الطرائق الموصى بها للكشف عن الهيروين والقنب والكوكايين والأمفيتامين والميثامفيتامين ومشتقات الأمفيتامين ذات الحلقة البديلة

وتحليلها في العينات البيولوجية

دليل أعد لتستخدمه
المختبرات الوطنية

الأمم المتحدة

برنامج الأمم المتحدة
للمراقبة الدولية للمخدرات
فيينا

الطرائق الموصى بها للكشف عن

الهيروين والقنب والكوكايين والأمفيتامين والميثامفيتامين ومشتقات الأمفيتامين ذات الحلقة البديلة وتحليلها في العينات البيولوجية

دليل أعد لتستخدمه المختبرات الوطنية

الأمم المتحدة
نيويورك، ٢٠٠٠

أعد هذا الدليل بالاستناد إلى مداولات فريق الخبراء المعني بكشف وتحليل المخدرات الخاضعة للمراقبة في العينات البيولوجية، المنعقد في سنغافورة من ٢٥ إلى ٢٩ أيلول/سبتمبر ١٩٨٩، وفي مدريد من ١ إلى ٥ تشرين الأول/أكتوبر ١٩٩٠. والآراء المعروضة فيه لا تعكس بالضرورة آراء الأمم المتحدة. ولم يجر تحرير رسمي لهذا الدليل.

ST/NAR/27

الفصل | الصفحة

مقدمة ١

أولا – الجوانب العامة لتحليل العقاقير الخاضعة للمراقبة الموجودة في العينات البيولوجية ٥

ألف – الغرض والاستراتيجية ٥
باء – مبادئ توجيهية عامة لتقديم العينات لغرض الكشف عن وجود العقاقير..... ٥
جيم – جمع العينات: الإجراء المفصل ٦
دال – سرية النتائج ٩
هاء – سلامة العاملين في المختبر..... ٩
واو – موجز احتياطات السلامة ٩
زاي – المنهجية..... ٩
حاء – ضمان الجودة..... ١٤
طاء – تفسير النتائج..... ١٤

ثانيا – الطرائق الموصى بها للكشف عن الهيروين (المورفين) وتحليله في العينات البيولوجية ١٥

ألف – الأنواع الشائعة من منتجات الأفيون والمورفين والهيروين غير المشروعة ١٥
باء – إجراءات أخذ العينات وتحضيرها لتحليل أيضات الهيروين ٢١
جيم – طرائق الفحص الأولي..... ٢٤
دال – طرائق التثبت الكروماتوغرافية ٢٦
هاء – تحليل المورفين أحادي الاسيتل بكروماتوغرافيا الغاز/القياس الطيفي الكتلي كدليل على تعاطي الهيروين..... ٣١
واو – تفسير النتائج..... ٣٢

ثالثا – الطرائق الموصى بها للكشف عن منتجات القنب وتحليلها في العينات البيولوجية ٣٣

ألف – إنتاج منتجات القنب غير المشروعة ٣٣
باء – وصف منتجات القنب غير المشروعة ٣٧
جيم – أخذ العينات وإجراءات تحضيرها لتحليل ٩– كربوكسي– THC ٤٣
دال – طرائق الفحص الأولي..... ٤٥
هاء – طرائق التثبت الكروماتوغرافية ٤٨
واو – تفسير النتائج..... ٥١

رابعا – الطرائق الموصى بها للكشف عن الكوكايين وتحليله في العينات البيولوجية ٥٢

ألف – الأنواع الشائعة من منتجات الكوكايين غير المشروعة ٥٢
باء – إجراءات أخذ العينة وتحضيرها لتحليل الكوكايين وأيضاته..... ٥٤
جيم – طرائق الفحص الأولي..... ٥٨
دال – طرائق التثبت الكروماتوغرافية ٦١
هاء – تفسير النتائج..... ٦٤
واو – تحليل المواد البيولوجية الأخرى وتفسير النتائج ٦٥

خامسا – الطرائق الموصى بها للكشف عن الأمفيتامين والميثامفيتامين في العينات البيولوجية ٦٦

ألف – مقدمة ٦٦

الفصل *الصفحة*

باء – أخذ العينات وتحضيرها لتحليل الأمفيتامين والميثامفيتامين وأيضاتهما ٦٧
جيم – طرائق الفحص الأولي ٧٠
دال – طرائق التثبت الكروماتوغرافية ٧٤
هاء – تفسير النتائج ٧٧

سادسا – الطرائق الموصى بها لكشف مشتقات الأمفيتامين ذات الحلقة البديلة وتحليلها في العينات البيولوجية ٧٩

ألف – مقدمة ٧٩
باء – إجراءات أخذ العينات وتحضيرها لتحليل مشتقات الأمفيتامين ذات الحلقة البديلة. ٨١
جيم – طرائق التحليل الأولي ٨٢
دال – طرائق التثبت الكروماتوغرافية ٨٥
هاء – تفسير النتائج ٨٩

المراجع ٩٠

مقدمة

ألف - معلومات خلفية

شهد العقد الأخير زيادة كبرى في إنتاج العقاقير غير المشروعة وعرضها، والتي اتضحت من الكميات العظمى والمتزايدة من المخدرات التي تصادرها السلطات الوطنية والدولية. ولكن هذه الزيادة لم تقتصر على ذلك، وإنما شملت أيضا معدل إساءة استعمال العقاقير، أي الطلب غير المشروع عليها. كما لا تقتصر العقاقير المصادرة على العقاقير التقليدية الخاضعة فعلا للمراقبة الوطنية والدولية، ولكنها تشمل أيضا عقاقير جديدة غير مشروعة وغير متوقعة، أو أمزجة من عقاقير يحضرها كيميائيون يعملون في مختبرات غير مشروعة. وتم في الوقت نفسه الإبلاغ عن توسع إساءة استعمال/تعاطي العقاقير المستخدمة في أغراض طبية مثل الباربتيورات والبنزوديازبينات.

وهذه المشكلة، التي كانت تقليديا مشكلة البلدان المتقدمة، لم تعد تنحصر في تلك البلدان. فتعاطي المخدرات أصبح الآن مشكلة عالمية تعاني منها البلدان المتقدمة والنامية على السواء، ولم تعد هناك الآن دولة غير مهددة بهذه المخاطر.

وقد فرض نطاق إساءة الاستعمال وتنوعها طلبات متزايدة على الدول من أجل تكثيف جهودها التنظيمية، التي تضمنت أحيانا سنّ تشريعات صارمة يمكن أن تكون عواقبها وخيمة على الأفراد المتهمين بجرائم المخدرات. والنتيجة النهائية لهذه الإجراءات التشريعية تتوقف في آخر المطاف على نتائج الفحوص المختبرية. وأدى ذلك إلى ضغط أكبر على المختبرات الوطنية التي لم تعد ملزمة بتحديد المواد المصادرة فحسب، وإنما بالكشف عن تعاطي المخدرات أيضا. فضلا عن أن المختبرات التي لم تلزم في الماضي سوى بإجراء التحليلات النوعية، أصبح مطلوبا منها اليوم التوصل إلى نتائج نوعية وكمية موثوقة أيضا.

وفي مجال تعاطي المخدرات، يتوجب على المختبرات الآن أن تتمكن من معالجة عدد أكبر من المواد واتباع طرائق أسرع للكشف والتحليل، وهي في الوقت نفسه طرائق أكثر دقة وخصوصية. ويفرض تحليل العينات البيولوجية مثل البول والدم تحديات إضافية بالنظر لضرورة فصل المواد المستهدفة من التداخلات في الدم والبول، وهما مادتان بيولوجيتان معقدتان.

بالإضافة إلى ذلك، فإن الطبيعة الدولية لمشكلة تعاطي المخدرات تستلزم تبادلا سريعا للبيانات التحليلية فيما بين المختبرات، وكذلك بين المختبرات وهيئات إنفاذ القانون على المستويين الوطني والدولي. وسيسهم وضع طرائق مقبولة دوليا للكشف والتحليل إسهاما كبيرا في تحقيق هذه الأهداف.

وأثناء العمل على وضع الطرائق الموصى بها لاختبار مواد القنب والأمفيتامين/الميثامفيتامين المصادرة، أقر الفريق العامل في اجتماعه في كوالالمبور عام ١٩٨٦ بالمسألة المتزايدة الأهمية المتعلقة بوضع طرائق تستهدف تحليل العقاقير التي يساء استعمالها وأيضاتها في سوائل الجسم. وأوصى الفريق العامل بأن تدرس الأمم المتحدة أنسب الوسائل لمعالجة هذه المشكلة [١].

وقد أقرت لجنة المخدرات هذا الاقتراح في دورتها الثانية والثلاثين في شباط/فبراير ١٩٨٧، حيث شجعت مختبر الأمم المتحدة على توسيع المساعدة التي يقدمها للدول الأعضاء، وذلك عن طريق وضع وإتاحة مبادئ توجيهية عن طرائق تحليل العقاقير الخاضعة للمراقبة في سوائل الجسم.

واستجابة لذلك الاقتراح، عقدت شعبة المخدرات اجتماعا لفريق من الخبراء في سنة ١٩٨٧ لوضع مبادئ توجيهية لبرامج الاختبارات والمختبرات الوطنية التي تجري اختبارات تحليلية لتعيين وجود عقاقير يساء استعمالها في سوائل الجسم. وفي تقييمه للاحتياجات العالمية في هذا المجال الخاص، أشار الفريق إلى أن قائمة العقاقير التي يتعين اختبارها ينبغي أن تتضمن على الأقل الأفيونيات (الهيروين والمورفين والكودايين)، والقنبيات، والكوكايين، والميثادون، والميثاكوالون، والأمفيتامين، والميثامفيتامين، والفنسيكليدين، وأوصى الفريق بنشر أدلة عملية للمتابعة في هذا الموضوع للاستفادة منها كمبادئ توجيهية للمختبرات ولإعداد البرامج؛ وبتأليف فريق خبراء استعراضي لإجراء استعراضات دورية لمنهجية وإجراءات اختبار العقاقير [٢].

وأقرت لجنة المخدرات في دورتها الاستثنائية العاشرة توصيات الفريق وشددت بصفة خاصة على "تطوير الطرائق الموصى بها للاختبارات المختبرية ووضع معايير دولية موحدة للبرامج الوطنية لاختبار سوائل الجسم، بما في ذلك اختبارات الكفاءة ووسائل/إجراءات التحقق" [٣].

