

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ
Кафедра клінічної біохімії, судово-медичної токсикології та фармації



ВИЯВЛЕННЯ МЕТАДОНУ В БІОЛОГІЧНИХ РІДИНАХ

Навчально-методичний посібник для самостійної роботи слухачів

Харків
ХМАПО
2019

*Затверджено на засіданні Вченої ради
Харківської медичної академії післядипломної освіти
(протокол № 10 від 10.12.2019 р.)*

Укладачі:

І. О. Журавель, зав. каф., д-р хім. наук, проф.;

О. В. Чубенко, канд. фармац. наук, доцент;

О. В. Чорна, канд. фармац. наук, асистент;

Н. В. Гузенко, канд. фармац. наук, доцент

Рецензенти:

С. В. Баюрка – завідувач кафедри аналітичної та лікарської токсикології Національного фармацевтичного університету, д-р фармац. наук, доцент;

О. М. Гуров – завідувач кафедри судово-медичної експертизи Харківської медичної академії післядипломної освіти, д-р мед. наук, професор.

Виявлення метадону в біологічних рідинах: навчально-методичний посібник для самостійної роботи / І. О. Журавель, О. В. Чубенко, О. В. Чорна, Н. В. Гузенко. – Харків : ХМАПО, 2019. – 26 с.

Посібник містить навчальний матеріал для самостійної підготовки до занять за темою «Ізолювання, виявлення та визначення наркотичних, психотропних речовин та лікарських засобів». Навчальний посібник для самостійної роботи розраховано для судово-медичних експертів-токсикологів та лікарів-лаборантів.

© ХМАПО, 2019

ЗМІСТ

ТЕРМІНИ ТА ЦМОВНІ СКОРОЧЕННЯ	4
ЗАПИТАННЯ ДЛЯ ПЕРВИННОГО КОНТРОЛЮ ЗНАНЬ	5
ВСТУП	6
I. Об'єкт дослідження.....	6
1.1. Кортка характеристика речовини, яку виявляють.....	7
1.2. Преаналітичний етап.....	8
II. Попереднє дослідження.....	8
2.1. Підготовка проби.....	11
2.1.1. Попереднє очищення проби.....	12
III. Хроматографія в тонкому шарі сорбенту (ТШХ).....	14
3.1. Підготовчі операції	14
3.2. Виявлення речовин методом хроматографії в тонкому шарі сорбенту ..	16
3.3. Ідентифікація метадону та його метаболіту.....	17
3.3.1. Приготування реактивів	18
3.3.2. Приготування стандартних розчинів	20
ПИТАННЯ ДЛЯ ЗАКЛЮЧНОГО КОНТРОЛЮ ЗНАНЬ	21
ЛІТЕРАТУРА	24

ТЕРМІНИ ТА УМОВНІ СКОРОЧЕННЯ

Адсорбція – (від лат. *Ad* – на, при і лат. *Sorbeo* – поглинаю) – вибіркоче поглинання речовини з газового чи рідкого середовища поверхневим шаром твердого тіла (адсорбенту) чи рідини

Аналіт – речовина чи інша складова системи, яка підлягає хімічному аналізу

Біоматеріал – біологічний матеріал (сеча, кров, трупні органи), який використовується для судово-токсикологічних досліджень

Наркотик (від грец. *Narkoticos*) – той, що призводить до заціпеніння, одурманюючий) – субстанції природних чи синтетичних речовин, здатні викликати психічну чи фізичну залежність

ЕДДП – 2-етиліден-1,5-диметил-3,3-діфенілпірролідін

ЕМДП – 2-етил-5-метил-3,3-діфенілпіролін

pKa – показник кислотності

РРЕ – рідинно-рідинна екстракція

ТФЕ – твердо-фазна екстракція

ТШХ – тонкошарова хроматографія

ГХ/МС – газова хроматографія з мас-спектрометричним детектуванням

pH – водневий показник

hRf – відношення довжини хроматографічного шляху речовини до довжини фронту розчинників помножене на 100

ГХ – газова хроматографія

РХ – рідинна хроматографія

ГРХ – газорідинна хроматографія

ЗАПИТАННЯ ДЛЯ ПЕРВИННОГО КОНТРОЛЮ ЗНАТЬ

1. Які біологічні рідини людини є об'єктами токсикологічного аналізу для виявлення наркотичних та психотропних речовин?
2. Як крос-реактивність впливає на результати аналізу, який здійснено методом імунохроматографії?
3. Які переваги має метод хроматографії в тонких шарах сорбенту в порівнянні з методами газорідинної хроматографії?
4. Яка різниця в термінах «виявлено» або «ідентифіковано» наркотичну речовину?
5. Назвіть ідентифікаційні параметри в методі хроматографії в тонких шарах сорбенту.
6. Назвіть різницю в оцінці результатів отриманих при проявленні речовин в методі хроматографії в тонких шарах сорбенту, загально груповими та специфічними реактивами.
7. Як розраховують показник R_f ?
8. Що таке модифікатор, який додають в систему розчинників в методі хроматографії в тонких шарах сорбенту?
9. Як впливає на вірогідність результатів аналізу виявлення цільової речовини та її метаболіту, який утворився в організмі людини?
10. Чим відрізняється метадон від метадолу?

ВСТУП

Завданням сучасної лабораторної аналітичної діагностики гострих отруєнь і станів одурманення, викликаних вживанням наркотичних та пситропних речовин, є їх вирогідне виявлення серед широкого спектра речовин різної хімічної природи.

