0,65	0,46	0,68
	Г	0,34	0,71	0,28	0,49	0,66	0,71	0,34	0,74
	Д	0,44	0,65	0,57	0,64	0,43	0,61	0,12	0,66
11	А	0,80	0,89	0,85	0,95	0,83	0,88	0,66	0,98
	Б	0,50	0,62	0,62	0,64	0,62	0,67	0,55	0,74
	В	0,95	0,94	0,92	0,96	0,97	0,97	0,97	0,97
	Г	0,33	0,65	0,05	0,26	0,80	0,84	0,75	0,90
	Д	0,47	0,68	0,21	0,48	0,77	0,82	0,60	0,86
12	А	0,49	0,58	0,57	0,64	0,58	0,60	0,48	0,68
	Б	0,51	0,61	0,54	0,65	0,60	0,61	0,46	0,71
	В	0,85	0,83	0,74	0,95	0,95	0,95	0,95	0,95
	Г	0,2	0,57	0,14	0,42	0,66	0,66	0,61	0,74
	Д	0,47	0,59	0,41	0,57	0,63	0,64	0,46	0,73
13	А	0,23	0,49	0,25	0,33	0,38	0,51	0,33	0,51
	Б	0,4	0,61	0,33	0,52	0,66	0,67	0,45	0,64
	В	0,29	0,65	0,25	0,54	0,72	0,65	0,67	0,68
	Г	0,24	0,65	0,16	0,35	0,63	0,66	0,53	0,70
	Д	0,36	0,69	0,32	0,48	0,55	0,61	0,41	0,74
14	А	0,84	0,80	0,89	0,90	0,78	0,85	0,51	0,89
	Б	0,92	0,89	0,92	0,96	0,94	0,96	0,79	0,95
	В	0,91	0,88	0,84	0,95	0,96	0,96	0,82	0,98
	Г	0,71	0,88	0,48	0,60	0,63	0,98	0,98	0,98
	Д	0,94	0,83	0,82	0,91	0,91	0,92	0,56	0,84
15	А	0,00	0,17	0,00	0,07	0,17	0,19	0,00	0,33
	Б	0,00	0,29	0,00	0,20	0,27	0,26	0,12	0,40
	В	0,00	0,25	0,00	0,00	0,26	0,26	0,15	0,43
	Г	0,00	0,24	0,00	0,00	0,24	0,27	0,15	0,42
	Д	0,00	0,23	0,00	0,00	0,31	0,29	0,14	0,50
16	А	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05
	Б	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	В	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Г	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	Д	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

А — Sorbfil; Б — Armsorb; В — Silufol UV-254; Г — Merck; Д — ВЕТЛХ.

1. Хлороформ — ацетон (80:20); 2. етилацетат; 3. хлороформ — метанол (90:10); 4. етилацетат — метанол — 25% розчин амоніаку (85:10:5); 5. метанол; 6. метанол — н-бутанол (60:40); 7. метанол — 25% розчин амоніаку (100:1,5); 8. циклогексан — толуол — діетиламін (75:15:10); 9. хлороформ — метанол (90:10); 10. ацетон; 11. хлороформ — діоксан — ацетон — 25% розчин амоніаку (47,5:45:5:2,5); 12. толуол — ацетон — етанол — 25% розчин амоніаку (45:45:7,5:2,5); 13. етилацетат — метанол — 25% розчин амоніаку (85:10:2,5); 14. хлороформ — н-бутанол — 25% розчин амоніаку (70:40:5); 15. бензол — ацетон (80:20); 16. бензол. При використанні систем розчинників 7, 8, 9, 10 пластинки попередньо обробляли 0,1 М розчином калію гідроксиду в метанолі, а потім висушували при 110°C протягом 30 хв. У системі розчинників 6 пластинки попередньо обробляли 0,1 М розчином натрію броміду.