وبالمثل، اقترح المؤتمر الدولي المعني بإساءة استعمال العقاقير والاتجار غير المشروع بها، الذي انعقد في حزيران/يونيه ١٩٨٧ ما يلي: "ينبغي لشعبة المخدرات أن تقوم، بالتعاون مع منظمة الصحة العالمية ومنظمة العمل الدولية، بتعزيز وتنسيق الجهود المبذولة على الصعيد الوطني. وذلك بأن تضع مبادئ توجيهية ومعايير ومنهجيات مقبولة دوليا لبرامج الاختبار الوطنية". واقترح المؤتمر أيضا "إنشاء مصدر مركزي للمعايير المرجعية لأهم أيضات العقاقير بغية خدمة المختبرات الوطنية" [٤].

واستجابة لطلب اللجنة، وبدعوة من حكومة سنغافورة، عقدت شعبة المخدرات اجتماعا لفريق الخبراء المعني بكشف واختبار العقاقير الخاضعة للمراقبة الموجودة في سوائل الجسم والطرائق الموصى بها لكشف وتحليل الهيروين/المورفين والقنبيات في العينات البيولوجية. وعقد اجتماع لاحق في مدريد حول طرائق كشف وتحليل الكوكايين والأمفيتامين والميثامفيتامين ومشتقات الأمفيتامين ذات الحلقة البديلة الموجودة في العينات البيولوجية.

باء - الغرض من الدليل

يجمع هذا الدليل المنقح بين دليلي الأمم المتحدة عن الطرائق الموصى بها لكشف وتحليل الهيروين والقنبيات [٥] وعن الطرائق الموصى بها لكشف وتحليل الكوكايين والأمفيتلمين والميثامفيتامين ومشتقات الأمفيتامين ذات الحلقة البديلة في العينات البيولوجية [٦]. وقد تم التشديد بصفة خاصة على جمع العينات بطريقة صحيحة وخاضعة للإشراف، ونقلها وخزنها، وعلى التقيد الصارم بإجراء سلسلة الوصاية. ومن الأهمية بمكان، عند تحليل العينات البيولوجية، التقيد بصرامة بالمبادئ التوجيهية المتعلقة بتقديم العينات. وتعود أهمية ذلك لما قد يترتب على نتائج الاختبار من آثار قانونية خطيرة على الأفراد.

أعد هذا الدليل في إطار العمليات المختبرية لفرع الخدمات التقنية التابع لبرنامج الأمم المتحدة للمراقبة الدولية للمخدرات (اليوندسيب)، وهو يعكس الاستنتاجات التي توصلت إليها أفرقة الخبراء وتم تصميمه لتقديم توجيه عملي للسلطات الوطنية والمحللين عن طريق شرح الطرائق الموصى باتباعها في المختبرات الشرعية والسمية من أجل كشف وتحليل مركبات الهيروين/المورفين والقنبيات والكوكايين والأمفيتامين والميثامفيتامين ومشتقات الأمفيتامين ذات الحلقة البديلة الموجودة في العينات البيولوجية.

والخبراء باختيارهم تلك الطرائق، يدركون أن العديد من المختبرات القائمة اليوم تتبع طرائق تلبي الحاجات التشريعية وتتجاوز نطاق تلك الحاجات أحيانا. بيد أنهم لاحظوا أيضا التنوع الكبير في بنية البرامج الوطنية والمعدات المختبرية والمنهجيات المتبعة في الكشف عن تعاطي المخدرات. وهذا الدليل هو، بصورة عامة، محاولة لتعزيز الجهود الوطنية ومجانستها عن طريق تقديم مبادئ توجيهية مقبولة دوليا ومجموعة من الطرائق المختارة التي يمكن اتباعها في المختبرات. والغرض الأهم من ذلك هو مساعدة المختبرات الوطنية التي قد لا يتاح لها الحصول على المعدات والطرائق المعقدة. وكل طريقة من الطرائق اتبعت لسنوات عديدة في مختبرات معروفة ويتوقع منها أن تأتي بنتائج موثوقة. وفي تحديدها لهذه الطرائق، تدرك أفرقة الخبراء وجود العديد من الطرائق المفيدة والمقبولة الأخرى.

جيم - استخدام الدليل

جرى اختيار الطرائق الموصى بها في هذا الدليل بالاستناد إلى موثوقيتها المثبتة، وهو شرط أساسي عند استخدام النتائج لغايات قانونية أو عقابية. ويبقى الاختيار النهائي للمنهجية وأسلوب التحليل للمحلل الذي يعمل في بلده. وقد يتوقف ذلك بالضرورة على توافر الأجهزة والمواد المرجعية والعاملين المدربين. بيد أنه يوصى لغرض التثبت من تعاطي العقاقير بصورة غير مشروعة اتباع الطريقتين التاليتين: طريقة الفحص الأولي (وتكون عادة تقنية من تقنيات التحليل المناعي)، تعقبها طريقة للتثبت بالاستفادة من شتى المبادئ الكيميائية أو الفيزيائية (وتكون عادة تقنية كروماتوغرافية). وعند توافر الوسائل اللازمة لكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة، يقترح إجراء تحليل ثان بطريقة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة باستخدام نظام مذيب مختلف.

ومهما كانت الطريقة المتبعة، ينبغي التشديد على الاهتمام بصيانة المعدات صيانة مناسبة وبالمراقبة البيئية، لا سيما في نقل وحفظ العينات والكواشف غير الثابتة، ولا بد أيضا من الاعتماد على عاملين من ذوي التدريب الكافي فقط. ويسترعى الاهتمام أيضا إلى ضرورة توافر الكتب الدراسية التي تتناول العقاقير التي يساء استعمالها والتقنيات التحليلية. علاوة على ما تقدم، يتوقع من المحلل مواكبة التطورات التي تحدث في مجال التحليلات السمية عن طريق متابعة المطبوعات الراهنة التي تصدر حول هذا الموضوع. ومن المواد المفيدة المرافقة لهذا الدليل أدلة الأمم المتحدة عن الطرائق الموصى بها لاختبار الهيروين [٧]، والأفيون/المورفين الخام [٨]، والقنب [٩]، والكوكايين [١٠]، والأمفيتامين والميثامفيتامين [١١]، ومشتقات الأمفيتامين غير المشروعة ذات الحلقة البديلة [١٢]. وهذه الأدلة، وإن استهدف بها أصلا تحليل المواد المضبوطة، فإنها تحتوي على معلومات مفيدة أيضا في تحليل العينات البيولوجية.

ويرحب برنامج الأمم المتحدة للمراقبة الدولية للمخدرات بأي ملاحظات بشأن محتويات هذا الدليل وفائدته. ويمكن توجيه التعليقات إلى العنوان التالي:

United Nations International Drug Control Programme
Division for Operation and Analysis
Scientific Section
Vienna International Centre
P.O. Box 500
A-1400 Vienna, Austria

أولا – الجوانب العامة لتحليل العقاقير الخاضعة للمراقبة الموجودة في سوائل الجسم

ألف – الغرض والاستراتيجية

هناك عموما غرضان لتحليل العينات/السوائل البيولوجية:

الأغراض الشرعية، على سبيل المثال تحليل العينات البيولوجية للكشف عن وجود عقاقير خاضعة للمراقبة. وتؤدي النتيجة التحليلية الموجبة لعينة أخذت في هذا السياق عادة إلى إجراءات جنائية وعقوبات ضد المدعى عليه الذي حللت العينة المأخوذة منه.

الأغراض التشخيصية والعلاجية والتأهيلية، على سبيل المثال تحليل عينات مأخوذة من سياق سريري لتقييم سبب تسمم ما أو لتحديد ما إذا كان مانح العينة قد امتنع عن تناول العقار أثناء الأيام القليلة السابقة. والنتيجة الموجبة لتحليل كهذا لا تنطوي بالضرورة على إجراءات قانونية ولكنها يمكن أن تكون مؤشرا موثوقا يستند إليه العلاج الطبي الذي سيتلقاه مانح العينة في المستقبل.

وبالنظر لاحتمال ترتب إجراء عقابي على النتائج التحليلية الموجبة، يجب على الأساليب والطرائق المتبعة أن تلتزم بمعايير صارمة تستند إلى مبادئ علم السموم الشرعي. والاستراتيجية التي يوصى بها عموما هي إجراء فحص أولي للتثبت من احتمال وجود عينات موجبة، على أن يتبع ذلك بفحص تثبتي لاختبار العنيات الموجبة المفترضة.

ولأجل إجراء الفحص الأولي للعينات، ينبغي للمختبرات أن تنظر في استخدام تقنيات التحليل المناعي كالتحليل المناعي الإشعاعي، والتحليل المناعي الأنزيمي، والتحليل المناعي بالاستقطاب الفلوري، ومنع تلازن اللثى. وهذه التقنيات هي وسائل سريعة لاستبعاد العينات السالبة. ومن ثم ينبغي أن تتبع نتائج التحليل المناعي الموجبة بتحليل إثباتي باتباع طريقة تسند إلى مبدأ كيميائي أو فيزيائي مختلف مثل كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة، أو كروماتوغرافيا السائل العالية الأداء أو كروماتوغرافيا الغاز.

باء – مبادئ توجيهية عامة لتقديم العينات لغرض الكشف عن وجود العقاقير

إن الغرض من هذه المبادئ التوجيهية هو شرح الإجراءات التي تفي بالمعايير الضرورية اللازمة لضمان تحقيق أقصى درجة من موثوقية النتائج. وكما أوصى به فريق خبراء بروكسل، فالبول هو العينة المفضلة، إذ إلى جانب سهولة الحصول عليه بإجراءات لا انتهاكية، فإن جميع أيضات العقاقير تقريبا تبرز في البول ويمكن كشفها أثناء فترة أطول من الفترة التي يمكن خلالها كشف الأيضات في الدم. وليس هناك إلى الآن اتفاق عام على قبول استخدام الدم وغيره من المواد البيولوجية كالشعر واللعاب والعرق لهذه الأغراض، أي للتثبت من تعاطي العقاقير غير المشروع.

وللمحافظة على صحة النتائج التحليلية في الإطار الشرعي، ينبغي التقيد بدقة خاصة في الإشراف على جمع العينات ونقلها وحفظها. وينبغي لهذا الإشراف أن يتم على يد عاملين مدربين، ممن لديهم فهم واضح للآثار القانونية المترتبة على هذا الإجراء، وينبغي أيضا أن يتم

ذلك الإشراف بالمراقبة البصرية المباشرة. كما يجب مواصلة الإشراف المناسب على الدوام مع بذل كل جهد ممكن في المحافظة على حرية الفرد المعني الشخصية وكرامته. كما ينبغي للمشرف أيضا أن يتأكد من عدم وجود أي محاولة لإضافة مواد ملوثة أو فعالة إلى البول. وإن اقتضى الأمر نقل العينات إلى مختبر تحليلي، يجب الالتزام المتواصل بالأمن وبوجود سلسلة وصاية واضحة وثابتة.