Алгоритм токсикологічного дослідження повинен базуватися на використанні комплексу методів, що включає в себе етапи токсикологічного аналізу, які послідовно виконуються – від проведення попереднього скринінгу, для встановлення групової приналежності наркотичних засобів, до ідентифікації індивідуальної речовини. Характеристика методів, які застосовують, є наступною: на стадії попереднього скринінгу метод повинен бути чутливим та мало селективним, а на стадії виявлення та ідентифікації – високоспецифічним і не таким чутливим як попереднє дослідження.

Вибір того чи іншого методу, при проведенні токсикологічного аналізу, залежить від завдань дослідження, економічних можливостей та оснащення лабораторії.

У посібнику описано розроблену методику, яка призначена для ідентифікації метадону та його метаболіту 2-етиліден-1,5-диметил-3,3-діфенілпірролідіна (ЕДДП) в біологічних рідинах людини.

Даний навчально-методичний посібник для самостійної роботи розрахований для слухачів циклів спеціалізації, стажування та тематичного удосконалення спеціальності «Судово-медична токсикологія».

І. ОБ'ЄКТ ДОСЛІДЖЕННЯ

Основною метою здійснення дослідження є ідентифікація метадону та його основного метаболіту ЕДДП для діагностики факту вживання, а також станів сп'яніння і гострої інтоксикації.

1.1. Коротка характеристика речовини, яку виявляють

Метадон (6-діметиламіно-4,4-діфеніл-гептан-3-он) – потужний синтетичний наркотик, опіоїд.

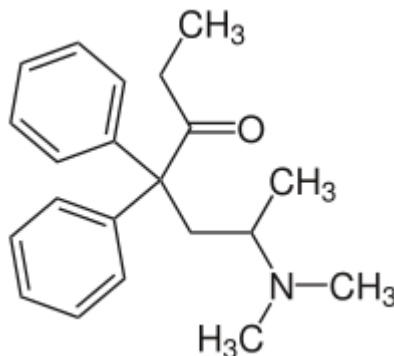


Рис.1. Метадон

pKa – 8,99

Коефіцієнт розподілення октан – вода – 4,2

Час полувиведення: 15 – 55 годин

Об'єм розподілу: 4–5 л/кг

Зв'язування з білками – 87%

Виведення в незмінному вигляді: 30 – 35 %

В Україні метадон використовується в замісній підтримуючій терапії в якості лікарського засобу для лікування наркоманії. Метадон значно зменшує тягу до вживання нелегальних опіоїдів. Крім того, проявляє анагетичну (знеболюючу) та седативну (заспокійливу) дію. Вживається перорально – в таблетках або у вигляді сиропу. Впливає на центральну нервову, серцево-судинну системи та гладку мускулатуру. При проведенні ЗПТ метадон використовується тривалий час.

Тривале лікування метадоном сприяє стабілізації функцій головного мозку в осіб, залежних від опіоїдів, покращує якість життя. Спочатку його

було введено для ВІЛ-позитивних пацієнтів. На сьогодні, його отримують всі наркозалежні, за власним бажанням.

В порівнянні з героїном, метадон більш дешевший наркотик, однак й залежність від нього більша. Якщо від героїну синдром відміни («ломка») триває 7 – 10 днів, то від метадону він триває від 30 днів і більше.

В Україні в замісній терапії використовуються ЛП метадону гідрохлориду під такими торговими назвами, як «Метадол Фармасайнс», «Метадон-ДТ», «Метафін-ІС» і «Метадікт» в таблетках. Дозування метадону становить від 5 до 100 мг на добу (в середньому – 80 - 100 мг), особливо великі дози препарату призначаються тим, хто паралельно приймає інші види лікування, наприклад, антиретровірусну терапію. Також, метадон може використовуватися у вигляді розчину для ін'єкцій (10 мг/мл). Він добре переноситься пацієнтами. Позитивними ефектами тривалого вживання є: поліпшення загального стану, спокій, нормалізація сну та апетиту. Побічні ефекти: головний біль, запаморочення, загальмованість, нудота, блювота, підвищена пітливість, сонливість, застій жовчі та спазми жовчних проток, запори, безсоння.

Період напіввиведення 35 годин, у певних випадках може подовжуватись до 72 годин. Виводиться з сечею, де за допомогою експрес-тестів може визначатись впродовж кількох діб. У зв'язку з тривалим періодом напіввиведення та сильним наркотичним ефектом препарату, передозування ним дуже небезпечне. Передозування проявляється загальмованістю, сонливістю, зниженням частоти дихання, аж до повної зупинки дихання. Для не толерантних осіб доза 50 мг і менше вважається летальною.

З недоліків метадону слід відзначити високий ризик передозування (особливо у випадках паралельного вживання нелегальних наркотиків і / або алкоголю), а також більш тривалий і виражений «синдром відміни» (в порівнянні з бупренорфіном, «ширкою» і героїном), який може тривати до місяця і довше і часто супроводжується сильними болями у всьому тілі.

При замісній терапії опіатів денна оральна доза може бути 180 мг.

Час полувиведення при кислих значеннях сечі – біля 20 годин; при лужних – більш ніж 40 годин у однієї й тієї ж людини.

