

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ
Кафедра медичної хімії, клінічної біохімії, фармації та судово-медичної
токсикології
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ ІМ.
П.Л. ШУПИКА
Кафедра фармацевтичної технології та біофармації



ІЗОЛЮВАННЯ, ВИЯВЛЕННЯ ТА ВИЗНАЧЕННЯ

ПОХІДНИХ БАРБІТУРОВОЇ КИСЛОТИ

Навчально-методичний посібник для самостійної роботи слухачів

Харків – 2021

*Затверджено на засіданні Вченої ради Харківської медичної академії
післядипломної освіти
(протокол № 10 від 28.12.2021 р.)*

Укладачі:

О.В. Чубенко – канд. фарм. наук, доцент;
Н.В. Гузенко – канд. фарм. наук, доцент;
В.В. Альхуссейн – канд. фарм. наук, доцент;
Л.Л. Давтян – д. фарм. наук, професор

Рецензенти:

С.В. Баюрка – професор кафедри аналітичної хімії та аналітичної токсикології Національного фармацевтичного університету, д-р фарм. наук, професор;
О.Ю. Гончарова – доцент кафедри психіатрії та наркології Харківської медичної академії післядипломної освіти, к. мед. наук

Ізолювання, виявлення та визначення похідних барбітурової кислоти: навчально-методичний посібник для самостійної роботи / О. В. Чубенко, Н. В. Гузенко, В. В. Альхуссейн, Л. Л. Давтян. – Харків: ХМАПО, 2021. – 36 с.

Посібник містить навчальний матеріал для самостійної підготовки до занять за темою «Ізолювання, виявлення та визначення похідних барбітурової кислоти (барбамілу, барбіталу, фенобарбіталу, натрію етаміналу, бензоналу та інш.) та ноксирону». Навчальний посібник для самостійної роботи розраховано для судово-медичних експертів-токсикологів, експертів-токсикологів судових, фармацевтів-токсикологів, лікарів лаборантів клініко-діагностичних лабораторій наркологічних та психоневрологічних диспансерів, токсикологічних лабораторій лікарень.

© ХМАПО, 2021

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ.....	4
ВХІДНИЙ КОНТРОЛЬ ЗНАНЬ.....	5
ВСТУП.....	6
1. ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПОХІДНИХ БАРБИТУРОВОЇ КИСЛОТИ	6
2. ФАРМАКОЛОГІЧНА ДІЯ БАРБИТУРАТИВ	10
3. ТОКСИКОКІНЕТИКА ТА БІОТРАНСФОРМАЦІЯ.....	14
4. ПРОБОПІДГОТОВКА ДОСЛІДЖУВАНОВОГО МАТЕРІАЛУ	18
4.1. Виділення барбітуратів із біологічного матеріалу.	18
5. МЕТОДИ ВИЗНАЧЕННЯ БАРБИТУРАТИВ	22
5.1. Хромогенні (кольорові) реакції	23
5.2. Імунохімічні тести	24
5.3. Тонкошарова хроматографія	25
5.4. УФ-спектрофотометрія	26
6. ПІДТВЕРДЖУЮЧІ МЕТОДИ.....	27
6.1. ІЧ-Фур'є-спектрометрія.....	27
6.2. Газова хроматографія та хроматомаспектрометрія	28
6.2.1. Високоєфективна рідинна хроматографія (ВЕРХ)	29
6.2.2. Мас-спектрометрія.....	29
ЗАКЛЮЧНИЙ КОНТРОЛЬ ЗНАНЬ	31
ПРАВИЛЬНІ ВІДПОВІДІ.....	34
ЛІТЕРАТУРА.....	35

ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ

ТШХ – тонкошарова хроматографія

ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія

ГХ – газорідинна хроматографія

МС – мас-спектрометрія

УФ – ультрафіолет

ЦНС – центральна нервова система

ПФІА – поляризаційний флуороімуноаналіз

РРЕ – рідинно-рідинна екстракція

ТФЕ – твердо-фазна екстракція

ВХІДНИЙ КОНТРОЛЬ ЗНАНЬ

1. Наведіть схеми ізолювання наркотичних та сильнодіючих лікарських засобів підкисленою водою. [14]
2. Як проводиться ізолювання барбітуратів підлуженою водою? [14]
3. Як проводиться екстракція речовин кислого характеру з біологічних рідин? [14]
4. У чому суть методу твердофазної екстракції (ТФЕ)? [12, 13]
5. Які сорбенти використовуються у методі ТФЕ? [12, 13]
6. Дайте визначення термінам: «хибнопозитивний результат», «хибнонегативний результат». [8]
7. Охарактеризуйте дію барбітуратів на організм людини. [1, 3]
8. Які симптоми гострого та хронічного отруєння барбітуратами? [1, 3]
9. Які спектральні методи використовуються при виявленні та визначенні барбітуратів? Наведіть приклади. [14]
10. Назвіть методи ізолювання барбітуратів з біологічного матеріалу. [14]

ВСТУП

Назва «барбітурати» узагальнює групу речовин, що мають близьку хімічну будову та надають на ЦНС людини різний вплив від антиконвульсивного, снодійного аж до аналгетичного, та значно підвищують внутрішньочерепний тиск. На сьогоднішній день у світі синтезовано близько 2500 різних речовин цієї групи, більше 60 з них, широко застосовуються в медицині. Однак, у розвинених країнах лише 20 – 25 найменувань барбітуратів, які використовуються лікарями. Найбільш поширеними є комбіновані лікарські засоби: суміші з барбітуратами, наприклад амобарбітал та секобарбітал, або з іншими речовинами, такими як кофеїн, ацетилсаліцилова кислота, ефедрин, теофілін, кодеїн. Крім того, у медицині використовується кілька близьких аналогів барбітуратів, наприклад, ноксирон. У незаконному обігу наркотиків трапляються випадки використання барбітуратів у суміші з героїном, кокаїном, амфетаминами, а також алкоголем.

1. ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПОХІДНИХ БАРБІТУРОВОЇ КИСЛОТИ

Піком зловживання снодійними препаратами, а саме барбітуратами, стали 50-60-ті роки ХХ сторіччя. У останні десятиліття терапевтичне значення барбітуратів поступово знизилося за рахунок появи нових більш ефективних, безпечних, з меншою толерантністю ліків, таких, як бензодіазепіни. Зниженню частоти використання барбітуратів посприяла й велика кількість побічних ефектів при спільному прийомі їх з іншими речовинами, що впливають на ЦНС, наркотиками та алкоголем.

До групи лікарських речовин кислотного характеру, що ізолюються полярними розчинниками, відносяться похідні барбітурової кислоти, саліцилова кислота, ацетилсаліцилова кислота, сульфаніламідні лікарські речовини, каннабіноїди та ін. Широке застосування барбітуратів як заспокійливих та снодійних засобів може бути причиною отруєнь. Барбітурати займають значне місце у судово-токсикологічній експертизі.

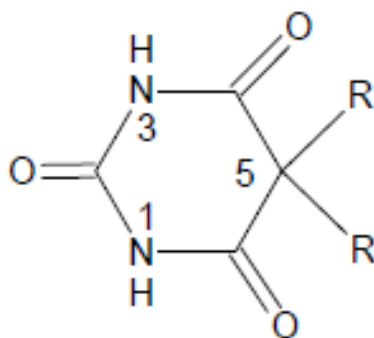
Дослідження на наявність їх є обов'язковим під час аналізу внутрішніх органів трупів людей, блювотних мас, сечі, крові та інших об'єктів. Токсикологічне значення мають 5,5-заміщені барбітурові кислоти (барбітал, амобарбітал натрію, бутобарбітал, фенобарбітал, пентобарбітал натрію та ін), а також 1,5,5-заміщені цієї кислоти (бензобарбітал, гексобарбітал натрію та ін).

Барбітурати є сильними снодійними та седативними засобами. У медицині найчастіше використовуються фенобарбітал і тіопентал. Фенобарбітал має також і протисудомну дію. Гексобарбітал натрію та тіопентал натрію використовуються для наркозу під час проведення нескладних операцій. Барбітурати також можуть використовуватись для евтаназії. Відомі випадки застосування барбітуратів («сироватка правди») закордонними спецслужбами для отримання інформації.

Відповідно до Конвенції ООН про психотропні речовини 1971 р. міжнародному контролю піддається 12 барбітуратів: алобарбітал, амобарбітал, барбітал, бутабарбітал, буталбітал, циклобарбітал, метилфенобарбітал, пентобарбітал, фенобарбітал, секбутасекобарбітал та вінілбітал.

За своєю хімічною будовою барбітурати поділяються на діалкіл-циклічні похідні сечовини (барбітурати) та N-ацилциклічні аміді.