وهذه المبادئ التوجيهية تنطبق على جميع الحالات التي يتم فيها جمع عينات البول في مواقع تبعد عن المختبرات التحليلية. وقد يصعب إجراء ذلك في جميع البلدان أو في المواقع الجغرافية المختلفة داخل البلد المنفرد. لذا ينبغي تكييف المبادئ التوجيهية أو تغييرها كيما توائم الحالة المحلية، وذلك على سبيل المثال فيما يخص حفظ العينات؛ فعند عدم توافر مرافق التجميد، ينبغي للمحلل أن يدرج في برنامج المراقبة خطوة للتحقق من ثبات العينات وعدم تغيرها.

جيم - جمع العينات: الإجراء المفصل

١ - في موقع الجمع

- يكون **موقع الجمع** مسؤولا عن جمع العينات، ولصق بطاقات تعريفها، وتغليفها ونقلها، مع التأكد من وجود الوثائق المناسبة واتباع الأساليب الأمنية اللازمة فيما يخص إجراءات الجمع والحفظ.
- يجب على موقع الجمع أن يوفر لجميع العاملين تدريبا كافيا لفهم عملية الجمع وأهمية النتائج المختبرية.
- يجب أن يشرف موظفون متدربون ومتخصصون على جمع العينات وأن يشهدوا عليه.
- يجب توفير مرافق المراحيض المناسبة لغرض جمع البول قبل النظر في عملية الجمع.
- ينبغي مراقبة غرفة الجمع للتأكد من عدم وجود أي مادة يمكن استخدامها لإبطال صلاحية العينات، وأن تكون الغرفة خالية من الأوعية الحاوية للصوابين والمواد المنظفة.

السبل الممكنة لإبطال صلاحية عينات البول

إضافة شتى المواد الكيميائية إلى العينة. يمكن أن تؤدي إضافة ملح الطعام، أو المنظفات، أو بعض المواد الشائعة الاستعمال في المنزل كالهيبوكلوريت (القاصر) إلى إتلاف العقاقير أو التأثير على الاختبار التحليلي لإعطاء نتائج سالبة كاذبة.

في بعض الحالات تؤدي إضافة بعض المواد غير المشروعة إلى البول إلى إعطاء نتائج موجبة.

تثقيب قاعدة الوعاء مما يؤدي إلى تسّرب العينة.

وضع بصيلة مملوءة بسائل تحت الذراع، ومد أنبوب منها إلى المجاري البولية. ويمكن الضغط على هذه البصيلة مما يؤدي إلى إطلاق الماء أو أي سائل آخر لتخفيف تركيز البول أو تلويثه.

الحصول على بول من أصدقاء لا يتعاطون المخدرات.

غرف الماء من المرحاض ووضعه في وعاء الجمع لتخفيف تركيز البول.

- ينبغي جمع عينتين من البول في قنينتين سعة كل منهما ٥٠ مل. وينبغي ملء كل قنينة إلى الثلثين على الأقل. وينبغي بقدر الإمكان تجنب استخدام السدادات المطاطية والأوعية البلاستيكية؛ وذلك لأن بعض الأسطح البلاستيكية ومعظم الأسطح المطاطية تمتص العقاقير غير المستقبطة وأيضاتها كالقنبيات مثلا. وإن اقتضت أسباب عملية استخدام أوعية بلاستيكية منفردة الاستعمال، ينبغي للمختبرات، كل على حدة، أن تجري اختبارات للتأكد من عدم تغيير هذه الأوعية البلاستيكية لتركيب العقار (العقاقير) أو الأيضة (الأيضات) وتركيزها في البول.

- فور الانتهاء من جمع العينة، يتم قياس وتسجيل درجة حرارة العينة الجديدة (٣٢-٣٨ درجة مئوية في غضون ٤ دقائق) ورقمها الهيدروجيني. وينبغي إبلاغ المختبر في حالة الشك بوجود تلاعب في العينة. وفي هذه الحالات يوصى بإجراء فحص بصري دقيق (اللون، الترسب، تكون الرغوة، الخ) ورصد الكرياتينين (١٨٠ ± ٨٠ ملغم/١٠٠ مل" "طبيعي"؛ ١٠-٣٠ ملغم/١٠٠ مل: "احتمال التخفيف"؛ < ١٠ ملغم/١٠٠ مل: "مخفف") وكذلك الثقل النوعي (١,٠٠٧-١,٠٣٥: "طبيعي") [١٣، ١٤].

- وينبغي سدّ القناني بأحكام وختمها وتعليمها بالبطاقات التعريفية. كما ينبغي اتخاذ الخطوات اللازمة لضمان المحافظة على سلامة العينة، وذلك على سبيل المثال باستخدام ختم أمان يتكون من شمع الختم المدموغ بدمغ وزاري أو باتباع تدبير ما يمكن الاستدلال منه على التلاعب بالعينة. ومن الأهمية بمكان أن يشهد مانح العينة ختم القناني وأن يوقع باسمه أو بالأحرف الأولى على الختم أو البطاقة التعريفية.

- ينبغي تثبيت بطاقات تعريف العينات على أوعية البول وليس على أغطيتها، وذلك لتجنب الاستبدال العرضي أو المقصود للعينات و/أو البطاقات التعريفية.

وينبغي للبطاقة التعريفية أن تتضمن المعلومات التالية على الأقل:

الاسم: _____
رقم الهوية الشخصية: _____
تاريخ ووقت الجمع: _____
مكان الجمع: _____
اسم المشرف على الجمع: _____
العقار (العقاقير) المطلوب اختباره: _____
رقم العينة: _____

- تملأ استمارة طلب التحليل بالمعلومات الشخصية التفصيلية عن مانح العينة. وترفق هذه الاستمارة بالعينة المقدمة إلى المختبر.

- بعد الانتهاء من جمع العينة، لا ينبغي السماح لمانح العينة بالاشتراك في مناولة بطاقة التعريف ولا في تغليف العينة أو نقلها إلى المختبر.
- ينبغي التقيد بالشروط الأمنية بصرامة في حفظ الأوعية الفارغة والتخلص منها، واستمارات طلب التحليل، والبطاقات التعريفية ومواد التغليف.

٢ - النقل والحفظ

- بعد الانتهاء من ملء استمارة الطلب، تسلّم العينة والاستمارة إلى الشخص المسؤول عن نقلها إلى المختبر. وينبغي وقاية العينات من التعرض للضوء والحرارة المباشرين أثناء النقل والحفظ، لذا ينبغي أن تحفظ باردة أثناء النقل؛ ويحبذ أن يتم ذلك في صندوق عازل يحتوي على الثلج أو في شكل آخر من التغليف المبرد.

ومن الأهمية بمكان وضع العينات في موضع بارد ومظلم في كل الفترة الفاصلة بين الجمع والتحليل.

- يكون الشخص الذي يعهد إليه بالنقل مسؤولا عن نقل العينات إلى المختبر والاحتفاظ بسجل كامل عن سلسلة الوصاية المناسبة لضمان عدم التلاعب بالعينات أثناء نقلها.

٣ - في المختبر

- يتولى شخص مرخصّ في المختبر تسلّم العينات والوثائق وفحصها بدقة وينبغي استخدام قنينة من كل عينة في إجراء التحليل والاحتفاظ بالقنينة الثانية مجمدة لإجراء تحليل إضافي عند الضرورة.
- بعد التأكد من صحة العينات واستمارات الطلب، يجري إعداد إقرار تحريري بالتسلم، وتوقيعه ومنحه للشخص المسؤول عن النقل.
- ينبغي للمختبر أن يحتفظ بسجلات جيدة التوثيق وأن يلتزم بصرامة بالشروط الأمنية لضمان سلامة العينات وسرية النتائج.
- في حالة تأجيل التحليل لأكثر من يوم أو يومين، ينبغي حفظ عينات البول مجمدة، وفي ثلاجة مقفلة إن أمكن. وتحافظ العينات المجمدة عموما على ثباتها لعدة أشهر.

٤ - استمارات طلب تحليل العقاقير

- تتيح استمارة طلب تحليل العقاقير المرافقة لعينات البول قيام المختبر بالتحقق من عينات البول المنفردة مقابل الاستمارة للتثبت من هوية المانح ومن وصول جميع العينات المجمعة إلى المختبر.
- ينبغي للاستمارة أن تتضمن على الأقل بيانات تعريف المانح، والشخص المشرف على الجمع، والشخص المسؤول عن النقل، ورقم العينة، وتاريخ الجمع ووقته، ودرجة حرارة العينة ورقمها الهيدروجيني في وقت جمعها.

- أي معلومات إضافية قد تدرج في الاستمارة هي تحديد للعقاقير المطلوب فحص العينة من أجلها، وإشارة إلى أي شكوك بشأن صلاحية العينة.
- بعد الانتهاء من ملء الاستمارة يوقع عليها شخص مرخص وتختم بختم رسمي.

دال – سرّية النتائج

لا بد من المحافظة على شروط الأمن والسرية على الدوام

- يجب الاحتفاظ بأي معلومات تتعلق بالمانح ونتائج التحليل في مكان آمن ومقفل.
- ينبغي أن تقتصر إمكانية الاطلاع على التقارير على الأشخاص المرخص لهم بذلك.

هاء – سلامة العاملين في المختبر

تعرض مناولة المواد البيولوجية العاملين لمخاطر العدوى، منها في جملة أمور، العدوى بمرض التهاب الكبد أو الإيدز. لذا يجب على جميع العاملين اتخاذ ما يلزم من احتياطات والتقيد بإجراءات السلامة كارتداء القفازات والملابس الواقية الأخرى.

واو – موجز احتياطات السلامة

- بالإضافة إلى العينات، ينبغي التقيد تقيدا تاما بشروط السلامة عند حفظ الأوعية الفارغة والتخلص منها، وعند مناولة استمارات الطلب، وبطاقات التعريف، ومواد التغليف.
- بعد الانتهاء من جمع العينة، لا ينبغي أن يسمح للمانح بالاشتراك في تعليم العينة ببطاقات التعريف، ولا في التغليف أو النقل إلى المختبر.
- يجب أن يشهد المانح ختم القنينة، وأن يوقع باسمه أو بالأحرف الأولى على الختم أو على بطاقة التعريف.
- ينبغي الاحتفاظ بسجلات دقيقة وكاملة عن جميع الأفراد المشاركين في جمع البول وحفظه ونقله.
- يجب لصق بطاقات التعريف على الوعاء الحاوي للبول وليس على الغطاء، وذلك لمنع أي استبدال عرضي أو مقصود للعينات و/أو بطاقات التعريف.
- ينبغي التقيد بالمحافظة على سرية المعلومات الخاصة بمانحي العينات ونتائج التحليل، وإلاّ يتاح الوصول إليها سوى للأشخاص المرخصين.