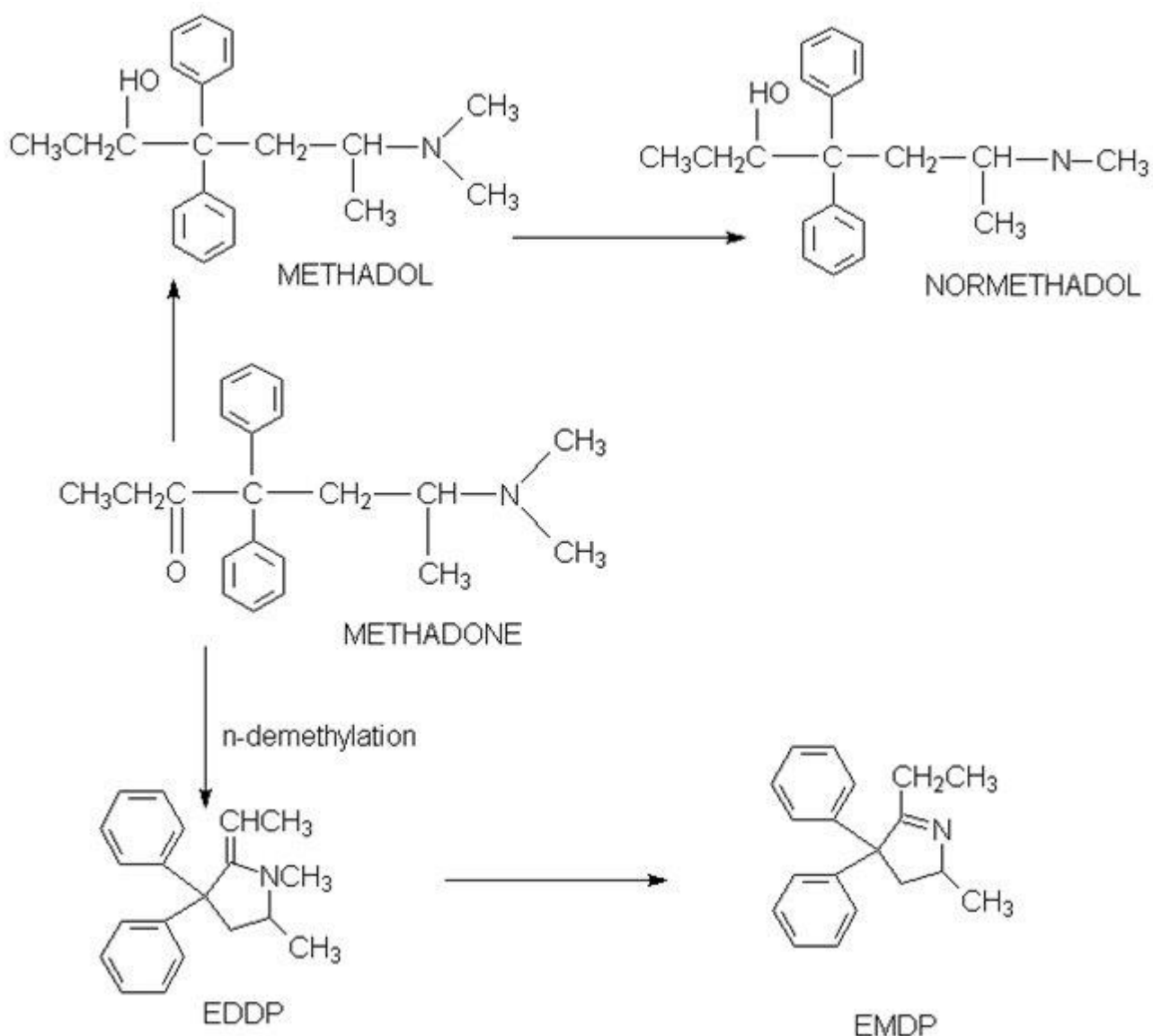


Рис. 2. Схема метаболізму

Метаболізує шляхом N-деметилування з утворенням 2-етиліден-1,5-диметил-3,3-діфенілпірролідін (**ЕДДП**) та 2-етил-5-метил-3,3-діфенілпіролін (**ЕМДП**), з наступним п-гідроксилюванням та кон'югацією.

1.2. Преаналітичний етап

Сечу (не менше 100 мл) збирають в чистий сухий пластиковий або скляний посуд без консервантів.

Домішки (відбілювачі або інші агенти що оксидують), що потрапляють в зразки сечі на преаналітичному етапі, можуть давати помилкові результати тестування .

II. ПОПЕРЕДНЄ ДОСЛІДЖЕННЯ

Для попереднього аналізу, що дозволяє зробити скринінгове дослідження на метадон, рекомендується використовувати імунохроматографічний метод із застосуванням тест-смужок на основі моноклональних антитіл. Відмінною особливістю експрес-тестів є їх здатність виявляти як нативну речовину, так і її метаболіти.

Однак, через наявність крос-реакцій з деякими речовинами іншої хімічної структури не виключається можливість отримання хибнопозитивного результату Крім того, при тестуванні зразків сечі з вмістом на 25% нижче або вище встановленого порогу виявлення (cut-off) в деяких випадках відзначаються нечіткі результати (категорія «непідтверджених»). Тому, для виключення помилок, після отримання позитивного або сумнівного результату, при дослідженні на наявність метадрону, в обов'язковому порядку необхідно підтверджуюче токсикологічне дослідження будь-яким іншим більш специфічним методом.