Загальна формула барбітуратів:



Основоположником цієї групи речовин є **барбітурова кислота**, що утворюється при конденсації сечовини та малонової кислоти. При заміні двох атомів водню при вуглеці в положенні «5» різними радикалами виходять численні барбітурати, які називаються 5,5'-дизаміщеними барбітуратами. У

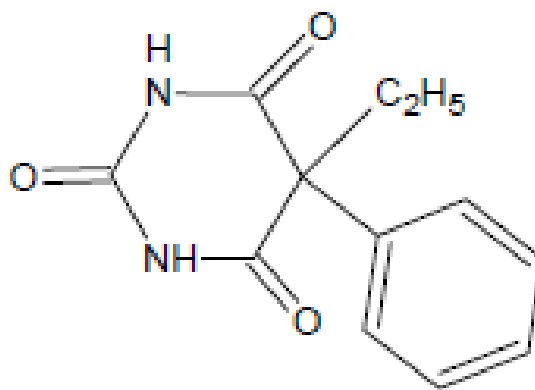
деяких випадках, наприклад, у метилфенобарбіталі, атом водню біля азоту в положенні «1» може бути заміщений алкільною групою.

Тіобарбітурати – це похідні барбітурової кислоти, у яких атом кисню, приєднаний до вуглецю в положенні «2», заміщений сіркою. Всі замісники мають значну фармакологічну дію та впливають на розподіл барбітурату в організмі. Наприклад, значення pK_a барбітуратів, які мають снодійні властивості, розташовуються в межах 7,78 – 8,30, тобто, при фізіологічних значеннях pH (близько 7,4) ці речовини приблизно на 50 % недисоційовані та легко проходять через різні бар'єри та впливають на організм людини.

Похідні барбітурової кислоти використовуються як у вигляді солей, так й у вигляді вільних кислот. Останні розчинні у більшості органічних розчинників, таких як етиловий ефір, етилацетат, хлороформ і метанол, але нерозчинні у воді. У вигляді натрієвих солей похідні барбітуратів добре розчиняються у воді і нерозчинні в органічних розчинниках.

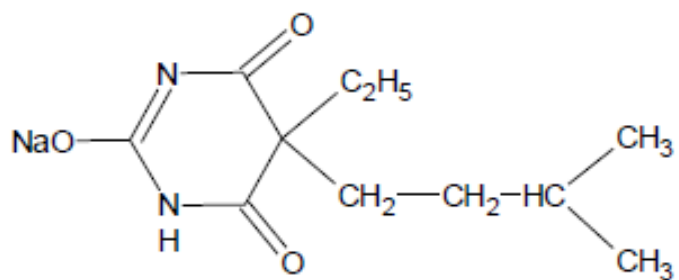
Фенобарбітал (5-етил-5-фенілбарбітурова кислота)

Синоніми: Люмінал.

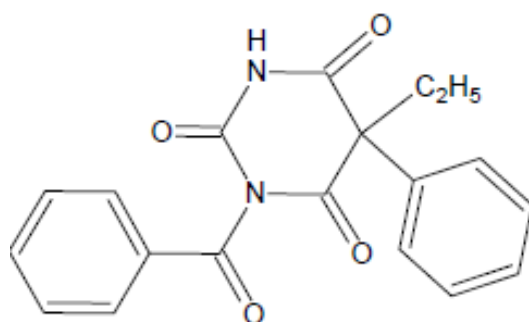


Барбаміл (5-ізоаміл-5-етилбарбітурат натрію)

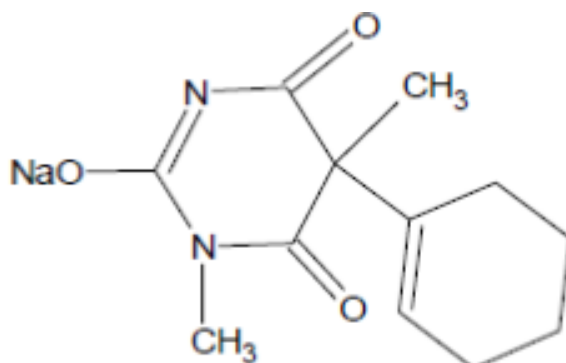
Синоніми: амітал-натрій, амобарбітал-натрій, амілобарбітал-натрій.



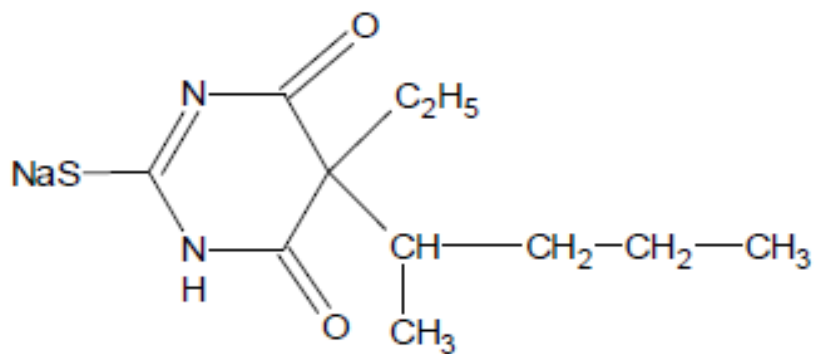
Бензонал (1-бензоїл-5-феніл-барбітурова кислота)



Гексенал (1,5-диметил-5-(циклогексен-1-іл) барбітурат натрію)

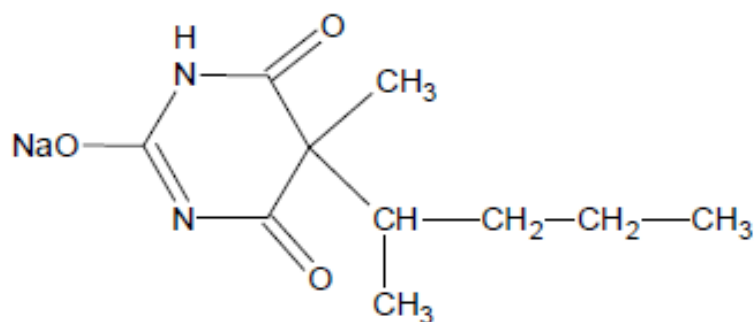


Тіопентал натрію



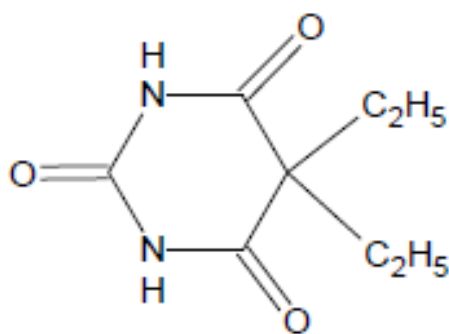
Етамінал натрію (5-Етил-5-(2-аміл)-барбітурат натрію)

Синоніми: Нембутал.

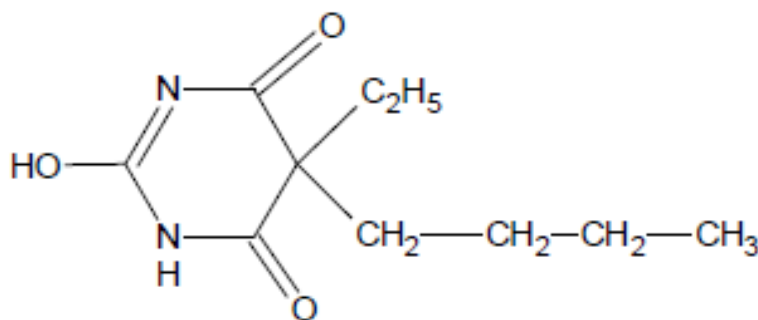


Барбітал (5,5-діетилбарбітурова кислота)

Синоніми: Веронал.



Бутобарбітал (5-бутил-5-етил-барбітурова кислота)



2. ФАРМАКОЛОГІЧНА ДІЯ БАРБІТУРАТИВ

У медичній практиці барбітурати використовуються як снодійні та седативні препарати (фенобарбітал), при лікуванні епілепсії як антиконвульсанти (фенобарбітал), як внутрішньовенні анестезуючі засоби (тіопентал), як антагоніст для придушення побічної дії стимуляторів.

У барбітуратів спостерігаються значні відмінності у фармакокінетиці та шляхах біотрансформації, які пов'язані з ліпофільністю та швидкістю метаболізму конкретної речовини. Ліпофільні барбітурати, наприклад, наркотично активні тіобарбітурати або N-моноалкілбарбітурати типу гексобарбіталу мають дуже коротку тривалість дії.

За тривалістю снодійної дії барбітурати поділяються на:

- барбітурати тривалої дії (веронал, фенобарбітал) – 10 – 16 годин,
- барбітурати середньої тривалості дії (амобарбітал, циклобарбітал) – 6 – 8 годин,
- короткої та ультракороткої дії (тіопентал, гексобарбітал) – 4 – 6 годин.