زاي – المنهجية

كما جرت التوصية به مسبقا، يلزم إجراء كلّ من الفحصين الأولي والتثبتي.

وينبغي للفحص الأولي أن يتيح تحديد النتائج الموجبة المحتملة بدرجة عالية من الوثوقية، وأن يكون فحصا حساسا وسريعا وزهيد التكلفة. وتتوافر هذه المعايير عموما في التحليلات المناعية. بيد أن الأجسام المضادة المستخدمة في التحليلات المناعية محدودة الخصوصية وقد تؤدي إلى تفاعلات تبادلية. وينبغي التثبت من جميع النتائج الموجبة لفحص ما

بالتحليل المناعي بإجراء تحليل آخر يستند إلى مبادئ كيميائية مختلفة. ويجوز أيضا اتباع طريقة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة في إجراء الفحص الأولي.

أما الاختبارات التثبتية فينبغي أن تكون على الأقل مساوية في حساسيتها لحساسية الفحص الأولي، ولكنها يجب أن تكون أكثر خصوصية من الاختبارات الأولية. وهي تتضمن عموما تقنيات كروماتوغرافية وقد تشمل كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة، وكروماتوغرافيا الغاز – السائل، وكروماتوغرافيا السائل العالية الأداء، وكروماتوغرافيا الغاز – القياس الطيفي الكتلي.

١ – *طرائق التحليل المناعي*

التحليلات المناعية هي أمثل الطرائق عندما يتوجب اختبار أعداد كبيرة من العينات في غضون فترة محددة. ويتوافر تجاريا العديد من أدوات إجراء التحليلات المناعية للفحص الأولي للعقاقير التي يساء استعمالها. وأكثر الطرائق شيوعا التحليل المناعي الإشعاعي، والتحليل المناعي الأنزيمي، والتحليل المناعي بالاستقطاب الفلوري، وتحليل منع تلازن اللثى. وتستلزم التحليلات المناعية الإشعاعية والأنزيمية وبالاستقطاب الفلوري، وكذلك بمنع تلازن اللثى تحليل (بأدوات خارج الموقع) معدات مكلفة نسبيا. ويجوز لأي مختبر تتوافر لديه هذه المعدات إجراء أي من التحليلات المذكورة أعلاه.

وفي معظم الأحيان يتوقف اختيار التقنية على عبء العمل (عدد العينات في اليوم) الذي يقوم به المختبر. فتقنيتا التحليل المناعي الأنزيمي والإشعاعي، على سبيل المثال، تتوافران بصيغتي التحليل المنفرد أو التحليل المضاعف. فالمختبرات التي تعالج عددا صغيرا من العينات يمكن أن تستخدم صيغتي التحليل المنفرد، أو التحليل المناعي بمنع تلازن اللثى (تحليل من غير أدوات – في الموقع)، بيد أنها طرائق باهظة من حيث تكلفة تحليل كل عينة منفردة. أما في حالة أعباء العمل الكبرى، فمن الأنسب استخدام طرائق التحليل المناعي الأنزيمي المضاعفة أو التحليل المناعي بالاستقطاب الفلوري.

وينبغي منح اهتمام كاف لصيانة المعدات، والرقابة البيئية (ثبات درجة الحرارة)، والتجهيز والخزن (المبرد) للكواشف غير الثابتة نسبيا من أجل تقليص النتائج الخاطئة إلى أدنى حدّ ممكن. والنتائج الكاذبة قد تترتب أيضا على غش العينة، وذلك على سبيل المثال بإضافة مادة مغيرة للرقم الهيدروجيني (الخل، حمض الاسكوربيك، عصير الليمون، مذيب الكلس وما أشبه)، أو مادة مؤكسدة (هيبوكلوريت الصوديوم، الخ)، أو مادة مثبطة للأنزيمات (غلوتار ألدهيد)، أو الأدوية (كقطرات العين أو الأنف الحاوية لمادة التتراهيدروزولين)، أو المحليات (السكرين) أو ملح الطعام (كلوريد الصوديوم). ومن أكثر طرق التلاعب شيوعا التخفيف الداخلي المصدر (تناول السوائل بإفراط، أو استعمال المدررات) والتخفيف الخارجي المصدر (إضافة الماء) إلى جانب استبدال عينة البول أو الاستعاضة عنها.

وقد تتطلب بعض تقنيات التحليل المناعي قدرا أقل من التدريب والخبرة، مما ييسر تعيين العاملين في المختبرات، بيد أنه يلزم وجود محللين مشرفين من ذوي الخبرة الواسعة بتلك التقنيات.

ويلخص الجدول الأول–١ بعض خواص التحليلات المناعية.

الجدول الأول-١ الخواص العامة لأهم التحليلات المناعية

الإشعاعي	الأنزيمي	الاستقطاب الفلوري	منع التلازن	الميزة
مستلزمات الأجهزة الخاصة	نعم	نعم	نعم	كلا[ج]/نعم[د]
ثبات الكواشف	٣-٤ أسابيع	عدة أشهر	عدة أشهر	أكثر من سنة[ج،د]
تكاليف الكواشف	+	+++/++[ب]	(+)++	+++[ج،د]
إمكانية الاختبار الآلي	نعم	نعم	نعم	كلا[ج]/نعم[د]
اختبار/تقني/دورة ٨ ساعات	٢٠٠-٤٠٠[ب]	١٠٠-٤٠٠[ب]	٢٠٠-٣٥٠	٢٠٠-٣٥٠/أكثر من ٥٠٠[د]

[أ] اختبار منفرد
[ب] اختبار البول لتعاطي المخدرات، اختبار مضاعف
[ج] اختبار من غير أدوات في الموقع
[د] اختبار بالأدوات خارج الموقع

٢ - كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة

طرائق كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة هي طرائق زهيدة التكلفة فيما يخص رأس المال الثابت وغيره من التكاليف التجهيزية الأولية. وهي طرائق تستلزم عمالة مكثفة، وهي أقل حساسية من التقنيات الأخرى ويستلزم تطبيقها الدقيق خبرة طويلة بالنظر للطابع الشخصي في تفسير النتائج. ويوصى بها كاختبار تثبتي من نتائج الفحص الأولي بالاختبارات المناعية وكاختبار أولي عندما تكون تكاليف العمالة أقل أهمية من إنفاقات رأس المال، مع شرط توافر عاملين جيدي التدريب.

وعندما يتقيد المختبر، بسبب الموارد، باتباع منهجية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة وحدها، ينبغي ألاّ تعتبر نتيجة الاختبار الدليل الوحيد على وجود العقار أو على استخدامه حيث يمكن أن تؤثر العواقب بشدة على الفرد المعني. وعند عدم توافر معدات أكثر تعقدا، فإن الحل المقبول هو التثبت باستخدام نظام مذيب واحد بديل على الأقل و/أو مفاعل كشف آخر لإجراء كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة.

٣ - كروماتوغرافيا الغاز وكروماتوغرافيا السائل العالية الأداء

كروماتوغافيا الغاز وكروماتوغرافيا السائل العالية الأداء طريقتان تتيحان درجة عالية من الحساسية والخصوصية للتثبت من النتائج الموجبة المفترضة المحصلة من التحليلات الأولية. بيد أن معداتهما أكثر تكلفة نسبيا بالمقارنة مع كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة أو مع التحليل المناعي، كما أن توافر عاملين مدربين ومن ذوي الخبرة مسألة هامة جدا في تطبيق هذين النظامين التقنيين المتطورين.

٤ - كروماتوغرافيا الغاز - القياس الطيفي الكتلي

كروماتوغرافيا الغاز - القياس الطيفي الكتلي هي أكثر الطرائق المتوفرة حساسية وخصوصية للتثبت من وجود العقاقير في العينات البيولوجية. وهي تستلزم أعلى مستوى من إنفاقات رأس المال، والتدريب، وتكاليف الصيانة. وهي أقل الطرائق احتمالا للتعرض للمناقضة في القضاء وينبغي اعتبارها ميزة ضرورية وهامة في البرامج الوطنية حيث يكون المختبر الرقابي المصدر الأخير للتثبت من الاختبارات المشكوك فيها.

٥ - تحضير العينة

يلزم بصورة عامة قدر قليل من تحضير العينة لإجراء التحليلات المناعية الأولية. وليس من الضروري إجراء تحليل مائي لعينات البول لأن التحليلات المناعية تقيس الشكلين الحر والمترابط للعقاقير و/أو الأيضات. ولربما توجب تعديل الرقم الهيدروجيني أو لإجراء عملية طرد مركزي للبول للتخلص من العكر. وللحصول على أفضل النتائج ينبغي اتباع تعليمات منتج عدة الاختبار.

ومن الأهمية بمكان، في حالة الإجراءات الكروماتوغرافية، تحضير العينة تحضيرا جيدا. وهذا التحضير ضروري لأن البول مركب معقد يحتوي على مزيج من كميات كبيرة من المركبات العضوية وغير العضوية التي تحمل كميات في غاية الضآلة من المواد المستهدفة بالتحليل. ويتضمن تحضير العينة عادة التحليل المائي للبول واستخلاص المواد المحللة وتنقيتها. وينبغي لهذا الإجراء أن يكون فعالا لأن الاستعادة الجيدة ضرورية لاستخلاص الكميات الضئيلة الموجودة. وينبغي أن يكون إجراءً انتقائيا أيضا، وذلك للتأكد من التخلص من المواد المتدخلة الموجودة في البول.

وفي الغالب يتضمن تحضير العينة لكروماتوغرافيا الغاز وكروماتوغرافيا الغاز/القياس الطيفي الكتلي تحضير مشتقات كيميائية للمواد المستهدفة بالتحليل. وهذه الخطوة الإضافية، وإن استلزمت وقتا إضافيا ونفقات أكثر بسبب الكواشف المستعملة، فإن الاشتقاق خطوة يوصى بها كثيرا للأسباب التالية:

يتيح الاشتقاق حساسية أكبر.