У разі негативного результату, при дослідженні за допомогою експрес-тестів, подальший аналіз проводити недоцільно через досить високу чутливості імунохроматографічних методів.

В запропонованій схемі описаний алгоритм хіміко-токсикологічного аналізу при дослідженні зразків біологічного матеріалу на наявність метадрону.

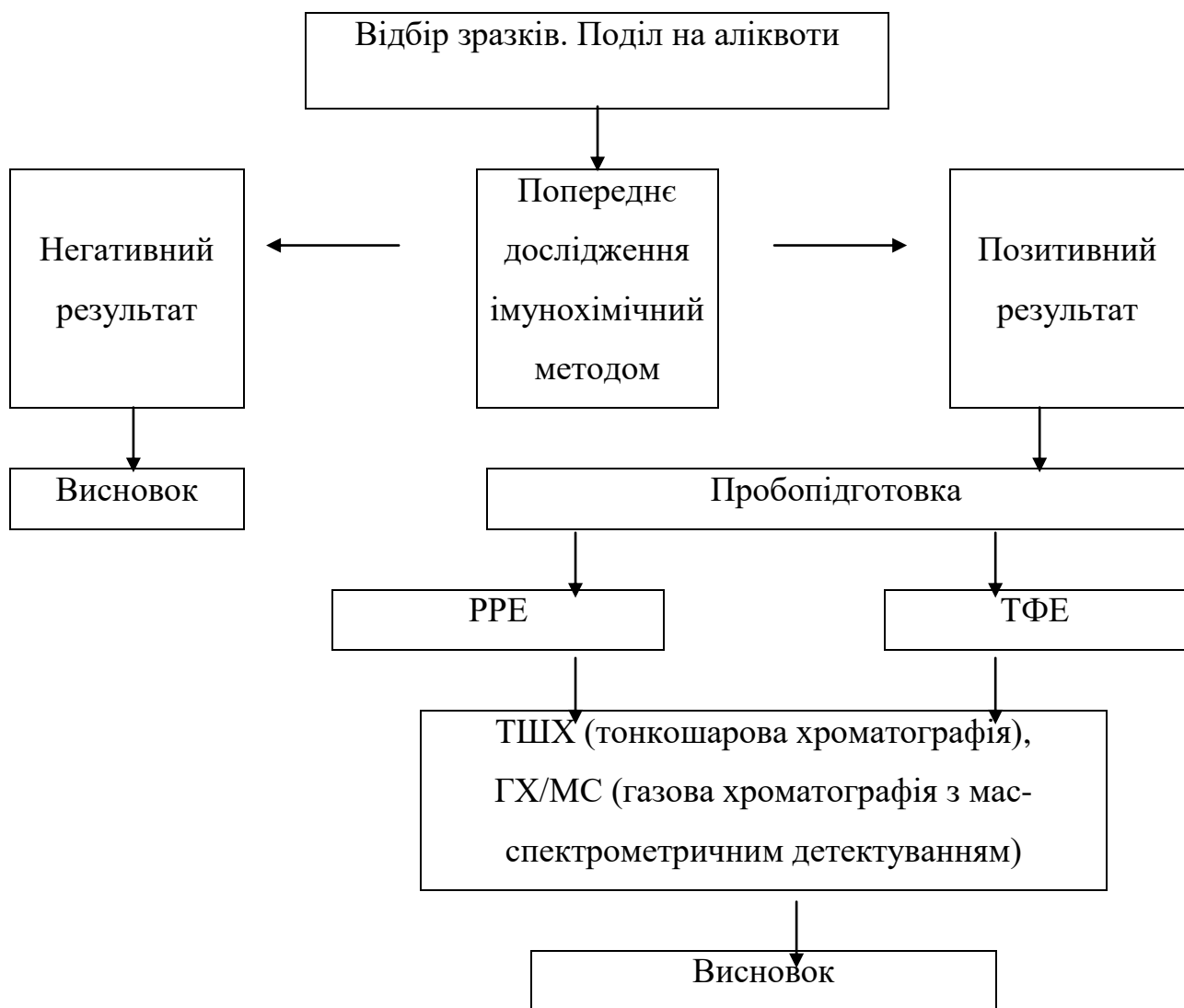


Схема 1. Послідовність етапів лабораторно-діагностичного дослідження метадону в біологічних рідинах

2.1. Підготовка проби

Вибір методу підготовки проби визначається аналітичним методом, який буде використаний для виконання дослідження. Для виявлення метадону та його основного метаболіту (ЕДДП), в якості методів пробопідготовки, рекомендується використовувати рідинно-рідинну екстракцію (РРЕ) або твердофазну екстракцію (ТФЕ).

2.1.1. Попереднє очищення проби.

Сеча: слід застосовувати тільки прозорі зразки, при необхідності сечу слід фільтрувати через беззольний фільтр (синя стрічка) або центрифугувати на загальноклінічній центрифугі.

Рідина-рідинна екстракція (PPE)

Для ізолювання метадону та ЕДДП з біологічних рідин рекомендуються способи здійснення рідино-рідинної екстракції з виконанням наступних процедур та етапів пробопідготовки:

1. Внесення зразка біологічної рідини (10 мл) в екстракційну тубу з подальшим додаванням 25%-го розчину аміаку до рН 9,0–10,0 (універсальний індикатор), додавання 10 мл суміші органічних розчинників (можна використовувати будь-яку з пропонованих сумішей):

- Хлористий метилен: гептан: ізопропіловий спирт (7: 2: 1).
- Хлороформ: ізопропіловий спирт (9 : 1). *

Інтенсивне струшування суміші на планетарному шейкері 10 хв при 120 об/хв, після чого центрифугування 10 хв при 3000 об/хв, потім відділення фази органічного розчинника, перенесення її в випарювальну чашку* та упарювання насухо при температурі не вище 50 °С. Розчинення сухого залишку в хлороформі і дослідження аліквот (точних обсягів) отриманого вилучення будь-якими аналітичними методами.