Результати проявлення плям зопіклону, донормілу та 2-аміно-5-хлорпіридину на хроматографічних пластинках

Проявник*	Забарвлення / чутливість, мкг у пробі		
	зопіклон	2-аміно-5-хлорпіридин	донорміл
1	салатна флуоресценція / 0,1	—	—
2	салатна флуоресценція / 0,1	фіолетова флуоресценція / 0,1	—
3	—	—	—
4	—	—	—
5	жовтогаряче / 0,1	—	жовтогаряче / 0,1
6	—	—	—
7	—	жовта пляма на рожевому фоні / 1,0	—
8	червоно-коричневе / 0,1	—	—
9	чорне / 0,1	—	—
10	яскраво-жовте → жовтогаряча флуоресценція при нагріванні / 0,1	—	—
11	зелене → фіолетове / 0,5	—	—
12	—	жовте / 0,1	—

* Проявники:

- 1 — УФ-світло;
- 2 — послідовно 15 хв у камері, насиченій парами концентрованої хлористоводневої кислоти, та УФ-світло;
- 3 — 1% розчин калію перманганату в 0,25 М розчині сірчаної кислоти [4];
- 4 — 5% розчин хлориду заліза (III) [4];
- 5 — реактив Драгендорфа за Мунье [4];
- 6 — 50% розчин сірчаної кислоти в етанолі [4];
- 7 — 0,5% розчин нінгідрину в суміші розведеної хлористоводневої кислоти та ацетону (1:10) [4];
- 8 — суміш 10% розчину NaOH, 10% розчину H₂O₂ та 2% розчину о-фенілендіаміну в етанолі (1:1:1) [1];
- 9 — пластини обробляють 10% розчином NaOH, висушують при кімнатній температурі, обробляють 5% розчином гідроксиламіну гідрохлориду в етанолі, висушують при кімнатній температурі та обробляють 2% розчином хлориду заліза (III) [1];
- 10 — пластини обробляють 0,5% розчином бензидину в суміші етанолу та 20% розчину NaOH (1:1), висушують при кімнатній температурі та обробляють 80% розчином оцтової кислоти [1];
- 11 — пластини обробляють 10% розчином NaOH, висушують при кімнатній температурі та обробляють 2% розчином о-фенілендіаміну в суміші льодяної оцтової кислоти та води (1:3) [1];
- 12 — послідовно 15 хв у камері, насиченій парами концентрованої хлористоводневої кислоти, та 5% розчин п-диметиламінобензальдегіду в хлороформі [1].

ну гідрохлорид, 30% розчин пероксиду водню, п-диметиламінобензальдегід, хлорид заліза (III), калію перманганат, нінгідрин кваліфікації “х. ч.” або “ч. д. а.”.

Як тонкі шари використовували пластинки для високоефективної тонкошарової хроматографії (ВЕТШХ) виробництва Естонії (сорбент КСКГ, фракція — 5÷20 мкм, товщина шару — 130±25 мкм, розмір пластинок — 10x10 см); пластинки Silufol UV-254 (силікагель, підложка — фольга, зв'язуюча речовина — крохмаль, розмір пластинок — 10x10 см); пластинки Sorbfil (силікагель СТХ-1BE, тип підложки — ПЕТФ, зв'язуюча речовина — силіказоль, фракція — 8÷12 мкм, товщина шару — 100 мкм, розмір пластинок — 10x10 см); пластинки Armsorb (силікагель КСКГ, підложка — фольга, зв'язуюча речовина — крохмаль, фракція — 5÷20 мкм, товщина шару — 100±10 мкм, розмір пластинок — 5x10 см); скляні пластинки фірми “Merck” (Німеччина) (силікагель GF254, розмір пластинок — 10x10 см).

Дослідження проводили в 16 системах розчинників (див. табл. 1), серед яких системи 1-10 є стандартними, визнаними Міжнародним комітетом з систематичного токсикологічного аналізу

Міжнародної асоціації судових токсикологів; системи 11-14 застосовуються в загальному скринінгу речовин основного характеру; системи 15-16 є окремими для дослідження препаратів, похідних бензодіазепіну [2, 4].