المركبات المشتقة أكثر ثباتا في درجات الحرارة المتغيرة من الأشكال غير المشتقة.

تحسن الصفات الكروماتوغرافية، أي شكل الذروة، وفترات الاحتفاظ، وعمليات الفصل.

تحتوي أطياف الكتلة على أيونات أكثر ملاءمة لكروماتوغرافيا الغاز/القياس الطيفي الكتلي في الرصد الأيوني المختار وذلك بالمقارنة مع الأشكال غير المشتقة.

٦ - التحليل الكمّي

إن اتباع طرائق التحليل الكمي ليس ضرورة مطلقة لغرض التثبت من تعاطي المخدرات غير المشروع. مع ذلك، هناك ميزات عديدة لقياس كميات العقاقير وأيضاتها المحددة في طريقة (طرائق) الفحص الأولي، لا سيما عند وجود مشاكل في تفسير النتائج.

وتعطي الطرائق الكروماتوغرافية عموما حسابا كميا موثوقا للمواد المحللة. ويجوز استخدام طرائق كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة كإجراء كمي. بيد أن ذلك يستلزم استخدام ماسح سطحي أو مقياس للكثافة وقد لا تكون النتيجة موثوقة ولا فعالة التكلفة. كما أن طرائق التحليل المناعي لا تعطي عموما حسابا كميا موثوقا في هذا السياق بالنظر للاحتمالات الملازمة لهذه الطرائق في احتواء العينة لمواد متبادلة التفاعل لا يمكن تحديدها.

أما التحليل الكمي بكروماتوغرافيا الغاز، أو كروماتوغرافيا السائل العالية الأداء أو كروماتوغرافيا الغاز/القياس الطيفي الكتلي فيستلزم إضافة عيار داخلي للعينة قبل الاستخلاص. ويتيح العيار الداخلي أيضا قياس أزمان الاحتفاظ النسبية. وينبغي أن تكون العيارات الداخلية مشابهة للمواد المستهدفة بالتحليل بحيث يمكن استخلاصها واشتقاقها وتحليلها في نفس الظروف المتبعة مع المواد المستهدفة بالتحليل، على أن يسهل التمييز فيما بينها أثناء إجراء الكروماتوغرافيا. بيد أنه ينبغي التقيد بالحذر وتجنب استخدام مواد يحتمل وجودها في البول كعقاقير أخرى أو مواد طبيعية داخل الجسم.

ولإجراء التحليل الكمي بطريقة كروماتوغرافيا الغاز/القياس الطيفي الكتلي يستخدم نظير للمادة المحللة معلّم بالديوتريوم، وهو عادة أفضل اختيار للعيار الداخلي. بيد أن النظائر المعلّمة بالديوتريوم مكلفة وقد لا يتيسر الحصول عليها. وتكون النظائر الأخرى للمركب المستهدف بالتحليل مقبولة عموما كمعايير داخلية.

وعند اتخاذ قرار بإجراء طرائق كمية فإن النتيجة المباشرة لذلك هي ضرورة التثبت من دقة الطريقة وتفصيلها، وهو ما ستجري مناقشته أدناه. وبالطبع، ينبغي لمعامل انحراف طريقة كروماتوغرافية ما ألاّ يزيد عن ١٠٪، ويحبذ أن يكون أقل من ٥٪.

ويمكن حساب تركيز المادة المحللة باستخدام الصيغة العامة التالية:

$$\text{تركيز المادة المحللة } (\times) = \left(\frac{\text{في كروماتوغرام العينة } A_x/A_{IS}}{\text{في كروماتوغرام العيار } A_{RS}/A_{IS}} \right) \bullet C_{RS}$$

حيث يكون:

A_x = مجال الذروة للمادة المحللة (×) المحصل من كروماتوغرام العينة

A_{IS} في كروماتوغرام العينة = مجال الذروة للعيار الداخلي المحصل من كروماتوغرام العينة

A_{RS} = مجال الذروة للعيار المرجعي المحصل من كروماتوغرام العيار

A_{IS} في كروماتوغرام العيار = مجال الذروة للعيار الداخلي المحصل من كروماتوغرام العيار

C_{RS} = تركيز المادة المحللة (×) في محلول العيار المرجعي

حاء – ضمان الجودة

إن توافر عاملين جيدي التدريب والمهارة هو شرط مسبق أساسي لتحقيق نتائج موثوقة. فالتمسك بالإجراءات والممارسات المختبرية الجيدة، واتباع إجراءات تشغيل موحدة، وتدريب العاملين المنتظم يساعد على المحافظة على الجودة وعلى موثوقية المختبر.

١ – مراقبة الجودة الداخلية

يجب أن يكون وجود برنامج جيد ومدعم بالوثائق اللازمة لضمان الجودة جزءا لا يتجزأ من تنظيم مختبر العقاقير، وينبغي للبرنامج أن يتضمن على الأقل بعض الوسائل لتقييم دقة وتفصيل التحليلات التي يتم إجراؤها. وينبغي تقييم دقة الطرائق إما عن طريق إجراء تحليلات متعددة للعينات كل على حدة و/أو بإدراج عدد كاف من عينات مراقبة الجودة (مع تركيزات متباينة من العقار أو الأيضة في سائل الجسم ذات الصلة). وسيتيح ذلك للمحلل إجراء تقييمات إحصائية للدقة في إطار دفعات مختلفة وعبر فترة من الزمن.

٢ – تقييم الجودة الخارجي

ينبغي للمختبر، كلما أمكن، أن يشارك في برنامج خارجي لتحسين المهارة. والأسلوب الأمثل هو أن تتولى هيئة خارجية مستقلة كالأمم المتحدة إجراء هذا البرنامج، وأن تدعى المختبرات في الدول الأعضاء للاشتراك فيه. وعند عدم توافر برنامج كهذا، يمكن للمختبرات داخل البلدان أن تعتمد الاستراتيجية التالية:

برنامج تحسين المهارة المشترك بين المختبرات: وينفذ عن طريق تبادل المختبرات للعينات فيما بينها لغرض التحليل والتحقق من أداء كل مختبر.

وينبغي تعيين المختبر المركزي الرئيسي كمختبر مرجعي. ويقوم هذا المركز بإرسال عينات تحتوي على تركيزات مختلفة من المادة (المواد) المحللة إلى جميع المختبرات لتقوم بتحليلها. ثم يجري بعد ذلك تقييم نتائج التحليلات في المختبر المرجعي.

طاء – تفسير النتائج

يقدم التحليل النوعي أو الكمي الذي يجري على العينة البيولوجية دليلا عن تعاطي الفرد أو عدم تعاطيه لعقار خاضع للمراقبة. ويدل وجود الأيضات على امتصاص الجسم لعقار ما.

والتوصل إلى نتيجة موجبة في الفحص الأولي يعني وجود عقار ما أو أيضة ما في البول بتركيز أعلى أو مساو لتركيز الفصل. ويتوقف إبراز عقار ما من الجسم وتركيزات العقار في البول على عوامل مثل طريقة تعاطي العقار، وتكراره، ومدة تعاطيه، وعمل أجهزة الجسم، ومعدل أيض العقار، والحالة البدنية للشخص، والعمر، والجنس، والغذاء، ووقت جمع العينة، والتخفيف الداخلي... الخ. ومع ذلك تجدر الإشارة إلى أن تركيز العقار في البول لا يمكن أن يربط، بأي شكل من الأشكال، بمستوى العجز الذهني.

ثانيا – الطرائق الموصى بها للكشف عن الهيروين (المورفين) وتحليله في العينات البيولوجية

ألف – الأنواع الشائعة من منتجات الأفيون والمورفين والهيروين غير المشروعة [٧، ٨]

١ – الأفيون

الأفيون منتوج طبيعي يحصل عليه بشق كبسولات الخشخاش غير الناضجة. ويقشط اللبن الذي ينضح من الشق باليد ثم يجفف في الهواء لإنتاج صمغ الأفيون. والأفيون الخام مزيج مركب يحتوي على سكريّات، وبروتينات، ودهنيات، ومواد صمغية أخرى وماء، بحيث لا يشكل جزء القلويدات (أشباه القلويات) الفعالة سوى ١٠–٢٠٪ من الوزن الكلي. وقد تم تسجيل زهاء ٤٠ قلويدا يمكن اعتبار أربعة أو خمسة منها المكونات الرئيسية للأفيون، وهي تندرج في فئتين عامتين، قلويدات الفيناثرين، المتمثلة بالمورفين والكوديين والثيبايين، وقلويدات الايزوكوينولين المتمثلة بالخشخاشين (البيافرين) والناركوتين (النوسكابين).

وتتباين الكميات النسبية للقلويدات المختلفة تباينا كبيرا، وذلك يتوقف على مجموعة عوامل كالمناخ، والارتفاع، وخصوبة التربة، وكمية الرطوبة المتوافرة، وعمر النبات، ووقت القيام بالشق، ونوع الخشخاش المنوم *(Papaver somniferum)*.

والمورفين هو القلويد الرئيسي للأفيون، ويتراوح تركيزه بين ٤ إلى ٢١٪، والمعدل المعتاد هو بين ٨–١٤٪. ولا تقل نسبة المورفين في الأفيون الخام المنتج بصورة مشروعة، والمعروف بالأفيون الهندي، عن ٩,٥٪ محسوبا باعتباره مورفين لا مائي.

والناركوتين هو القلويد الثاني الأكثر وجودا في الأفيون، ويوجد عموما بنسبة ٢–٨٪. وهو غير مخدر ويوجد أحيانا في المورفين الفج كمادة شائبة.

ويوجد الكوديين في الأفيون بتركيزات تتراوح بين ٠,٧ و ٣٪. ويؤدي وجوده كمادة شائبة في المورفين المستخدم في تحضير الهيروين إلى تكوين مادة أسيتل كوديين.

والثيبايين قلويد ثانوي في الخشخاش المنوم، ويوجد بنسبة ٠,٢–١٪. أما البيافرين (الخشخاشين) فيوجد بنسبة ٠,٥–١,٣٪.

والمادة المميزة الأخرى للأفيون هي حمض الميكونيك، الذي يوجد بكميات لغاية ١٥٪. ووفقا لتقنية الاستخلاص المتبعة، يؤثر هذا الحمض على نقاوة المورفين الخام الذي يفصل من الأفيون.