** Для досягнення більш ефективного концентрування видобутих речовин, екстракцію можна проводити по описаній схемі двічі.*

2. Другим способом пробопідготовки є PPE з додаванням інертної нейтральної солі (висолюванням), що дозволяє зменшити розчинність аналіту у водній фазі та знижує змішуваність води з органічним розчинником. Для цього до 10 мл біологічної рідини додається 3 г хлориду натрію з подальшим додаванням лугу (1,5 мл насиченого розчину карбонату натрію) до рН 9,0-

10,0 (універсальний індикатор). Далі проводиться екстракція сумішшю органічних розчинників за схемою, зазначеною вище.

Твердофазна екстракція (ТФЕ)

Для отримання витягу з незначним вмістом ендогенних сполук рекомендується використовувати метод твердофазної екстракції.

Для ізолювання метадону та ЕДДП застосовують в основному змішані сорбенти, в яких гідрофільні силанольні групи пов'язані частково з алкільними вуглеводневими залишками середньої довжини (C8, C18) і частковими катіонообмінними властивостями.

Етапи ТФЕ:

- *Підготовка зразка.* Досліджувану пробу об'ємом 5 мл змішують з 3 мл 0,1 моль / л розчину калію фосфорнокислого двузаміщеного з рН 6,0.

- *Підготовка колонки.* Перед початком роботи проводять кондиціонування сорбенту, для чого через колонку послідовно пропускають 6 мл метанолу, потім 6 мл 0,1 моль / л розчину калію фосфорнокислого двузаміщеного з рН 6,0 під вакуумом, що забезпечує швидкість потоку рідини близько 2 мл / хв.*

** Перед введенням досліджуваного зразка сорбент не повинен висушуватися!*

- *Введення зразка.* Пробу біологічної рідини пропускають через колонку при невеликому вакуумі зі швидкістю близько 1,5 мл / хв, але не вище 2 мл / хв.

- *Промивання колонки.* Через колонку пропускають послідовно 3 мл води, 3 мл 0,1 моль / л розчину ацетату натрію і 3 мл метанолу під вакуумом, що забезпечує швидкість потоку рідини близько 2 мл / хв.

- *Елюювання.* Через колонку пропускають 3 мл суміші: метіленхлорід – ізопропіловий спирт – 25% розчин аміаку (78 : 20 : 2) при невеликому вакуумі зі швидкістю близько 1,5 мл / хв, але не вище 2 мл / хв.*

* *Припустимо пропускання елюента без застосування вакууму лише під дією сили тяжіння.*

- *Висушування елюата.* Органічні розчинники видаляють з елюата упарюванням при 40 °С в струмі азоту та / чи повітря. Сухий залишок розчиняють в 100 мкл етилацетату і досліджують методом газової хромато-мас-спектрометрії (ГХ/МС).

В даний час застосовують регенеровані колонки, які можна використовувати до 50 разів. Ці колонки після використання відновлюють промиванням.

- *Промивання колонки.* Через сорбент пропускають по черзі по 2 мл деіонізованої дистильованої води і 80% водного розчину метанолу (можливе використання ацетонітрилу).

III. ХРОМАТОГРАФІЯ В ТОНКОМУ ШАРІ СОРБЕНТУ (ТШХ)

Метод хроматографії в тонкому шарі сорбенту заснований на принципі сорбції / десорбції речовин в закріпленому шарі сорбенту при їх переміщенні рухомою рідкою фазою. В якості сорбентів використовуються силікагелі, кремнієва кислота, оксид алюмінію і ін., які закріплюються на спеціальних пластинах (підкладках), що виготовляються зі скла, пластифікованої целюлози, алюмінієвої фольги або політеропталату (ВТФ). У шар сорбенту додатково може бути введена флюоресуюча домішка. ТШХ може використовуватися як для додаткового очищення і ізолювання визначених речовин, так і для їх ідентифікації.

3.1. Підготовчі операції

Хроматографічне розділення (проявлення або елюювання) проводять в герметично закритих скляних камерах. Для забезпечення герметичності прилягання кришки, шліф обробляють вакуумною силіконовою змазкою або очищеним вазеліном.

Приготування хроматографічних систем. Відмірювання компонентів суміші проводиться за допомогою піпеток, мірних пробірок або циліндрів (не менше 2-го класу точності). Змішування компонентів здійснюють в мірних циліндрах або пробірках зі шліфом об'ємом 50 мл. ***(Перемішування в хроматографічній камері неприпустимо!)***

Склад рекомендованих систем:

Система 1. Толуол – ацетон – етанол – 25% розчин аміаку (4,5:4,5:0,75:0,25).

Система 2. Етилацетат – метанол – 25% розчин аміаку (8,5:1,0 :0,5)

Система 3. Гексан – етанол – 25% розчин аміаку (3:6:0,04)

Система 4. Хлороформ – метанол (9:1).