Для проявлення плям речовин на пластинках використовували УФ-світло до та після обробки парами хлористоводневої кислоти, деякі реактиви, що застосовуються в загальному скринінгу речовин основного характеру (калію перманганат — для виявлення речовин-відновників, розчин заліза (III) хлориду — для виявлення речовин, які мають у структурі фенольний гідроксил; реактив Драгендорфа, модифікований за Мунье — для виявлення речовин, які мають у структурі третинний атом азоту; 50% розчин сірчаної кислоти в етанолі — для виявлення похідних фенотіазину, нінгідрину — для виявлення речовин, які мають у структурі первинну або вторинну аміногрупу) та деякі реактиви для виявлення зопіклону та 2-аміно-5-хлорпіридину, запропоновані нами раніше [2, 4] (див. табл. 2).

Хроматографування проводили в камері об'ємом 500 см³, в яку вносили 50 мл систем розчин-

ників. Камеру насичували протягом 30 хв. На лінію старту на відстані 2 см від краю пластинки наносили по 10 мкл 0,1% розчинів речовин, що досліджували (в етанолі або хлороформі — для донормілу). Довжина шляху пробігу розчинників складала 8 см.

Результати та їх обговорення

Результати хроматографічного дослідження зопіклону, 2-аміно-5-хлорпіридину та донормілу наведені в табл. 1.

Результати проявлення плям досліджуваних препаратів наведені в табл. 2.

При проявленні плями нітразепаму в УФ-світлі до обробки парами концентрованої хлористоводневої кислоти виявляється темна пляма, після обробки пластин парами концентрованої хлористоводневої кислоти плями нітразепаму, феназепаму, нозепаму та діазепаму мають салатну флуоресценцію в УФ-світлі. Пляма димедролу при проявленні реактивом Драгендорфа, модифікованим за Мунье, забарвлюється в жовтогарячий колір.

Дані, наведені в табл. 1, свідчать, що для розділення зопіклону, 2-аміно-5-хлорпіридину та донормілу в присутності димедролу та снодійних засобів групи бензодіазепінів методом ТШХ можна рекомендувати застосування хроматографічних пластинок Merck у системах розчинників 1, 11, 12 і 13 та хроматографічних пластинок ВЕТШХ та Sorbfil у системі розчинників 1.

Як проявники рекомендовано застосовувати:

— для зопіклону — УФ-світло до та після обробки парами концентрованої хлористоводневої кислоти; реактив Драгендорфа за Мунье; суміш 10% розчину NaOH, 10% розчину H₂O₂ та 2%

розчину о-фенілєндіаміну в етанолі (1:1:1); послідовну обробку 10% розчином NaOH, 5% розчином гідроксиаміну гідрохлориду в етанолі та 2% розчином хлориду заліза (III); послідовну обробку 0,5% розчином бензидину в суміші етанолу та 20% розчину NaOH (1:1) та 80% розчином оцтової кислоти; послідовну обробку 10% розчином NaOH та 2% розчином о-фенілєндіаміну в суміші льодяної оцтової кислоти та води (1:3);

— для 2-аміно-5-хлорпіридину — УФ-світло після обробки парами концентрованої хлористоводневої кислоти; послідовну обробку парами концентрованої хлористоводневої кислоти та 5% розчином п-диметиламінобензальдегіду у хлороформі; — для донормілу — реактив Драгендорфа за Мунье.

ВИСНОВКИ

1. Вивчено хроматографічну поведінку зопіклону, 2-аміно-5-хлорпіридину та донормілу методом ТШХ у присутності снодійних засобів групи бензодіазепінів та димедролу з використанням загальних та деяких окремих систем розчинників, загальноприйнятих у токсикологічному скринінгу речовин основного характеру, та п'яти типів тонких шарів.

2. Вивчено відношення зопіклону, 2-аміно-5-хлорпіридину та донормілу до проявників, що застосовуються в загальному скринінгу речовин основного характеру.

3. Запропоновані реактиви для проявлення плям зопіклону, 2-аміно-5-хлорпіридину та донормілу при виконанні досліджень у присутності димедролу та снодійних засобів групи бензодіазепінів, встановлено їх чутливість.