Після перорального застосування барбітурати швидко всмоктуються (біодоступність становить 90–100%) та розподіляються до органів та тканини. Найбільша концентрація спостерігається у печінці, нирках, селезінці, крові та мозку. Легкість проникнення барбітуратів до органів і тканин пояснюється тим, що при фізіологічних межах pH близько 50 % барбітуратів знаходиться у молекулярній формі. Значення pKa барбітуратів знаходяться в області 7 – 8.

Основні фармакокінетичні параметри деяких барбітуратів представлені у таблиці 1:

Таблиця 1

Основні фармакокінетичні параметри деяких барбітуратів

Речовина	pKa	$T_{1/2}$, годин	Виведення в незмінному вигляді, %
Барбітал	7,8	96	70 – 90
Фенобарбітал	7,3	72 – 75	30
Гексобарбітал	7,6	8 – 17	2 – 6
Амобарбітал натрія	7,9	8 – 40	1
Пентобарбітал натрія	8,0	15 – 48	10

Барбітурати тривалої дії (барбітал, фенобарбітал) екскретуються у значних кількостях (70 – 90%) із сечею у незміненому вигляді. Барбітурати середньої дії (амобарбітал, пентобарбітал) екскретуються переважно у вигляді метаболітів.

У таблиці 2 наведені терапевтичні та летальні концентрації деяких барбітуратів.

У середньому летальні концентрації для барбітуратів короткого дії відповідають 10 – 15 мг/л, середньої тривалості дії – > 30 мг/л і тривалої дії – > 80 мг/л.

Таблиця 2

Терапевтичні та летальні концентрації деяких барбітуратів у плазмі крові

Барбітурати	Терапевтична концентрація, мг/л		Летальна концентрація, мг/л
	мінімальна	максимальна	
Амобарбітал натрія	1	5	13 – 96
Барбітал	10	40	>100
Гексобарбітал натрія	4	10	50
Пентобарбітал натрія	1 – 3	25 – 40	10
Секобарбітал	1	5	10 – 50
Тиопентал натрія	1 – 5	20 – 40	10 – 100
Фенобарбітал	10	20 – 40	100 – 150

Тривале вживання барбітуратів або їх вживання разом з іншими речовинами, що діють на ЦНС, наприклад наркотиками або алкоголем, призводить до індукції ферментів, які відповідають за їх метаболізм. Цим зумовлений розвиток толерантності. Яка розвивається зазвичай у період від кількох тижнів до кількох місяців при постійному прийомі. Важливо відзначити, що толерантність не призводить до підвищення концентрації речовини в крові, проте вона може спричинити токсичні ефекти.

Прийом барбітуратів у великих дозах має наркотичну п'янку дію, подібну до алкогольного. Ознаки її включають ейфорію з емоційною нестійкістю, запальністю, розгальмованістю та агресивністю. До інших ознак відносяться: гіперемія шкірних покривів і склер, гіпотонія, брадикардія, зниження температури тіла, тонкий коричневий, спаяний з епітелієм наліт на язиці, гіпосалівація, пригнічення безумовних вегетативних рефлексів, мідріаз, розлади координації, м'язова слабкість, атактичні розлади (невпевненість ходи, похитування при ходьбі, падіння, неточні, рвучкі, розгонисті та безліч зайвих рухів). Завершується сп'яніння загальною слабкістю та сном.

Барбітурова абстиненція характеризується розвитком важких, небезпечних для життя розладів. Абстинентний синдром розвивається протягом першої доби з моменту останнього прийому снодійного. Загальна тривалість абстиненції до 4-5 тижнів.

Основними ознаками абстиненції є: озноб, підвищення температури тіла та артеріального тиску, тахікардія, недостатність серцево-судинної системи, біль у шлунку, часті позиви до дефекації, рідкий стілець, нудота, можливе багаторазове блювання. Відмітною ознакою, яка не зустрічається при інших видах наркоманії та токсикоманії, це болі у великих суглобах (колінних, ліктьових, плечових), болі в м'язах, сон і апетит порушені, гіпергідроз, сальність шкірних покривів, запаморочення, загальний тремор пальців рук, злісно-тужливий настрій, занепокоєння. Особливо те, що хворі на наркоманію (барбітурову) не знаходять собі місця, постійно змінюють позу, часто розвиваються розлади, тяжкі депресії із суїцидальними тенденціями.

Основні симптоми барбітуроманії:

- відсутність снодійної дії терапевтичних доз, потреба у збільшенні снодійної дози;
- порушення сну (скорочений поверхневий сон) поза прийомом препарату;
- психічний дискомфорт поза прийомом барбітуратів (незадоволеність, знижений настрій, нав'язливі думки, страхи, астения з непереносимістю звуків, шумів, світла);

- потреба в регулярному прийомі; ранковий, денний прийом барбітуратів.

Заходи швидкої допомоги включають промивання шлунка, багаторазовий прийом активованого вугілля та інші підходи для дезактивації гастроінтестинальної системи, внутрішньовенне введення рідини, форсований діурез та алкалізація.

Алкалізація сечі створюється внутрішньовенним краплинним введенням розчину гідрокарбонату натрію до 1,5-2 л на добу під контролем визначення лужної реакції сечі та резервної лужності крові. У тяжких випадках використовують гемодіаліз.

Смерть від передозування відбувається зазвичай унаслідок зупинки дихання.

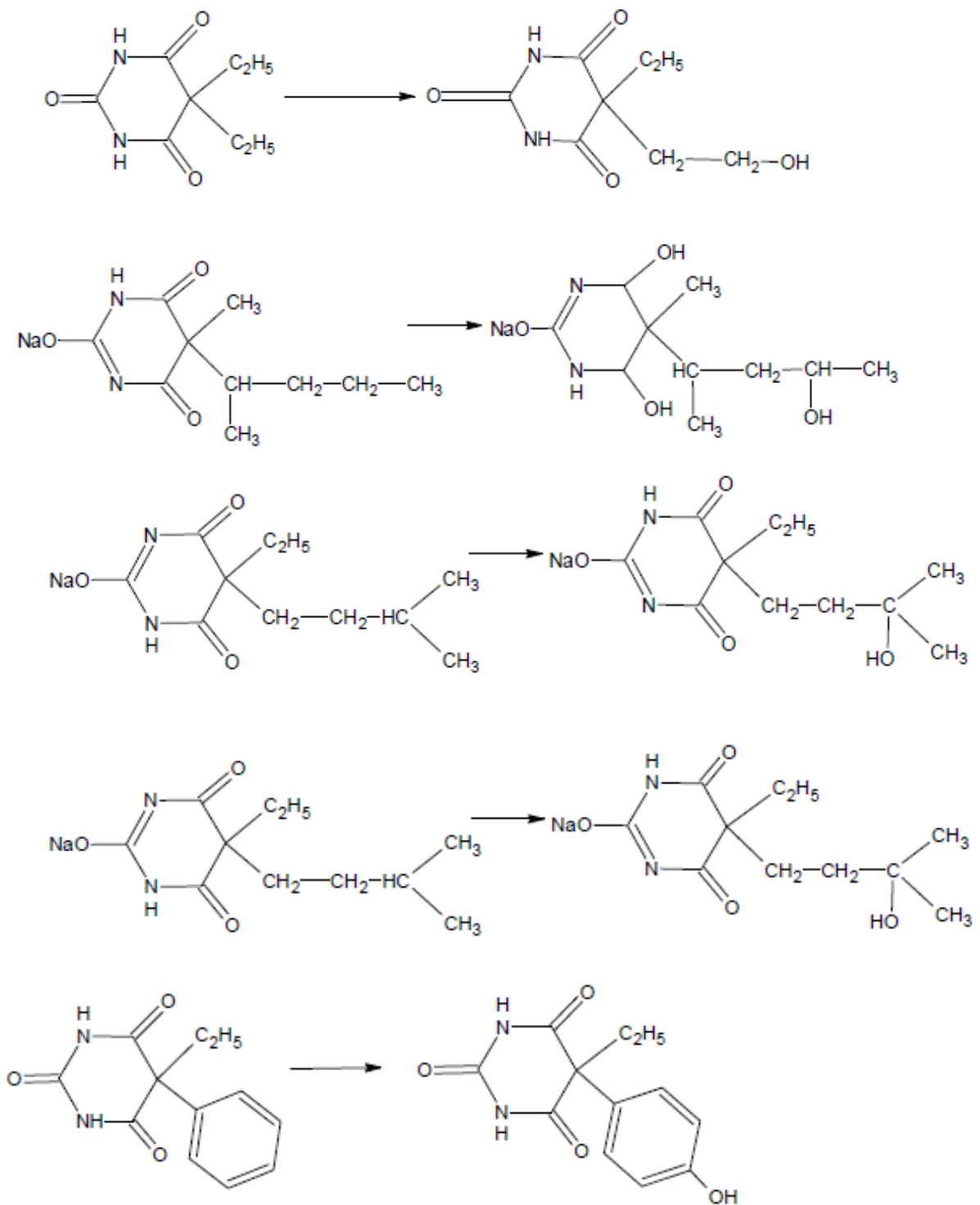
3. ТОКСИКОКІНЕТИКА ТА БІОТРАНСФОРМАЦІЯ

Майже всі барбітурати метаболізуються до неактивних метаболітів, які потім виводяться із сечею. Відомо 4 основні шляхи метаболізму цих речовин:

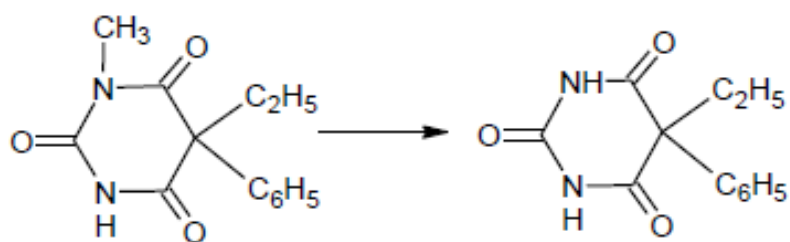
- 1) окислення замісників при C5 атомі вуглецю з утворенням спиртів, фенолів, кетонів і карбонових кислот з подальшим частковим перетворенням їх у глюкуроніди на другій стадії метаболізму;
- 2) деалкілування N-алкільних груп;
- 3) десульфулювання S-групи тіобарбітуратів;
- 4) розкриття барбітурового кільця між N1- і C6-атомами.

Приклади метаболізму:

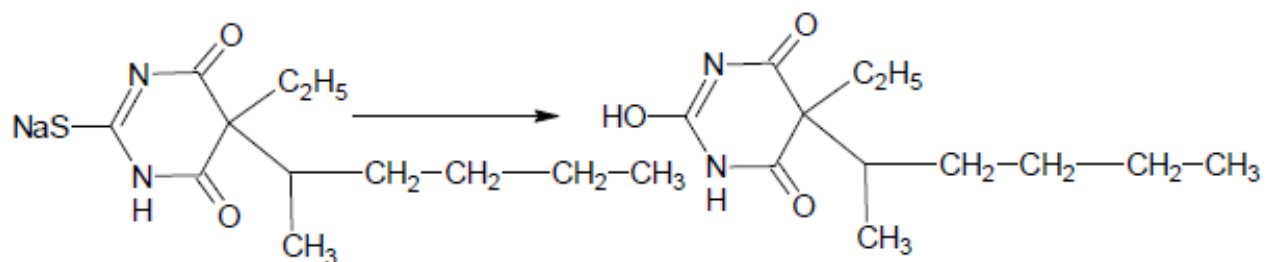
1. Окислення барбітуратів (перша стадія метаболізму):



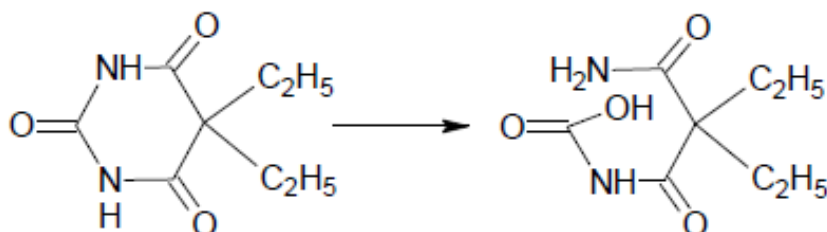
2. Деалкілування N-алкільних похідних (перша стадія метаболізму):



3. Десульфування (перша стадія метаболізму):

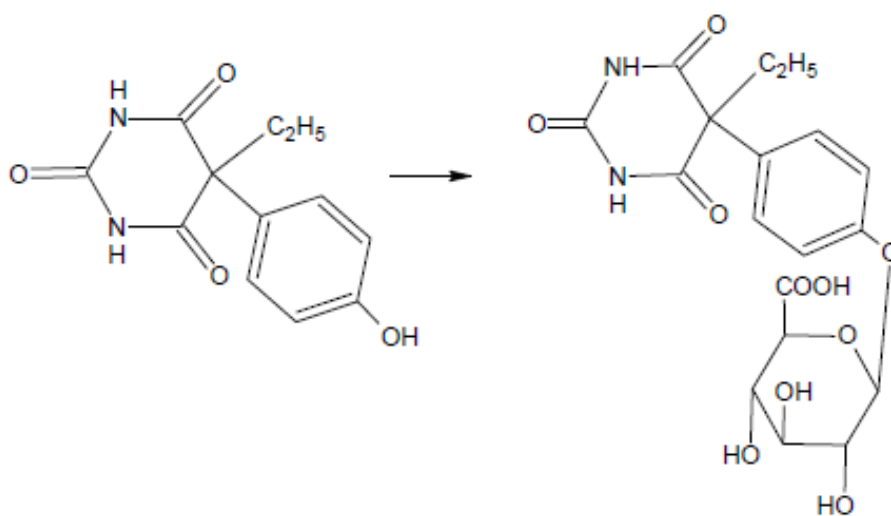


4. Розкриття циклу (перша стадія метаболізму):

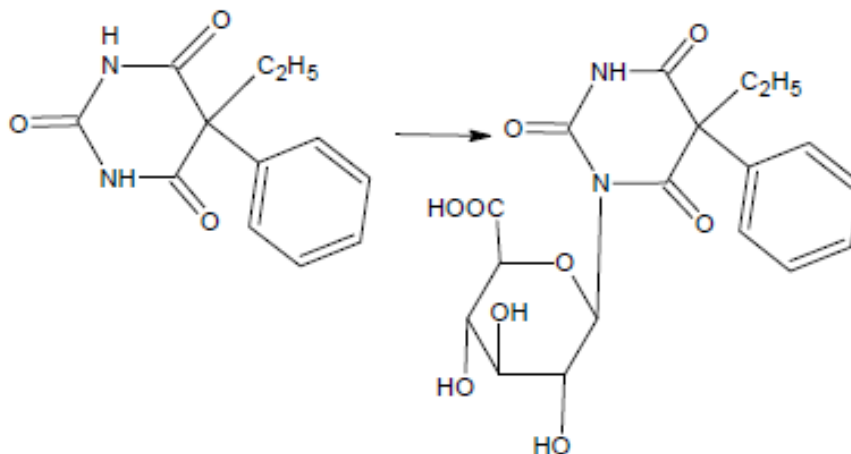


5. Друга стадія метаболізму (реакції синтезу з глюкоуроною кислотою):

O-глюкуроніди



N-глюкуроніди



Час детектування барбітуратів у біологічних рідинах, головним чином сечі, змінюється у значних межах. Це пов'язано залежить від ряду причин: прийнятої дози та тривалості вживання (хронічної або гострої інтоксикації), спільного вживання речовин, що стимулюють або пригнічують метаболічні перетворення (особливостей токсикокінезики), методу виявлення конкретної визначеної речовини, *pH* сечі. Похідні барбітурової кислоти короткої дії, наприклад, пентобарбітал і секобарбітал, можуть бути виявлені в сечі протягом 24 годин, речовини тривалої дії, такі як фенобарбітал, протягом 14 днів і більше. В інших об'єктах період детектування може бути більш тривалим, наприклад, у волоссі барбітурати виявляються після разової терапевтичної дози через 6 місяців і більше. (Табл. 1)

Таблиця 1

Терапевтичні та токсичні концентрації барбітуратів у крові

Речовина	Максимальна терапевтична концентрація, мг/л	Мінімальна токсична концентрація, мг/л
Барбітал	30	20
Буталбітал	10	10
Бутабарбітал	15	14
Фенобарбітал	40	30

4. ПРОБОПІДГОТОВКА ДОСЛІДЖУВАНОВОГО МАТЕРІАЛУ

Виділення барбітуратів з біологічних рідин, таких як сеча і кров, зазвичай проводяться в кілька етапів:

- руйнування кон'югатів аналізованих речовин, якщо це необхідно;
- виділення аналіту та його метаболітів із зразка;
- проведення дериватизації, якщо це потрібно.

При визначенні барбітуратів зазвичай немає потреби у проведенні гідролізу кон'югатів (або кон'югатів їх метаболітів). Цим барбітурати відмінні від багатьох інших токсикантів.