(أ) الأفيون الخام

الأفيون الخام الحديث الاستخلاص مادة دبقة غامقة شبيهة بالقار، ويمكن تشكيلها في أي شكل أو صيغة وفقا لطريقة التغليف وبلد المنشأ. ويفقد الأفيون بمرور الزمن تماسكه حيث يصبح مادة صلبة سريعة التفتت. وللأفيون رائحة مميزة تشبه رائحة السوس، وتشتد هذه

الرائحة عند إذابة المنتوج في الماء. وهو مادة غير متجانسة تحتوي على قطع من كبسولة الخشخاش ويجري أحيانا غشها بإضافة عجينة الموز أو براتنج القلفونية (الروزين). ويغلف عادة بأوراق النباتات في المرحلة الأولى ثم بتغليف بلاستيكي ويربط بخيط رفيع.

(ب) الأفيون المحضّر

الأفيون المحضر، ويعرف أيضا باسم "تشاندو" في جنوب شرق آسيا، هو منتوج يحصل عليه بتطبيق طرائق متنوعة على الأفيون الخام، بما فيها الاستخلاص المائي، والترشيح، ثم التبخير للتخلص من الماء. وتجري هذه المعالجة للحصول على منتوج مناسب للتدخين.

(ج) نفاية الأفيون

يعرف الناتج المتخلف في الغليون بعد تدخين الأفيون بنفاية الأفيون. وبالنظر لعدم اكتمال الاحتراق والتطاير فإن المنتوج المتبقي يحتفظ ببعض صفات الأفيون بما فيها وجود كمية كبيرة من المورفين. وقد أبلغ في جنوب شرق آسيا عن تحضير أمزجة من نفاية الأفيون والأفيون الخام.

(د) الأفيون الطبي

الأفيون الطبي، ويعرف أيضا بمسحوق الأفيون، هو أفيون تم تجفيفه في درجة حرارة معتدلة، وسحقه إلى مسحوق ناعم أو شبه ناعم، ثم تعديل محتوياته من المورفين إلى مستلزمات دستور الأدوية بنسبة ٩,٥-١٠,٥٪ بإضافة مسحوق اللاكتوز، أو قشرة الكاكاو، أو نشاء الرز. ويكون لونه عادة بنيا فاتحا، ويتألف من جزيئات بنية مصفرة أو بنية محمرة وله رائحة الأفيون المميزة.

ومن وجهة النظر الكيميائية، تكون الاختلافات بين جميع منتجات الأفيون المذكورة أعلاه ضئيلة نسبيا.

٢ - *المورفين الخام*

يكون المورفين الخام الذي يحصل عليه من الأسواق غير المشروعة من نوعية ممتازة أو من نوعيات رديئة جدا، وذلك وفقا لطريقة التنقية المتبعة، والغرض المقصود من المادة، والعادات، ومعرفة الكيميائي غير المشروع ومهارته المهنية.

٣ - *الهيروين*

ينبغي التشديد على أن أي عينتين من الهيروين لا تتميزان بنفس الصفات الفيزيائية تماما. فالهيروين ينتج من منتوج طبيعي شديد التباين، وبعمليات للتحضير يمكن أن تتباين تباينا واسعا، ثم يتعرض فيما بعد للغش والتغيير لأغراض الاتجار، لذا فلا غرابة في وجود الهيروين بأشكال متعددة جدا. والأنواع المبينة هنا هي مجرد أنواع مختارة، وإن كانت أكثرها شيوعا. وإذا ما كانت الصفات الفيزيائية للمادة المقدمة للفحص الشرعي لا علاقة لها بصفات أي من الأنواع المشروحة هنا، فإن ذلك لا يعني بالطبع أن المادة ليست هيروين أو منتوجا يحتوي على الهيروين.

(أ) نوعان من هيروين جنوب غرب آسيا

النوع ١ : شديد التباين في اللون والقوام ولوحظت من هذا النوع جميع درجات اللون التي تتراوح من البيج إلى البني الغامق. وهذا الهيروين يكون دائما على هيئة مسحوق، وهو مسحوق ناعم في الغالب، يحتوي أحيانا على كتل صغيرة لينة تتفتت بالضغط الخفيف عليها. وهذه الفئة هي النوع الغالب في هذه المنطقة. وترافق هذا التباين في الخواص الفيزيائية مجموعة واسعة من التركيبات الكيميائية. ولكن يستدل من العينات التي ضبطت مؤخرا على صناعة منتوج ذي تركيب أكثر ثباتا. وهو عموما مسحوق ناعم ذو لون بني فاتح ورائحة هي الرائحة المميزة للأفيون. وتكون درجة نقاوة الهيروين عموما ٦٠٪، وجميع القلويدات والمشتقات الموجودة هي في الشكل القاعدي. أما المحتويات الأخرى الموجودة عموما من قلويدات ومشتقات فهي:

أسيتل كوديين .....٥٪
O^6 – مورفين أحادي الأسيتل .....٣٪
ناركوتين.....١٠٪
خشخاشين .....٤٪

النوع ٢ : مسحوق ناعم جاف ذو لون أبيض أو أبيض حائل، أخف رائحة من النوع ١، وتتراوح درجة نقاوته بين ٨٠–٩٠٪، ويوجد الهيروين فيه على هيئة ملح هيدروكلوريدي. وهناك بعض العينات من هذا النوع التي لا يمكن التمييز بينها وبين الهيروين من "المرتبة الصيدلية". والمكونات الأخرى عموما قلويدات ومشتقات هي:

أسيتل كوديين .....٣٪
O^6 – مورفين أحادي الأسيتل .....٢٪
ناركوتين.....لم يكشف عنه
خشخاشين .....لم يكشف عنه

(ب) نوعان من هيروين الشرق الأوسط

النوع ١ : مسحوق ناعم ذو لون بيجي أو بني فاتح جدا؛ ويندر وجود التكتلات فيه. ويندر أيضا وجود عينات تحتوي على أكثر من ٧٠٪ من الهيروين، ويكون متوسط درجة النقاوة نحو ٥٠٪. وتوجد القلويدات والمشتقات فيه على هيئة أملاح الهيدروكلوريد. أما المكونات من القلويدات والمشتقات الأخرى فهي:

أسيتل كوديين .....٣٪
O^6 – مورفين أحادي الأسيتل .....٢٪
ناركوتين.....لم يكشف عنه
خشخاشين .....لم يكشف عنه

وكثيرا ما يحتوي هذا النوع على مادة غاشة تكون مادة صيدلية في الغالب مثل البروكايين.

النوع ٢ : مسحوق ناعم جاف ذو لون أبيض أو أبيض حائل. وتحتوي بعض العينات منه على ٧٠–٨٠٪ من الهيروين، بينما تكون عينات أخرى شكلا مخففا من المنتوج ١ الشديد النقاوة، وتحتوي على كمية مساوية من الكافيين بحيث تنخفض درجة الهيروين عادة فيه ١ إلى ٣٠–٤٠٪. وتوجد القلويدات والمشتقات فيه على هيئة أملاح الهيدروكلوريد. وتحتوي هذه الأشكال المخففة على كميات ضئيلة جدا من الأسيتل كوديين، و O^6 مورفين أحادي الأسيتل، والخشخاشين والناركوتين. ولكن الأشكال الشديدة النقاوة تحتوي على:

أسيتل كوديين .....٢–٣٪

O^6 – مورفين أحادي الأسيتل .....٢٪

(ج) نوعان من هيروين جنوب شرق آسيا

هيروين التدخين "الصيني رقم ٣"

مادة حبيبية صلبة. ويبلغ قطر الحبيبات عادة ١–٥ ملليمتر، وهي، على خلاف الكتل في هيرون جنوب غرب آسيا، صلبة لا تتفتت بالضغط. ولا تحتوي المادة إلا على كمية صغيرة من المسحوق. وأكثر الألوان الشائعة هو اللون الرمادي، وإن كثر وجوده أيضا بلون بني داكن، وهناك نوع خاص تكون فيه الحبيبات حمراء أو وردية اللون – "وردي بينانغ". ويعطي التحليل عموما النتائج التالية:

مادة رمادية أو بنية داكنة – ٢٠٪ هيروين، ٤٠٪ كافيين، كميات ضئيلة جدا من قلويدات أخرى في المادة الحديثة التحضير، ولكن التحلل المائي لهذا الهيروين سرعان ما يؤدي إلى O^6 مورفين أحادي الأسيتل بتركيز يقارب ٥٠٪. وقد تتخذ القلويدات شكل أملاح أو قواعد الهيدروكلوريد. وهناك بعض العينات التي تتركب من مزيج من الأملاح والقواعد، وذلك يعني أن حمض الهيدروكلوريك لم يضاف بكميات دقيقة القياس لتحقيق التفاعل.

ويعطي تحليل المواد الحمراء أو الوردية نفس نتائج تحليل المادة الرمادية أو البنية الداكنة ولكنها تحتوي على الباربيتون عوضا عن الكافيين.

هيروين الحقن "الصيني رقم ٤"

مسحوق ناعم أبيض خفيف الرائحة ولا يحتوي على أي كتل. وتتكون جميع المادة تقريبا من الهيروين. ولا يمكن الكشف عن الناركوتين والخشخاشين؛ وتقل نسبة O^6 مورفين أحادي الأسيتل عادة عن ٣٪. وتكون كميات الأسيتل كوديين عادة أعلى ويمكن تقديرها بالمقارنة مع المنتوج العالي النقاوة من هيروين جنوب غرب آسيا. وتوجد جميع القلويدات على هيئة أملاح الهيدروكلوريد.

ويجب الملاحظة فيما يخص جميع أنواع الهيروين، مهما كان المنشأ، إن O^6 مورفين أحادي الأسيتل يوجد أحيانا بتركيزات أعلى من التركيزات المذكورة، إذ كثيرا ما تتحلل عينات الهيروين الرديئة الصناعة تحللا مائيا حيث يتحول الهيروين إلى O^6 مورفين أحادي الأسيتل. ويغلب أن يكون سبب هذا التحلل المائي إضافة حمض الهيدروكلوريك بكميات غير دقيقة القياس (كميات مفرطة عادة).

ويندر أن يؤدي التحلل المائي إلى تكوّن نسب مرتفعة من المورفين وذلك على الأقل فيما يخص الشكل الصلب من الهيروين غير المشروع. ووجود المورفين بكميات كبيرة في المواد المضبوطة حديثا هو على الأرجح دليلا على رداءة الصنع.