ЛІТЕРАТУРА

1. Болотов В.В., Клименко Л.Ю. // *ЖОФХ*. — 2005. — №1. — С. 65-70.
2. Еремін С.К., Изотов Б.Н., Веселовская Н.В. *Анализ наркотических средств. Руководство по химико-токсикологическому анализу наркотических и других одурманивающих средств*. — М.: Мысль, 1993. — 272 с.
3. Bockholdt B., Klug E., Schneider V. // *Forensic Sci. Int.* — 2001. — Jun., 1, №119 (1). — P. 138-140.
4. *Clarke's isolation and identification of drugs in pharmaceuticals body fluids and postmortem material*. — London: The Pharm. Press, 1986. — 1200 p.
5. Eccles R., Van Cauwenberge P., Tetzloff W. // *J. Pharm. Pharmacol.* — 1995. — Dec., №47 (12A). — P. 990-993.
6. Galloway J.H., Marsh I.D., Newton C.M., Forrest A.R. // *Sci. Justice*. — 1999. — №39 (4). — P. 253-256.
7. Grobler L.A., Schweltnus M.P., Trichard C., Calder S. // *Clin. J. Sport Med.* — 2000. — Apr., №10 (2). — P. 123-128.
8. Hajak G., Rodenbeck A. // *PharmacoEcon.* — 1996. — Vol. 10 ISS, suppl. 1. — P. 29-38.
9. Koppel C., Tenczer J., Ibe K. // *Hum. Toxicol.* — 1987. — Sep., №37 (9). — P. 355-359.
10. Koski A., Ojanpera I., Akbari A. // *Hum. Exp. Toxicol.* — 2003. — №41 (5). — P. 17-20.
11. Levine B., Klette K., Radentz S. // *Forensic Sci. Int.* — 1996. — Jul., 31, №81 (1). — P. 73-76.
12. Meatherall R.C. // *J. Forensic Sci.* — 1997. — №42 (2). — P. 340-343.
13. Reith D.M., Fountain J., McDowell R., Tilyard M. // *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* — 2003. — №41 (7). — P. 975-980.
14. Ruiz Ruiz M.D., Garcia Sanchez F.M., Moreno Gavira R. // *Farm. Clin.* — 1995. — Vol. 12 ISS, Jun. — P. 337-338, P. 340-346.
15. Siek T.J., Dunn W.A. // *J. Forensic Sci.* — 1993. — May, №38 (3). — P. 713-720.

16. *Supiyaphun P., Kerekhanjananarong V., Saengpanich S. // J. Med. Assos. Thaj. — 2003. — Jun., № 86 (2). — P. 362-372.*
17. *Wagner J., Wagner M.L., Hening W.A. // Ann. Pharmacother. — 1998. — Vol. 32 ISS, Jun. — P. 680-691, P. 726-727.*

УДК 615.214.24:543.544.42

**ПРИМЕНЕНИЕ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ
В АНАЛИЗЕ СНОТВОРНЫХ СРЕДСТВ ЗОПИКЛОНА И
ДОНОРМИЛА**

В.В. Болотов, Л.Ю. Клименко, И.М. Иванчук

Проведено исследование зопиклона, продукта его щелочно-го гидролиза — 2-амино-5-хлорпиридина и донормила методом тонкослойной хроматографии в присутствии снотворных средств группы бензодиазепинов и димедрола с использованием общих и некоторых частных систем растворителей, являющихся общепринятыми в токсикологическом скрининге веществ основного характера, и пяти типов тонких слоев. Изучено отношение указанных веществ к проявителям, используемым в общем скрининге веществ основного характера, и предложены реактивы для проявления пятен зопиклона и 2-амино-5-хлорпиридина, установлена их чувствительность.

UDC 615.214.24:543.544.42

**THE APPLICATION OF THIN LAYER CHROMATOGRAPHY
IN THE ANALYSIS OF HYPNOTIC MEDICATIONS
ZOPICLONE AND DONORMIL**

V.V. Bolotov, L. Yu. Klimenko, I. M. Ivanchuk

The research of zopiclone, the product of its alkaline hydrolysis — 2-amino-5-chloropyridine and donormil by the method of thin layer chromatography in the presence of hypnotic medications of benzodiazepine group and dimedrole has been conducted using general and some particular solvent systems, which are commonly used in toxicological screening of the substances with the basic character, and five types of thin layers. The behaviour of the substances mentioned to the reducing agents used in general screening of the substances with the basic character has been studied and the reagents for the spot reducing of zopiclone and 2-amino-5-chloropyridine have been suggested, their sensitivity has been determined.