При дослідженні цільної крові або плазми крові необхідним етапом є осадження з них білків, яке зазвичай проводиться або розчинником, наприклад ацетоном або ацетонітрилом, або яким-небудь електролітом. Останнє переважно у зв'язку з можливим ефектом висолювання, що збільшує ступінь екстракції речовини при PPE (рідинно-рідинної екстракції). Виділення барбітуратів з одержаних водних розчинів зазвичай здійснюється за допомогою PPE або ТФЕ (твердо-фазної екстракції). PPE барбітуратів із сечі та плазми крові проводиться із застосуванням різних органічних розчинників при слабокислому значенні pH – дихлорметану, діетилового ефіру, толуолу, етилацетату, гексану та інших розчинників, а також їх суміші. Останнім часом спостерігається тенденція відмовитися від застосування токсичного хлороформу. Екстракти, що отримуються при цьому, досить чисті і не вимагають додаткового очищення. При ТФЕ для барбітуратів найчастіше використовують колонки з обернено-фазовими силікагелями C8 (або C18) або полімерними сорбентами.

4.1. Виділення барбітуратів із біологічного матеріалу.

Методи виділення барбітуратів із секційного матеріалу були розроблені та впроваджені у практику вже багато десятиліть тому. З деякими модифікаціями вони успішно застосовуються досі. Ізолювання барбітуратів з

біологічного матеріалу (органи трупа) проводиться приватними методами (методи Швайкової, Попової та Валова).

1. Ізолювання барбітуратів водою, підкисленою щавлевою кислотою.

Оптимальні умови ізолювання барбітуратів з біологічного матеріалу водою, підкисленою щавлевою кислотою, та спосіб очищення отриманих витяжок розробила М. Д. Швайкова зі співробітниками. Згідно з цим методом, в конічну колбу вносять 100 г ретельно подрібнених органів трупів, додають 200 мл води, підкислюють насиченим водним розчином щавлевої кислоти до $pH=2$ і залишають на 2 години при частому перемішуванні. Потім вміст колби переносять у склянку центрифугування місткістю 500 мл і центрифугують протягом 30 хв (3000 об/хв).

Центрифугат зливають із осаду та проціджують через ватний тампон. Проціджену рідину збирають у ділильну лійку і перевіряють pH цієї рідини. У разі потреби рідину доводять до $pH=2$. Вміст ділильної лійки збовтують з трьома порціями хлороформу (20, 15 та 15 мл) протягом 5 хв. Якщо утворюється емульсія, її руйнують центрифугуванням.

Хлороформні витяжки об'єднують, доводять хлороформом до 50 мл і переносять у ділильну лійку, в яку додають 25 мл 0,1М розчину NaOH, і збовтують. Водну фазу відокремлюють від хлороформної витяжки. Цю витяжку збовтують із двома порціями води по 1,5 мл. Першу та другу порції води (по 1,5 мл), якими промивали хлороформні витяжки, приєднують до лужної водної фази. Потім водну фазу підкислюють HCl до $pH=2$, вносять у ділильну лійку і збовтують з двома новими порціями хлороформу (20 мл) протягом 5 хв. Хлороформні витяжки з'єднують та доводять хлороформом до 50 мл. У цих витяжках визначають наявність та кількісний вміст барбітуратів.

2. Метод виділення барбітуратів із біологічного матеріалу, заснований на ізолюванні цих речовин водою, підкисленою сірчаною кислотою,

розробила В. І. Попова. Відповідно до цього методу, біологічний матеріал наполягають із водою, підкисленою сірчаною кислотою ($pH=2$). Отримані

витяжки звільняють з домішок методом гель-хроматографії. Для цього використовується гель сефадекса G-25.

У склянку вносять 100 г подрібненого біологічного матеріалу, додають 80 мл 0,02 М розчину H_2SO_4 , перемішують та перевіряють pH середовища. При необхідності суміш доводять до $pH=2$ (за універсальним індикатором) 30% розчином H_2SO_4 . Суміш біологічного матеріалу та підкисленої води наполягають протягом 2 годин при частому перемішуванні. Потім витяжку зливають, а біологічний матеріал ще 2 рази наполягають з новими порціями 0,02 М розчину H_2SO_4 (по 80 мл) протягом 1 години. Надосадову рідину (центрифугат) зливають з осаду та очищають від домішок методом гель-хроматографії. Цей метод забезпечує хороше очищення барбітуратів, виділених із біологічного матеріалу. Після очищення витяжок з біологічного матеріалу за допомогою методу хроматографії гель отримують великі обсяги елюатів, в одному мілілітрі яких містяться малі кількості барбітуратів. Тому барбітурати, що знаходяться в елюат, піддають екстракційному концентруванню. З цією метою об'єднані кислі елюати 3 рази збовтують з новими порціями хлороформу (50 мл) протягом 7 хв. Хлороформні витяжки, отримані після кожної екстракції, з'єднують і водянній бані при $70\text{ }^\circ\text{C}$ відганяють з них 120 – 130 мл хлороформу. Упарену хлороформну витяжку, що залишилася, при кімнатній температурі випарюють насухо. Сухі залишки використовують для ідентифікації та кількісного визначення барбітуратів за допомогою відповідних реакцій та методів.

3. Метод ізолювання підлуженою водою застосував П. Валов, удосконалила М. Д. Швайкова. Підлужену воду для ізолювання барбітуратів із біологічного матеріалу вперше застосував П. Валов. Для осадження домішок, що переходять із біологічного матеріалу у витяжки, він використовував вольфрамат натрію. Нині відомо кілька модифікацій методу Валова. Наводимо одну з них, запропоновану М.Д. Швайкової та співавт.

У склянку або конічну колбу вносять 100 г подрібненого біологічного матеріалу, додають 180 мл води та 20 мл 10% розчину гідроксиду натрію. Вміст

склянки (або колби) залишають на 30 хв при частому перемішуванні, а потім центрифугують протягом 30 хв (3000 об/хв). Від осаду відокремлюють надосадову рідину (центрифугат), до якої додають 120 мл 10% розчину натрію вольфрамату і 1 н. сірчаної кислоти ($pH=2,0$). Рідину нагрівають на киплячій водяній бані протягом 20 хв, а потім центрифугування піддають протягом 30 хв. Центрифугат зливають із осаду та проціджують через ватний тампон, змочений водою. Проціджену рідину збирають у ділильну вирву. Тампон промивають водою (10мл). Промивну воду теж виливають у ділильну вирву. До процідженої рідини додають рівний об'єм діетилового ефіру і збовтують протягом 15 хв. Ефірний шар відокремлюють і збовтують із 50 мл 10% розчину гідроксиду натрію. Лужний водний шар відокремлюють, підкислюють 25% розчином сірчаної кислоти до $pH 2,0$ і збовтують з рівним обсягом діетилового ефіру. Отриману при цьому ефірну витяжку використовують для виявлення та кількісного визначення барбітуратів.

4. Виділення барбітуратів зі слини, поту та волосся. Слина, піт та волосся є альтернативними об'єктами дослідження порівняно з традиційними об'єктами – сечею та кров'ю. Дослідження таких об'єктів стало можливим після впровадження у практику сучасних високочутливих методів. Ці об'єкти в порівнянні з кров'ю та сечею відрізняються значно меншою кількістю біоматеріалу, який можна відібрати у конкретної людини. Концентрація визначених речовин у них набагато нижча порівняно з сечею, а інтервал часу, протягом якого можна детектувати барбітурати в слині та поті, дуже короткий.

Дослідження слини застосовується при вивченні токсикокінетики барбітуратів. Піт як об'єкт дослідження має низку переваг при розслідуванні причин отруєння, і навіть тестуванні осіб прийом наркотиків. Волосся – це єдиний об'єкт, що дозволяє проводити дослідження динаміки споживання речовини протягом тривалого часу.

Зразки поту відбираються на марлевий або ватний тампон, змочений спиртом або за допомогою спеціальних пристроїв. Дослідження слини та поту

після екстракції з використаного носія або спеціального пристрою проводиться аналогічно дослідженню плазми крові.

Особливістю дослідження волосся на барбітурати, як і на інші речовини, є необхідність перед виділенням з них аналітів промиванням зовнішньої поверхні. Воно необхідне для видалення потожирових виділень, і навіть залишків речовин, виділених з потом. Таке промивання здійснюють у кілька етапів із застосуванням води та органічних розчинників, наприклад, ацетону, ефіру, дихлорметану, толуолу. Найчастіше промивають волосся гомогенізують у різний спосіб і проводять або ензиматичний із застосуванням глюкуронідази / арилфосфатази, або кислотний гідроліз. Після цього аналіти виділяють із застосуванням РРЕ або ТФЕ. Дослідження об'єктів зазвичай здійснюється імуноними методами, методами ГХ-МС або ВЕРХ-МС.