وهناك أهمية خاصة لظهور المركبات التالية نتيجة للتحليل المختبري لشتى العينات البيولوجية للعثور على الهيروين أو الأفيونيات ذات الصلة كالمورفين والكوديين (لمعرفة التركيبات انظر الشكل الثاني-١):

هيروين (مورفين ثنائي الأسيتل DAM)

مورفين

O^6 مورفين أحادي الأسيتل (MAM)

كوديين

أسيتل كوديين

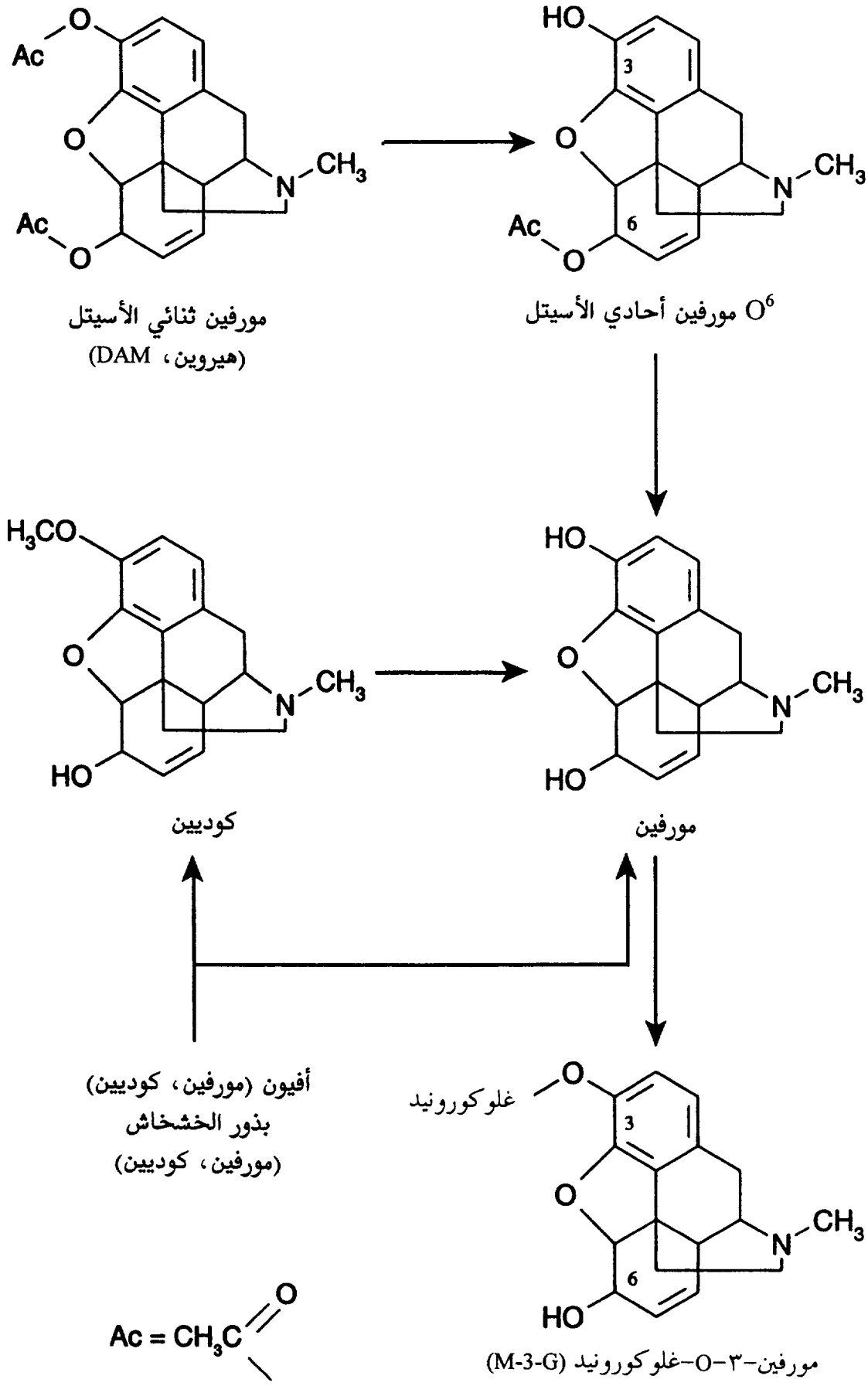
علاوة على ذلك فإن وجود شتى غلوكورونيدات المورفين-O (morphine-O-glucuronides) (انظر الشكل الثاني-١) أهمية كبرى للمحلل، وذلك لأن الجزء الأعظم من الهيروين يبرز في البول كمورفين متحد على هيئة:

غلوكورونيد المورفين-٣-O (Morphine-3-O-glucuronide) (M-3-G)

غلوكورونيد المورفين-٦-O (Morphine-6-O-glucuronide) (M-6-G)

غلوكورونيد المورفين-٣،٦-O (Morphine-3,6-O-diglucuronide).

الشكل الثاني–١ مسلك أيض الأفيونيات



مورفين ثنائي الأسيتل
(هيروين، DAM)

مورفين أحادي الأسيتل O^6

كوديين

مورفين

أفيون (مورفين، كوديين)
بذور الخشخاش
(مورفين، كوديين)

غلوكورونيد

مورفين–٣–O–غلوكورونيد (M-3-G)

٤ - طرق التعاطي

يتم تعاطي الهيروين بعدة طرق تتضمن الاستنشاق أو الجرع بدفعة واحدة، التدخين، الحقن تحت الجلد، والحقن الوريدي. وفي حالة التعاطي بالحقن، يذاب المسحوق في الماء أولا، وغالبا بمساعدة التسخين وبإضافة الأحماض.

٥ - الأيض والإبراز

يفقد الهيروين الأسيتل بسرعة بعد تعاطيه ليتحول إلى O^6 مورفين أحادي الأسيتل (MAM) [١٥، ١٦]، الذي يتحلل مائيا فيما بعد ليتحول إلى مورفين ولكن بسرعة أبطأ. ويوضح الشكل الثاني-١ مسالك الأيض. وأهم أيضات الهيروين التي يمكن العثور عليها في البول بعد مرور ٢٠-٤٠ ساعة بعد الحقن الوريدي هي M-3-G (٣٨,٢٪ من الجرعة)، والمورفين الحر (٤,٢٪)، و(MAM) (١,٣٪) وهيروين غير متأيض (٠,١٪). ويمكن أيضا العثور على غلوكورونيدات المورفين الأخرى وعلى النورمورفين [١٧] كأيضات ثانوية للهيروين. وقد عثر على الكوديين غالبا في بول الأشخاص الذين يتعاطون الهيروين بصورة غير مشروعة ولكنه ليس من أيضات الهيروين، وإنما يوجد بالأحرى نتيجة لزوال الأسيتل من الأسيتل كوديين الذي يوجد غالبا كمادة شائبة في الهيروين غير المشروع.

وقد يبلغ تركيز المورفين في البول بعد تناوله لأغراض علاجية زهاء ١٠ ميكروغرام في كل مل، بينا يبلغ تركيزات أعلى بكثير عند الوفاة بسبب تعاطي جرعات مفرطة من الهيروين، حيث سجلت إحدى الحالات، على سبيل المثال، نسبة ٨٦ ميكروغرام/مل [١٨]. كما يبرز المورفين (والكوديين) في البول بعد تناول بذور الخشخاش [١٩].

والكشف المباشر للهيروين في سوائل جسم الإنسان ليس أمرا عمليا، وذلك لسرعة أيضه (عمر النصف ٢-٣ دقائق [١٨]). ويجري ذلك عادة بتحليل المورفين، وهو أهم أيضات الهيروين في البول. ويمكن التثبت أيضا من تعاطي الهيروين بتحديد وجود (MAM) في البول، ولكن هذه الأيضة المعينة لا يمكن كشفها إلا في غضون فترة وجيزة بعد استهلاك الهيروين (مدة الكشف: ٢-٨ ساعات [١٩])، وذلك لأنها تتأيض بسرعة نسبيا لتتحول إلى المورفين (عمر النصف ٠,٦ ساعة [١٩]). ويستلزم الكشف عن (MAM) إجراءً للاستخلاص وأجهزة أكثر تعقدا، وهو أمر غير ضروري في معظم الأحيان.

باء - إجراءات أخذ العينات وتحضيرها لتحليل أيضات الهيروين

تطبق الإجراءات العامة لأخذ العينات الموضحة في الفصل الأول-جيم وزاي-٥.

١ - تحضير العينة للتحليل المناعي

لا تستلزم التحليلات المناعية عموما أي تحضير للعينة، أو قد تستلزم تحضيرا بسيطا أحيانا (راجع أيضا الفصل الأول-زاي-٥). ولا يلزم تحليل عينات البول مائيا لأن التحليلات المناعية تتيح قياس الأشكال الحرة والمتحدة على السواء من العقار و/أو الأيضات. ولربما يلزم

تعديل الرقم الهيدروجيني أو إجراء عملية الطرد المركزي للبول لإزالة العكر. وينبغي اتباع توجيهات صانع الأدوات بغية تحقيق أفضل النتائج.

٢ - *تحضير العينة للكروماتوغرافيا*

يتوقف حجم البول اللازم للتحليل على التقنية الكروماتوغرافية المتبعة. والحجم الموصى به لكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة وكروماتوغرافيا الغاز بطريقة العمود المعبأ هو ١٠مل، أما الحجم الموصى به للتقنيات الكروماتوغرافية الأخرى فهو ٥ مل.

(أ) التحليل المائي

التحليل المائي الحمضي

في أنبوب اختبار من سعة ٥٠ مل، يضاف مل واحد من حمض الهيدروكلوريك إلى ١٠ مل من البول، يسد الأنبوب سدا خفيفا ويحضن في حمام مائي بدرجة ١٠٠°م لمدة ٦٠ دقيقة تقريبا.

التحليل المائي الأنزيمي

يعدل الرقم الهيدروجيني لعينة البول (٥-١٠ مل) إلى pH ٧ بإضافة حمض الخليك إن كانت العينة قاعدية. ثم يضاف ٠,١ مل من منظم خلات الصوديوم - حمض الخليك ٠,١ مول (pH ٥,٥) و ٠,٠٢ مل من بيتا - غلوكورونيديز (β-glucuronidase) (٧٥ وحدة/مل) لكل مل من البول. يحضن لمدة ٢٤ ساعة بدرجة حرارة ٣٧°م أو لمدة ساعة واحدة بدرجة ٥٥°م. ويجب التأكد من عدم تجاوز درجة الحرارة لـ ٥٥°م لتجنب إفساد الإنزيم. ثم يستخلص المورفين بالطريقة المشروحة أدناه.

تحذير

قد يؤدي التحليل المائي الحمضي أو الأنزيمي إلى إزالة الاسيتل من (MAM) وتحوله إلى مورفين.