Система 5. Метанол – 25 % розчин аміаку (100:1,5).

Система 6. Гексан – діетиловий ефір – триетиламін (10:20:1).

Приготовану систему переносять в хроматографічну камеру, яку закривають кришкою і не менше 30 хв насичують парами розчинників. Хроматографічні системи використовуються зразу після приготування .

Для дослідження методом ТШХ використовуються екстракти, отримані рідинно-рідинною екстракцією.

Нанесення проби. Дві аліквоти (по 2 мл) екстракту, отриманого з досліджуваного зразку після пробопідготовки, наносять за допомогою капіляру на стартову лінію двох хроматографічних пластин (Sorbfil) на відстані не менше 15 мм від нижнього краю і не менш 15 мм від бокового краю, в одну точку декількома порціями, висушуючи кожну порцію в струмі повітря.

Хроматографічну пластинку після нанесення зразків занурюють в систему розчинників, хроматографічну камеру зразу герметично закривають кришкою та очікують поки система розчинників підніметься по пластинці на відстань $\approx 8,5$ см. Після чого пластинку витягають, висушують та здійснюють візуалізацію / виявлення речовин.

3.2. Виявлення речовин методом ТШХ

Після хроматографічного поділу одну пластину обробляють реактивом Драгендорфа за Мун'є. Поява помаранчевих плям свідчить про виявлення речовини, яка має в своїй структурі третинну аміногрупу. Наприклад, до таких речовин належать деякі лікарські та наркотичні засоби (Див. табл. 1).

Таблиця 1.

Речовина	Забарвлення з реактивом Драгендорфа за Мун'є	<i>hRf</i> в системах	
		Система 1	Система 2
метадон	помаранчове	88	84
донорміл	помаранчове	66	69
клофелін	помаранчове	86	81
лідоканін	помаранчове	83	78
кетамін	помаранчове	74	88
дімедрол	помаранчове	67	78

Далі, для виявлення метадону отриманий екстракт хроматографують в системі 3 і виконують розрахунок. (Див. табл. 2). Реактив Манделіна наносять крапельно.

Таблиця 2.

Речовина	Забарвлення з реактивом Манделіна	<i>hRf</i> в системах	Розрахункові показники	
		Система 3	ΔhRf в системах 2 та 3	ΔhRf^* $\Delta hRf_{\text{дімедр.}}$
метадон	синьо-зелене	47	37	703
донорміл	синє	14	55	1045

клофелін	–	75	6	114
лідоканін	помаранчеве	77	1	19
кетамін	–	71	17	323
димедрол	жовте	59	19	—

Після отримання відповідного забарвлення з реактивом Манделіна та отримання розрахункового показника роблять відповідні висновки про виявлення метадрону.

3.3. Ідентифікація метадрону та його метаболіту

Одночасно на пластину (Sorbfil) з двома плямами на відстані не менше 10 мм наносять по 10 мкг стандартів метадрону гідрохлориду та ЕДДП у вигляді хлороформних розчинів. Пластини висушують до видалення запаху розчинників і поміщають в підготовлену хроматографічну камеру. Фронт розчинників не повинен підніматися вище 5 мм від верхнього краю пластини.

Після цього пластини витягують з камери і висушують в струмі повітря до повного видалення запаху розчинників.

Після хроматографічного поділу одну пластину обробляють крапельно реактивом Манделіна, наносячи реактив від старту до фінішу спочатку в зону мітчиків, а потім в досліджувану зону. При цьому в зонах мітчиків і зразка що досліджується відзначають пофарбовані плями.

Другу пластину обробляють шляхом обробки реактивами в наступній послідовності: 1%-м розчином тривкого чорного К в дистильованій воді, потім 1 моль / л розчином гідроксиду натрію і повторно – 1% -м розчином міцного чорного К.

Ідентифікацію речовин проводять за наявністю специфічного забарвлення (таблиця 3), а також щодо відповідності довжини пробігу речовини (Rf) в порівнянні зі стандартними речовинами (таблиця 4).

Таблиця 3.

<i>Речовина</i>	<i>Реактив Манделіна</i>	<i>1% -й тривкий чорний К</i>
Метадон	синьо–зелене	бузкове
ЕДДП	синьо–зелене	бірюзове → рожеве

Таблиця 4

<i>Речовина</i>	<i>Величина hR_f</i>		
	<i>Система 4</i>	<i>Система 5</i>	<i>Система 6</i>
Метадон	85	75	80
ЕДДП	18	20	88

Межа виявлення метадону методом хроматографії в тонкому шарі сорбенту становить 0,5-1 мг / л.

Стандартними речовинами порівняння є:

- 6-диметиламіно-4,4-дифеніл-3-гептанон (метадон), $p > 99\%$;
- 2-етиліден-1,5-диметил-3,3-діфенілпірролідін (ЕДДП), $p > 99\%$.

3.3.1. Приготування реактивів

МАНДЕЛІНА РЕАКТИВ

Приготування:

0,1 г ванадату амонію (NH_4VO_3) розчинити в 0,30 мл дистильованої води та довести до 20 мл концентрованою сульфатною кислотою. Реактив зберігається при кімнатній температурі в герметично закритому скляному посуді з пришліфованою пробкою не більше трьох діб.

Послідовність застосування:

I. хроматографічну зону крапельно обробити готовим розчином.

II. Спочатку витримати хроматографічну пластинку в камері насиченій парами формальдегіду, а потім хроматографічну зону крапельно обробити готовим розчином.