5. МЕТОДИ ВИЗНАЧЕННЯ БАРБІТУРАТИВ

Для визначення барбітуратів застосовують різні хімічні та інструментальні (фізико-хімічні) методи. Вибір конкретного способу пробопідготовки та методу визначення залежить від цілей та завдань дослідження, зразка, представленого на дослідження, наприклад невідомий порошок або сеча та волосся людини, наявності обладнання та підготовлених співробітників, здатних проводити дослідження та інтерпретувати отримані результати. Як мінімум для встановлення факту присутності барбітуратів у різних об'єктах потрібне отримання результатів 2 – 3 незалежними методами.

До найбільш широко застосовуваних методів для визначення барбітуратів входять хімічні (хромогенні реакції), імунохімічні тести, УФ-ВІД-спектрофотометрія, ІЧ-Фур'є-спектрометрія, ТШХ, ГХ і ВЕРХ, а також гібридні методи: ГХ-МС і ГХ-ІЧ- Фур'є-спектрометрія, ВЕРХ-МС. Донедавна для аналізу барбітуратів широко використовувалися методи мікрокристалоскопії, проте вони застосовуються обмежено.

Хімічний метод ґрунтується на застосуванні характерних кольорових реакцій. Розрізняють загальні та приватні реакції виявлення барбітуратів. До

загальних реакцій на барбітурати відносяться реакції з солями кобальту в присутності гідроксиду літію або ізопропіламіну, з солями міді та піридином, мурексидна проба, виділення кислотної форми барбітуратів.

Характерні (приватні) реакції барбітуратів – це мікрокристалічні реакції, реакції на функціональні групи (наприклад, фенільний радикал у молекулі фенобарбіталу). Реакція утворення *n*-нітрофенілбарбітурової кислоти є специфічною на фенобарбітал. Зважаючи на малу чутливість цієї реакції, її можна використовувати для виявлення фенобарбіталу в таблетках, порошках.

5.1. Хромогенні (кольорові) реакції

Кольорові реакції відомі давно та широко застосовуються при дослідженні барбітуратів. З їхньою допомогою в аналізованому об'єкті виявляють речовини з певною хімічною групою у структурі.

Перевагами кольорових реакцій є дешевизна, відсутність необхідності використовувати дороге обладнання, швидкість отримання результату, проведення багатьох тестів протягом кількох хвилин та можливість проведення одночасно великої кількості тестів.

Недоліками кольорових реакцій при аналізі барбітуратів, як і інших груп речовин, є недостатня селективність, відносно низька чутливість і необхідність застосовувати вкрай отруйні і високоактивні реактиви, такі як солі ртуті або сірчана кислота. Нижче наведені тести використовуються як для скринінгу медичних препаратів або невідомих порошків, так і для тестування екстрактів з біологічного матеріалу. Позитивний результат забезпечується присутністю, хоча і не обов'язковою, в зразку, що тестується, речовини, що має у своїй структурі угруповання, здатну взаємодіяти з використаними реагентами. Результати тестування сильно залежать від індивідуальної здатності розрізняти близькі відтінки кольору та професійну підготовленість фахівця.

Тест Діллі-Копані. Реакція з ацетатом кобальту (II) у середовищі метанолу з додаванням ізопропіламіну. За наявності барбітуратів розвивається

фіолетове забарвлення з різними відтінками. Межа виявлення методу до 25 мкг у пробі.

Тест Ліберману. Реакція із сірчаною кислотою у присутності нітриту натрію. Фенобарбітал дає червоно-помаранчеве забарвлення, проте подібне фарбування дають (жовті або коричневі інтенсивні кольори) речовини, що мають фенольні групи в молекулі.

Тест нітрату ртуті. До насиченого розчину нітрату ртуті (I) додають бікарбонат натрію до закінчення виділення газу та утворення жовтого осаду.

Через деякий час осад змінює колір на світло-коричневий. Використовується лише свіжоприготовлений реактив (трохи більше 1 год). Темно-зелене або чорне фарбування вказує на можливу присутність речовини з імідним угрупованням у кільці. Межа виявлення барбітуратів від 1 до 5 мкг.

5.2. Імунохімічні тести

При дослідженні барбітуратів ІХМ використовують для проведення скринінгу великої кількості зразків, головним чином, біологічного походження. Отримані при цьому результати дозволяють зробити припущення про можливу наявність в об'єкті, що тестується, речовини з групи барбітуратів без проведення внутрішньогрупового диференціювання. Тривалість дослідження зазвичай становить від кількох хвилин до кількох годин.

Наразі вітчизняними та зарубіжними виробниками налагоджено випуск наборів та реактивів для ІФА, методу поляризаційного флуороімуноаналізу (ПФІА), методу інгібування латексної аглютинації, радіоімуних методів (РІА), а також імунохроматографічні набори.

На результати тестування впливає тип використовуваного розчинника, *pH* середовища, інтенсивність випромінювання та температура проведення аналізу. Найважливіше значення має реакційна здатність імунних реактивів, які досить швидко, особливо за недотримання правил їх зберігання, втрачають свою активність. У зв'язку з цим при проведенні тестування конкретного біооб'єкта, наприклад, сечі, важливо дотримуватися докладної інструкції від фірми-

виробника, в якій дано чіткі рекомендації щодо ступеня розведення реактивів і зразка, співвідношення їх обсягів, умов зберігання реактивів та інша інформація.

Помилкові результати можуть бути отримані після надмірного розведення зразка, додавання кислот або лугів, різних поверхнево-активних речовин, окиснювачів (перманганату калію або гіпохлориту натрію) та інших речовин. Імунохімічні тести широко застосовуються при дослідженні біологічних об'єктів на присутність у них барбітуратів, проте одержані позитивні результати завжди вимагають обов'язкового підтвердження іншими методами.

5.3. Тонкошарова хроматографія

ТШХ широко використовується для дослідження барбітуратів та великої кількості речовин інших груп – наркотиків, ліків, пестицидів, метаболітів цих речовин. ТШХ застосовується при проведенні скринінгу. Хроматографування барбітуратів зазвичай здійснюють на пластинах із закріпленими шарами силікагелю з додаванням флюоресцентного індикатора або без нього на скляних, полімерних чи металевих носіях.

На пластину наносять метанольні розчини досліджуваних речовин або екстракти біологічних зразків. Одночасно на ці пластини наносять розчини аналітичних стандартів порівняння. Найкращі результати виходять при використанні розчинів у концентрації близько 5 мг/мл.

Системи розчинників:

- система А: етилацетат – метанол – 25% розчин аміаку (85:10:5);
- система В: хлороформ – ацетон (80:20);
- система С: ізопропанол – хлороформ – 25% розчин аміаку (90:90:20).

Пластини проглядають в УФ-світлі при 254 і 366 нм і відзначають наявність хроматографічних зон. Далі пластини обробляють реактивом хлориду ртуті з дифенілкарбазоном. Барбітурати проявляються в умовах у вигляді

синьо-фіолетових плям на рожевому тлі. Межа виявлення становить від 1 до 5 мкг барбітурату у плямі.

Іншими реагентами, що виявляють, можуть бути:

- 1) 1% розчин ацетату срібла з подальшою обробкою розчином дифенілкарбазону;
- 2) витримування пластин в атмосфері газоподібного хлору після обробки їх 2,7-дихлорфлюоресцином;
- 3) реактив Драгендорфа за Мун'є.

5.4. УФ-спектрофотометрія

Даний метод використовується для ідентифікації та кількісного визначення барбітуратів, у тому числі виділених з біологічних об'єктів. У розчинах барбітурати, залежно від pH середовища, змінюють характер поглинання УФ-світла. У кислому середовищі та органічних розчинниках поглинання барбітуратів незначне. Однак при зміні pH в їх спектрах з'являються інтенсивні смуги поглинання внаслідок лактим лактамної таутомерії переходу лактамної форми барбітурату в лактимну при $pH=9,0$ (N1 – C2) і при $pH=13,0$ (N1 – C2 і N3 – C4). Усі 5,5 діацилзаміщені барбітурати у зазначених умовах мають максимум поглинання при $pH=9,0$ близько 240 нм, при зміні pH до 13,0 інтенсивність їх поглинання знижується. При цьому відбувається зсув більш довгохвильову область до 255 нм.

На Рис. 1 показано спектри поглинання фенобарбіталу залежно від pH середовища. У N-заміщених барбітуратів, наприклад, метилфенобарбіталу, може бути тільки одна лактимна форма і на УФ-спектрі, проявляється лише один максимум поглинання при 243 – 244 нм при pH 9,0. Підвищення pH до 13,0 зміни спектра не призводить. Тіобарбітурати мають високу здатність до поглинання УФ-світла. Максимум поглинання в сильнолужному середовищі становить 303 – 304 нм.

УФ-спектрофотометрію використовують для кількісного визначення барбітуратів у сечі та крові при отруєннях.

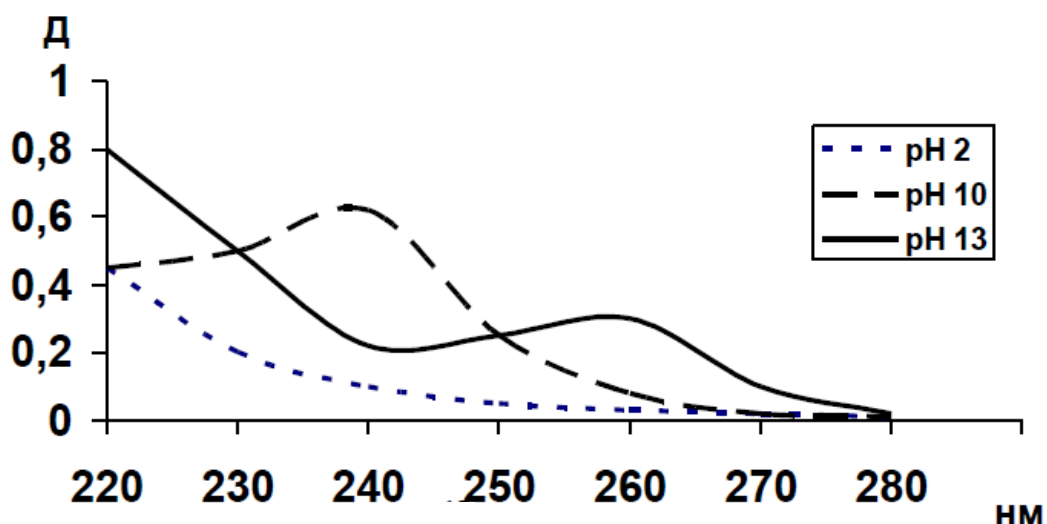


Рисунок 1. Спектри поглинання фенобарбіталу залежно від *pH* середовища

Окислені в аліфатичній частині метаболіти барбітуратів мають дуже близькі спектри до вихідних барбітуратів, тому результат визначення – це сумарна концентрація вихідної речовини та її основних метаболітів.

Продукти реакції барбітуратів з дифенілкарбазоном та солями ртуті поглинають УФ світло при 550 нм. Це поглинання при концентраціях барбітуратів у плазмі в діапазоні від терапевтичних до токсичних відповідає закону Бугера – Ламберта – Бера, що дозволяє використовувати реакцію для визначення цих речовин фотоколориметричним способом.

6. ПІДТВЕРДЖУЮЧІ МЕТОДИ

6.1. ІЧ-Фур'є-спектрометрія

ІЧ-Фур'є-спектрометрія застосовують для ідентифікації індивідуальних барбітуратів. Метод неструктивний і досить просто комбінується з іншими методами, наприклад з ТШХ, має досить високу чутливість: сучасні ІЧ-Фур'є-спектрометри здатні знімати спектри зразків речовини масою до 10 мкг, а при використанні спеціальних пристосувань набагато нижче.

Основні характеристичні частоти ІЧ-спектрів барбітуратів (см^{-1}):

–NH–(деформаційні коливання) – 1680-1693;

- C = 0 (валентні коливання) – 1712-1725;
- CONH–(валентні коливання) – 1744-1770;
- =C–N–(валентні коливання) – 1300-1320;
- C = 0 (деформаційні коливання) – 1210-1245;
- = C–H (деформаційні коливання) – 830-875.

Додатково тіогрупа може бути ідентифікована по 2 смугах поглинання – 1170 і 1540 cm^{-1} , фенільні замісники в положенні 5 мають смуги 1490 cm^{-1} і між 690 і 715 cm^{-1} , алільні радикали – по смугах 1000 і 15 cm^{-1} , N-метильні радикали – по 2 смугах близько 1190 cm^{-1} . В області «відбитків пальців» всі барбітурати можуть бути ідентифіковані.

6.2. Газова хроматографія та хроматомаспектрометрія

Метод газової хроматографії широко використовується для дослідження барбітуратів, у тому числі виділених з біологічних об'єктів. Сучасні кварцові капілярні газохроматографічні колонки з нанесеними на стінки неполярними силіконовими фазами досить інертні і дозволяють проводити дослідження слідових кількостей барбітуратів без дериватизації.

Однак у деяких випадках, наприклад при проведенні підтверджуючого дослідження методом хроматомаспектрометрії або при дослідженні метаболітів барбітуратів дериватизація може бути корисна. З цією метою використовують метилуючі реактиви, такі, як діазометан, гідроксиди тетраметиламонію або триметилфеніламонію. Внаслідок їх дії атоми водню у азоту в молекулі барбітурату змінюються на метильну групу.

При дослідженні метаболітів барбітуратів застосовують різні ацилюючі реактиви, наприклад, ангідриди оцтової або трифтороцтової кислоти, або численні силілюючі реактиви. Детектування зазвичай здійснюється із застосуванням ПД, азотно-фосфорного детектора (АФД) або МС-детектора в режимі іонізації електронним ударом при 70 еВ або ІЧ-Фур'є-детектора.

6.2.1. Високоєфективна рідинна хроматографія (ВЕРХ)

Використання ВЕРХ для дослідження барбітуратів як у лікарських формах, так і виділених із біологічних об'єктів. Для цього найчастіше застосовують звернено-фазові колонки із сорбентами С8 або С18. В якості рухомої фази, що використовується в ізократичному або градієнтному режимі, служать суміші ацетонітрилу або суміші метанолу з водним буфером або суміші розчинників, наприклад, ацетонітрилу, ізопропанолу та гексану, з фосфатним або ацетатним буфером. Найкращим вибором для детектування барбітуратів можна вважати УФ-детектор або діодну матрицю. Останнім часом широкого поширення набули комбіновані методи рідинної хроматографії та мас-спектрометрії.

6.2.2. Мас-спектрометрія

При аналізі біологічного матеріалу метод мас-спектрометрії зазвичай поєднують з методами газової та високоєфективної рідинної хроматографії (ГХ/МС та ВЕРХ/МС), що дозволяє максимально використовувати можливості обох методів. У незміненому вигляді барбітурати мають мас-спектри, що досить складно піддаються ідентифікації. У зв'язку з цим донедавна з цією метою використовували метильні або диметильні похідні барбітуратів.

Таблиця 2

Мас-спектри деяких барбітуратів

Речовина	Молекулярна маса іонів (Д) та відносна інтенсивність
1	2
Алобарбітал	167 (100), 124 (97), 80 (68), 193 (23), 208 (2)
Амобарбітал	156 (100), 141 (73), 197 (9), 198 (6), 211 (2)
Барбітал	156 (100), 141 (97), 98 (22), 112 (20), 83 (12)
Буталбітал	168 (100), 167 (88), 181 (30), 141 (24), 209 (3)
1	2
Бутобарбітал	141 (100), 156 (96), 98 (19), 184 (10), 197 (2)

Вінілбітал	157 (100), 83 (29), 71 (15), 209 (1), 195 (1)
Метилфенобарбітал	218 (100), 117 (39), 146 (23), 246 (10)
Пентобарбітал	156 (100), 141 (84), 69 (12), 98 (10), 197 (4)
Секбутабітал	141 (100), 156 (87), 57 (27), 98 (13), 157 (12)
Секобарбітал	168 (100), 167 (80), 195 (25), 141 (11), 209 (4)
Фенобарбітал	204 (100), 117 (29), 232 (23), 161 (20)
Циклобарбітал	207 (100), 141 (33), 236 (3), 81
<i>Примітка. У дужках – відносна інтенсивність, %.</i>	

ЗАКЛЮЧНИЙ КОНТРОЛЬ ЗНАНЬ

1. *Найменше число хибно-негативних результатів при проведенні імунохімічних тестів при аналізі барбітуратів дають:*

- 1) волосся;
- 2) нігті;
- 3) сеча;
- 4) слина.

2. *Барбітал відрізняється високим ступенем біотрансформації в організмі:*

- 1) так;
- 2) ні.

3. *Основним способом виведення барбітуратів з організму є:*

- 1) з повітрям, що видихається;
- 2) із сечею;
- 3) з жовчю;
- 4) з потом.

4. *Вкажіть, як залежить характер спектрофотометричної кривої при зміні рН аналізованого розчину з 9 до 13:*

- 1) відбувається зміщення максимуму поглинання в більш короткохвильову область спектру;
- 2) відбувається зміщення максимуму поглинання в більш довгохвильову область спектру;
- 3) характер спектрофотометричної кривої практично не змінюється від зміни рН розчину.