Візуальний ефект: плями різноманітних кольорів та відтінків.

Специфічність: поява кольорових плям обумовлена утворенням забарвлених продуктів окиснення досліджуваних речовин ванадієвою кислотою. За інформативністю реактив аналогічний реактиву Лібермана. Не специфічний реактив, багато різноманітних органічних сполук, дають позитивний результат. Попереднє витримання в парах формальдегіду дозволяє отримувати позитивний результат з речовинами, які за звичайних умов не утворюють забарвлення.

ТРИВКИЙ ЧОРНИЙ К (FAST BLACK K SALT)

Приготування:

а) 0,01 г реактиву розчинити в 10 мл дистильованої води. Використовується свіжовиготовлений розчин.

б) 2 г натрій або калій гідроксиду розчинити в 50 мл дистильованої води. Зберігати розчин в пластиковому посуді з поліетилену. Термін придатності шість місяців. Утворення карбонатів впродовж зберігання не впливає на властивості розчину.

Послідовність застосування: хроматографічну зону спочатку обприскати розчином (а), а потім розчином (б). Після підсушування хроматографічної пластинки в тоці повітря кімнатної температури повторно обприскати розчином (а).

Для отримання адекватного візуального ефекту важливо перед застосування реактиву видалити всі залишки аміаку з шару сорбенту!

Візуальний ефект: після обприскування тільки розчином (а) проявляються переважно вторинні алкіламіни (метамфетамін та його похідні).

Після обприскування розчином (б) проявляються переважно первинні алкіламіни (амфетамін та його похідні).

Повторне обприскування реактивом (а) сприяє посиленню забарвлення плям. Колір плям первинних алкіламінів переважно фіолетовий, вторинних – переважно оранжевий.

Реактив необхідно застосовувати лише після встановлення групи досліджуваної речовини для з'ясування деталей структури (первинний чи вторинний алкіламін)

Специфічність: забарвлення обумовлене утворенням азобарвника між реактивом, який є діазосполукою, та досліджуваною речовиною. Реактив використовується для диференціації первинних та вторинних алкіламінів але не є специфічним для цієї групи. Позитивний результат дають всі речовини із рухливим атомом гідрогену (наприклад: аміни, феноли, єноли, гетероцикли тощо).

3.3.2. Приготування стандартних розчинів

На аналітичних вагах (з точністю 0,0001 г) зважують 0,0005 г стандартної речовини порівняння (D-метадону трихлорида або ЕДДП перхлората), поміщають в мірну пробірку зі шліфом об'ємом 5,0 мл, розчиняють в хлороформі і обсяг доводять до мітки. Стандартний розчин містить 500 мкг речовини в 1 мл.

ПИТАННЯ ДЛЯ ЗАКЛЮЧНОГО КОНТРОЛЮ ЗНАНЬ

1. Реактивом для виявлення речовин з третинною аміногрупою є

- A. 10 % розчин ферум (III) хлориду
- B. реактив Драгендорфа за Мун'є
- C. 5 % розчин нінгідрину в ацетоні

2. Метадон є:

- A. опіатом
- B. опіоїдом
- C. фенілалкіламіном
- D. фенілциклогексиламіном

3. Метадон може бути:

- A. лікарським засобом
- B. лікарським засобом, який використовують в замісній терапії опіато залежних наркоманів
- C. реактивом
- D. кустарно виготовленим наркотиком

4. При застосуванні реактиву Манделіна необхідно:

- A. хроматографічну пластинку нагріти
- B. хроматографічну пластинку змити водою після обробки реактивом
- C. нанести реактив зразу
- D. перед нанесенням реактиву тонкошарову пластинку витримати в випарах формаліну впродовж 15 хвилин.

5. Величину R_f використовують з ціллю:

- A. ідентифікації речовини
- B. кількісного визначення
- C. визначення чистоти речовини

D. орієнтовної ідентифікації речовини

6. Величина R_f не залежить від:

- A. однорідності шару сорбенту
- B. часу хроматографування
- C. насиченості парами розчинника хроматографічної камери
- D. властивостей речовин, які входять в склад суміші
- E. розміру пластинки

7. Для ізолювання метадону та ЕДДП з біологічних рідин методом рідинно-рідинної екстракції використовують суміш хлористий метилен – гептан – ізопропіловий спирт у співвідношенні:

- A. 1 : 6 : 3
- B. 2 : 2 : 6
- C. 7 : 2 : 1
- D. 5 : 4 : 1

8. Які фактори надають суттєвого впливу на отримання хибно негативних результатів аналізу?

- A. недостатня чутливість використаного методу аналізу
- B. недостатня селективність використаного методу аналізу
- C. недостатня кваліфікація експерта
- D. фальсифікація проби

9. Які методи використовують в якості основних для попереднього дослідження?

- A. хроматографічні (ТШХ)
- B. імунохімічні
- C. хромогенні реакції
- D. ІК-спектроскопію.

10. Які методи використовують для підтверджуючого дослідження?

A. імунохімічні

B. ГРХ

C. ВЕРХ

D. ГХ / МС

Правильні відповіді:

1 – B

6 – E

2 – B

7 – C

3 – B

8 – A, C

4 – D

9 – A, B, C

5 – D

10 – B, C, D

ЛІТЕРАТУРА

1. Clarke's Analysis of Drugs and Poisons / [edited by] Anthony C Moffat, M David Osselton, Brian Widdop. – 4st ed. – London. : Pharmaceutical Press, 2011. – 2581 p. – ISBN 978-0-85369-7114.
2. В.Ю. Буряк, Ю.І. Геваза, О.П. Замошець. Експертиза наркотичних речовин. Навчальний посібник. – Київ, 2005. – 264с.
3. Використання методу хроматографії в тонкому шарі сорбенту в судово-токсикологічних дослідженнях (навчальний посібник для самостійної роботи слухачів) / [І.О.Журавель, О.В.Чубенко, Н.В.Гузенко, В.В.Альхуссейн] – Харків: Харківська медична академія післядипломної освіти, 2017. – 35 с.
4. Застосування імуноферментного методу в судово-токсикологічному аналізі, та його обмеження (навчально-методичний посібник для самостійної роботи) / І. О. Журавель, О. В. Чубенко, Н. В. Гузенко, В. В. Альхуссейн. – Харків : ХМАПО, 2018. – 53 с.
5. Исследования некоторых лекарственных и наркотических препаратов – аналогов по структуре и действию методом хроматографии в тонких слоях сорбента / Петюнин Г.П., Чубенко О.В., Гузенко Н.В. // В Кн.: Теорія та практика судової експертизи і криміналістики: Збірник науково-практичних матеріалів Харківського НДІ судових експертиз м.. Засл. м.а. М.С. Бокаріуса. – Х.: Право, 2011. – Вип.11. – С.378-384.
6. Інформаційний лист «Спосіб визначення заборонених наркотиків у суміші з лікарськими засобами в сечі людини» / Г.П. Петюнін, О.В. Чубенко, Н.В. Гузенко, О.В. Хіжніченко // МОЗ України, Український Центр наукової медичної інформації та патентно-ліцензійної роботи. – Київ, 2012.
7. Інформаційний лист № 83-2016 «Спосіб виявлення деяких лікарських засобів, які містять в своїй структурі третинну аміногрупу» / О.В. Чубенко, Н.В. Гузенко, Кахановський Ф.М., Кахановська К.І. // МОЗ

України, Український Центр наукової медичної інформації та патентно-ліцензійної роботи. – Київ, 2016р.

8. МЕЖДУНАРОДНЫЙ КОМИТЕТ ПО КОНТРОЛЮ НАД НАРКОТИКАМИ. Дополнительные направления действий в поддержку осуществления принятых МККН в 2007 году Руководящих принципов в отношении ввоза и вывоза эталонных стандартных образцов наркотиков и прекурсоров для использования национальными лабораториями экспертизы наркотиков и национальными компетентными органами. Февраль 2012 года

9. Методи виявлення наркотичних засобів та психотропних речовин у біологічних рідинах людини. Методи попередньої експрес-діагностики / Петюнин Г.П., Дмитрієвська Ж.В., Чубенко О.В. // Методичні рекомендації. – К.: УкрЦНМІ. – 2006.

10. Модификация метода «ТСХ-скрининга» для некоторых контролируемых соединений / Петюнин Г.П., Чубенко О.В., Гузенко Н.В. // Теорія та практика судової експертизи і криміналістики: Збірник науково-практичних матеріалів Харківського НДІ судових експертиз м.. Засл. м.а. М.С. Бокаріуса. – Випуск 14, 2014. – С. 258-264.

11. Наркотичні засоби, психотропні речовини та прекурсори: Словник довідник для працівників правоохоронних органів // Г.П. Петюнін, А.М. Полях, В.Ю. Шепітько. – Х.: Право, 2016. – 96 с.

12. О.М. Лисенко, Б.Й. Набиванець. Вступ до хроматографічного аналізу. Навчальний посібник. – Київ, 2005. – 186с.

13. Петюнин Г.П. Использование новых реактивов – проявителей при исследовании некоторых психотропных препаратов методом хроматографии в тонких слоях сорбента / Г.П. Петюнин, А.В. Чубенко, Н.В. Гузенко // Збірник наукових праць «Теорія та практика судової експертизи і криміналістики». 2013. – Вип.13. – С.300-305.

14. Порядок відбору від живих осіб зразків біологічного матеріалу, поводження з ними та організація проведення токсикологічних досліджень з

метою виявлення стану алкогольного, наркотичного чи іншого сп'яніння або перебування під впливом лікарських препаратів, що знижують увагу та швидкість реакцій / Петюнін Г.П., Дмитрієвська Ж.В., Чубенко О.В. // Методичні рекомендації. – К.: УкрЦНМІ. – 2011.

15. Приготування та застосування хромогенних реактивів у судово-токсикологічному дослідженні методом тонкошарової хроматографії / Журавель І.О., Кахановський Ф.М., Чубенко О.В., Савченко М.А. // Методичні рекомендації. Київ – 2019р.

16. Руководство по утверждению методики анализа и калибровке оборудования, предназначенных для исследования запрещенных наркотиков в изъятых материалах и биологических пробах. ОРГАНИЗАЦИЯ ОБЪЕДИНЕННЫХ НАЦИЙ .Нью-Йорк, 2009 год.

17. Хіміко-токсикологічне дослідження нових лікарських засобів – потенційних об'єктів немедичного використання методом хроматографії у тонких шарах сорбенту / О.В. Хіжніченко, Н.В. Гузенко, О.В. Чубенко // Фармацевтичний журнал. – № 6. – 2012. – С.74-77.