5. При отруєнні барбітуратами можна прискорити виведення барбітуратів і продуктів їх метаболізму з організму змінив рН сечі:

- 1) у кислу сторону;
- 2) у лужний бік.

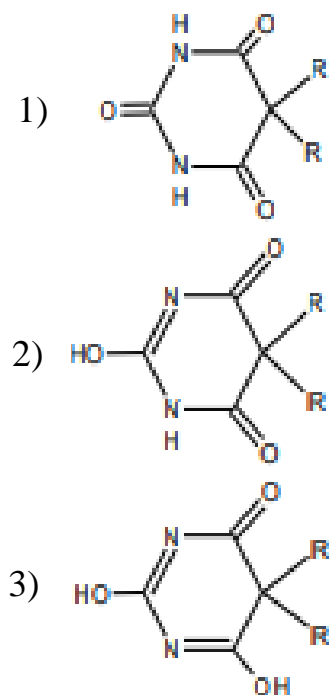
6. Для кількісного визначення барбітуратів у біологічному матеріалі використовується УФ-спектрофотометрія:

- 1) пряма;
- 2) диференціальна.

7. Барбітурати мають значення рКа в інтервалі:

- 1) 1-3
- 2) 3-5
- 3) 5-7
- 4) 7-9

8. При значенні рН розчину в інтервалі 9 – 10 барбітурати будуть знаходитися у формі:



9. Для барбітуратів характерна:

- 1) кето-єнольна таутомерія;
- 2) лактим-лактамна таутомерія;
- 3) імідо-імідольна таутомерія.

10. При значенні рН водного розчину рівного двом барбітурати будуть знаходитися в іонізованому стані:

- 1) так;
- 2) ні.

11. При пероральному прийомі максимальне всмоктування барбіамілу відбувається:

- 1) у порожнині рота;
- 2) у шлунку;
- 3) у тонкому кишечнику;
- 4) у товстому кишечнику.

12. Груповим реактивом на барбітурати є:

- 1) хлорид заліза (III);
- 2) ацетат кобальту;
- 3) конц. сірчана кислота;
- 4) ацетат свинцю.

13. Найбільш поширеним біологічним об'єктом виявлення в ньому наркотичних засобів є:

- 1) кров;
- 2) сеча;
- 3) слина;
- 4) волосся.

14. Виберіть значення рН при твердофазній екстракції для сорбції барбамілу:

- 1) рН 10,0;
- 2) рН 2,0;
- 3) рН 7,4.

15. Які методи ізолювання з біологічного матеріалу використовуються при проведенні судово-токсикологічної експертизи на барбітурати:

- 1) метод М.Д. Швайкової;
- 2) метод В.І. Попової;
- 3) метод П. Валова;
- 4) усе перелічене вірно.

ПРАВИЛЬНІ ВІДПОВІДІ

1 – 1	6 – 2	11 – 2
2 – 2	7 – 4	12 – 2
3 – 2	8 – 2	13 – 1, 2
4 – 2	9 – 2	14 – 2
5 – 2	10 – 2	15 – 4

ЛІТЕРАТУРА

1. Biliński P., P. Hołownia, L. Kapka-Skrzypczak, and A. Wojtyła, Designer Drug (DD) abuse in Poland; a review of the psychoactive and toxic properties of substances found from seizures of illegal drug products and the legal consequences thereof. Part 1—cannabinoids and cathinones. *Ann Agric Environ Med*, 2018. 19(4): p. 857-70.
2. *Clarce's isolation and identification of drugs.* – London : Pharmaceut. Press, The Pharmaceutical Society of Great Britain. – 2011. – Ed. 4. – 2476 P.
3. *Drugs and Poison in Humans. A Handbook of Practical Analysis.* Osamu Suzuki, Kanako Watanabe. // Springer. – 2018. P. 672.
4. *Thin-Layer Chromatographic Rf Values of Toxicologically Relevent Substances on Standardized Systems. Report VII of the DFG Commission for Clinical-Toxicological Analysis, Spesial Issue of the TIAFT Bulletin.* – VCH, 1987.
5. Алгоритм криміналістичного та судово-токсикологічного направленного дослідження на кетамін / Гузенко Н.В., Чубенко О.В., Альхуссейн В.В. // *International scientific innovations in human life.* – Proceedigs of V International and Practical Conference Manchester. United Kingdom 17-19.11.2021. – P. 155-163.
6. Баярка С. В., Карпушина С. А. ТОКСИКОЛОГІЧНИЙ СКРИНІНГ МОНОЦИКЛІЧНИХ АНТИДЕПРЕСАНТІВ ВЕНЛАФАКСИНУ ТА МІЛНАЦИПРАНУ МЕТОДОМ ТШХ / The III th International scientific and practical conference «Theory, science and practice» (October 05-08, 2020). Tokyo, Japan 2020. – P. 313-315.
7. Бюллетень по наркотическим средствам. Альтернативное развитие: применение на практике и анализ // УПРАВЛЕНИЕ ОРГАНИЗАЦИИ ОБЪЕДИНЕННЫХ НАЦИЙ ПО НАРКОТИКАМ И ПРЕСТУПНОСТИ, ООН, т. LXI, 2017.
8. В.Ю. Буряк, Ю.І. Геваза, О.П. Замошець. *Експертиза наркотичних речовин. Навчальний посібник.* – Київ, 2005.

9. Використання методу хроматографії в тонкому шарі сорбенту в судово – токсикологічних дослідженнях. / І.О. Журавель, О.В. Чубенко, Н.В. Гузенко, В.В. Альхуссейн. – Харків, 2017 – 35с.
10. Виявлення гідазепаму та його метаболітів в трупному біологічному матеріалі та біологічних рідинах живих осіб методом хроматографії в тонкому шарі сорбенту. Методичні рекомендації. / Г. П. Петюнін, І. О. Журавель, О. В. Чубенко, М. А. Савченко. – Київ. – 2016. – 16 с. (37.16/188.16.)
11. Виявлення лікарських, наркотичних речовин та психотропних препаратів методом хроматографії в тонкому шарі сорбенту після гідролізу біологічного матеріалу. Методичні рекомендації. / І. О. Журавель, О. В. Чубенко, Ф. М. Кахановський, М. А. Савченко. – Київ. – 2019. – 32 с.
12. Г.В. Раменская, Г.М. Родионова, Н.И. Кузнецова, А.Е. Петухов. ТСХ – скрининг токсикологически значимых соединений, изолируемых экстракцией и сорбцией. Учебное пособие. – Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа», 2010; 240 с.
13. Жебентяев А.И. Токсикологическая химия (в 2 частях). Ч.2: учебное пособие / А.И.Жебентяев. – Витебск: ВГМУ, 2015. – 415с.
14. Илларионова Е.А., Сыроватский И.П. Химико-токсикологический анализ психотропных лекарственных препаратов: учебное пособие / Е.А. Илларионова, И.П. Сыроватский; ФГБОУ ВО ИГМУ, кафедра фармацевтической и токсикологической химии. – Ир. : ИГМУ, 2021. – 81 с.
15. 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
16. О.М. Лисенко, Б. Й. Набиванець. Вступ до хроматографічного аналізу. Навчальний посібник. – Київ, 2005.
17. Патент України №107780 від 24.06.2016. Спосіб виявлення деяких похідних тетрациклічних антидепресантів в біологічному матеріалі. Петюнін Г.П., Баярка С.В., Карпушина С.А., Чубенко О.В. Бюл № 12.

18. Приготування та застосування хромогенних реактивів у судово-токсикологічному дослідженні методом тонкошарової хроматографії. Методичні рекомендації / І. О. Журавель, О. В. Чубенко, Ф. М. Кахановський, М. А. Савченко. – Київ, 2019. – 36 с.

19. Фридрих Гейсс. Основы тонкослойной хроматографии. – 1999. – Т. № I, II.

Навчальне видання

О.В. Чубенко, Н.В. Гузенко, В.В. Альхуссейн, Л.Л. Давтян

**ІЗОЛЮВАННЯ, ВИЯВЛЕННЯ ТА ВИЗНАЧЕННЯ ПОХІДНИХ
БАРБИТУРОВОЇ КИСЛОТИ**

(навчально-методичний посібник для самостійної роботи)

Підписано до друку 29.12.2021 р. Формат 60x84/16.

Папір офсетний. Гарнітура Times ET. Друк ризографічний.

Умов.-друк. Арк.2. Наклад 300 прим. Замов. № 1542/2-21

Надруковано з готового оригінал-макета у друкарні ФОП В. В. Петров
Єдиний державний реєстр юридичних осіб та фізичних осіб-підприємців.

Запис № 2480000000106167 від 08.01.2009 р.

61144, м. Харків, вул. Гв. Широнінців, 79в, к. 137, тел. (057) 78-17-137

e-mail: bookfabric@mail.ua