(ب) الاستخلاص

السائل - السائل

يعدل الرقم الهيدروجين للبول إلى ٨,٥-٩ ويستخلص مع ضعف حجمه من أي من المذيبات العضوية التالية:

كلوروفورم - إيزوبروبانول (٩:١ حجم/حجم)

ميثان ثنائي الكلور - إيزوبروبانول (٩:١ حجم/حجم)

خلات الأثيل

وينبغي العمل بعناية للسماح للطبقة المائية بأن تنفصل تماما عن طبقة المذيب قبل سحب الخلاصة بغية تجنب الاحتفاظ بأي كمية من الماء. وإن نشأت مشكلة تكوّن المستحلبات يمكن استخدام ورق الترشيح المعالج بالسيليكون (ورق فاصل للطبقات) لترشيح الخلاصة؛ ويحلّ

المستحلب بالموجات الصوتيـة. وعنـد الحاجـة إلى خلاصـة أنظـف، يعـاد اسـتخلاص المحلـول العضوي مع ٦ مل من حمض الهيدروكلوريك ٠,٥ مول. ثم يجري التخلص من الطبقـة العضويـة ويعدل المحلول المائي إلى pH ٨,٥–٩. ثم يعاد الاستخلاص بأحد المذيبات المذكورة أعلاه. تفصل الطبقات العضوية وتمزج ثم يرشح المحلول عبر كمية صغـيرة مـن كبريتـات الصوديـوم الجافـة، يغسل المرشح بـ ٥ مل من الطور العضوي. يركز المحلول إلى نحو ١–٢ مل ويبخر مـا تبقـى مـن المذيب إلى الجفاف تحت تيار من النيتروجين. تعاد إذابـة الفضالـة في ٠,١ مـل مـن الميثـانول أو الميثانول – كلوروفورم (٩ : ١) لإجراء تحليل كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة أو كروماتوغرافيا الغاز.

الطور الصلب

يمكن، عند توافر المرافق اللازمة، إجراء عمليـة اسـتخلاص السـائل المدعـم بالسـيليت [٢٠]. ويوصى أيضا باتباع طريقة استخلاص الطور الصلب باستخدام سيليكا C-18 [٢١].

تغسل الأعمدة قبل استخدامها بـ ٥ مل من الميثـانول، و ٣ مـل مـن المـاء المقطّـر ومـل واحد من منظم البوراكس ٠,٠٥ مول (٩ pH). تمـزج عينـة البـول (١ مـل) مـع ٥٠ مـل (= ٥٠ نانوغرام) من عيار نالورفين الداخلي ومليلتر واحد من المنظم (٩ pH) وينقـل إلى عمـود السـيليكا C-18. يغسل العمود بـ ١٠٠ مل من الميثانول المائي ٨٠٪، ثم يشطف المورفـين بنصـف مـل مـن الميثانول.

(ج) العيارات الداخلية

ينبغي للعيارات الداخلية إن تطـابق الشـروط المبينـة في الفصـل الأول–زاي–٦. ويكـون النالورفين مناسبا لكروماتوغرافيا الغاز. أما لكروماتوغرافيا الغاز/القياس الطيفي الكتلي فالعيـارات الداخلية المفضلة هـي نظـائر المورفـين أو المركبـات ذات الصلـة المعلمّـة بـالديوتريوم. وعنـد عـدم توافرها ينبغي استخدام أحد عيارات كروماتوغرافيا الغاز المبينة أعلاه. والعيار الداخلي المناسـب لكروماتوغرافيا السائل العالية الأداء هو (*l*-α-acetylmethadol . HCl).

(د) عيارات التدريج

يحضر لكروماتوغرافيا الغاز محلولان مركزان أصليان منفصلان من المورفـين والنـالورفين في الميثانول بتركيز ١ ملغم/مل. يحضر من هذين المحلولين الأصليين عـدد مـن عيـارات التدريـج المائية التي تحتوي على المورفين بدرجات من صفـر إلى ١٠ ميكروغـرام/مـل و ٥ ميكروغـرام/مـل نالورفين.

وتحضـر لكروماتوغرافيـا السـائل العاليـة الأداء محـاليل مركـزة أصليـة مـن -α-*l* acetylmethadol . HCl، و DAM، و MAM، والمورفـين بـتركيز ١ ملغـم/مـل مـن الميثـانول. وتخـزن هـذه المحـاليل في الثلاجـة. وتحضـر عيـارات التدريـج بتخفيـف المحـاليل الأصليـة بالميثانول–أسيتونيتريل (٢٠ : ٨٠ حجم/حجم).

جيم – طرائق الفحص الأولي

١ – طرائق التحليل المناعي

يوصى باستخدام التحليلات المناعية لإجراء الفحص الأولي عندما يتيسر للمختبرات الحصول على هذه التقنيات. ويوصى باتباع طرائق التحليل المناعي الإشعاعي، والتحليل المناعي الأنزيمي، والتحليل المناعي بالاستقطاب الفلوري، ومنع تلازن اللثى. وتكون الأجسام المضادة في معدات التحليلات المناعية المتاحة تجاريا موجهة نحو المورفين ولكنها قد تتفاعل تبادليا مع أفيونيات أخرى [٢٢]. ويورد الجدول الثاني–١ موجزا للتفاعلات التبادلية لبعض التحليلات التجارية.

الجدول الثاني–١ التفاعلات التبادلية للتحليلات المناعية التجارية للأفيون

	التفاعلية التبادلية (٪)			
التحليل	المورفين	MAM	M-3-G	الكودايين
Coat-A-Count	٨٤ (٣٠٠)[أ،ب]	صفر (١٠٠)	١ (٦١٨)	٠,١ (٦٠٠)
Aburscreen-RIA	٨٥ (٣٠٠)[أ،ب]	١٥ (١٠٠)	٥٢ (٦١٨)	١٩٨ (٣٠٠)
EMIT-d.a.u.	٨٦ (٣٠٠)[أ،ب]	١٦ (١٠٠)	٤٥ (٦١٨)	٣٣٠ (٣٠٠)
FPIA-TDx	٩٠ (٣٠٠)[أ،ب]	٩٣ (٥٠)	٦٤ (١٨٥)	١١١ (٣٠٠)
Abuscreen-Ontrak	١٠٠ (٣٠٠)[ج،د]	—	٨٦ (٣٥٠)	١٧١ (١٧٥)
Abuscreen-Online	١٠٠ (٣٠٠)[ج،د]	٩٧ (٣١١)	٦٢ (٤٨٠)	١٣٤ (٢٥٥)

[أ] التفاعلية التبادلية الظاهرة محسوبة بقسمة التركيز الظاهر على التركيز المستهدف وضرب الحاصل في ١٠٠ (الرقم بين القوسين هو التركيز الذي حددت فيه التفاعلية التبادلية، نانوغرام/مل).

[ب] انظر Edwards [١٤].

[ج] التفاعلية التبادلية الظاهرة محسوبة بقسمة التركيز المستهدف (٣٠٠ نانوغرام/مل) على التركيز المكافئ لـ ٣٠٠ نانوغرام/مل من المورفين وضرب الحاصل في ١٠٠ (التركيز المكافئ بين القوسين، نانوغرام/مل).

[د] معلومات مصدرها الصانع.

٢ – كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة

تقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة القياسية

ترد في دليل الأمم المتحدة "الطرائق الموصى بها لاختبار الأفيون/المورفين الخام [٨] تفاصيل مواد كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة وإجراءاتها وهي تنطبق على تحليل الخلاصات البيولوجية للكشف عن المورفين.

صفائح كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة

الطلاء: جلّ السيليكا المنشط « G ». ويمكن أيضا استخدام جلّ السيليكا الذي يحتوي على مادة مضافة تتفلور في الضوء فوق البنفسجي، الطول الموجي ٢٥٤ نانومتر.

سمك الطبقة: ٠,٢٥ ملم

حجم الصفائح: صفائح زجاجية ٢٠ × ٢٠سم، ٢٠ × ١٠سم، أو ١٠ × ٥سم. ويبلغ الجريان الأقصى ١٠سم تقريبا.

المحاليل العيارية

المورفين.
الكوديين.
تحضر جميع المحاليل العيارية بتركيز ١ ملغم/مل في الميثانول ويضاف ٥–١٠ ميكرولتر من كل محلول للصفيحة. ويمكن استخدام ملح أو قاعدة بالنظر إلى أن المركبات تتحرك دائما على صفائح كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة كقواعد حرة.

الإجراء

يبقّع ٥٠ ميكرولتر من الخلاصة في ٢٥ بقعة (انظر الفصل الثاني–باء–د) على الصفيحة التي يجري تظهيرها فيما بعد بأحد النظم المذيبة المبينة أدناه.

مذيبات التظهير [٢٣،٨]

النظام ألف:	توليوين	٤٥
	أسيتون	٤٥
	ايثانول	٧
	محلول النشادر المركز	٣
النظام باء:	خلات الأثيل	٨٥
	ميثانول	١٠
	محلول النشادر المركز	٥

الفحص البصري

يجب تجفيف الصفائح قبل فحصها بصريا. ويمكن القيام بذلك في درجة الحرارة الاعتيادية، أو لغرض السرعة، في فرن بدرجة حرارة ١٢٠°م لمدة ١٠ دقائق، أو باستخدام مروحة هواء ساخن. ومن أجل إجراء التظهير اللوني الصحيح، لا بد من إزالة جميع آثار النشادر أو غيرها من القواعد من الصفيحة. ويوصى باتباع طرائق الفحص البصري التالية [٧، ٨، ٢٤]:

ضوء فوق بنفسجي بطول موجي ٢٥٤ نانومتر.

كاشف دراجندورف.

يمزج غرامان من نترات البزموث الأوكسيجينية (bismuth oxynitrate) مع ٢٥ مل من حمض الخليك (الجليدي) المركز و ١٠٠ مل من الماء لإنتاج المحلول ألف؛ يذاب ٤٠ غراما من يوديد البوتاسيوم في ١٠٠ مل من الماء لإنتاج المحلول باء. يمزج ١٠ مل من المحلول ألف، و ١٠ مل من المحلول باء، و ٢٠ مل من حمض الخليك (الجليدي) المركز و ١٠٠ مل من الماء لإنتاج كاشف دراجندورف.

كاشف يودوبلاتينات البوتاسيوم المحمض.

يذاب ٠,٢٥ غرام من كلوريد البلاتينيك و ٥ غرام من يوديد البوتاسيوم في الماء لغاية ١٠٠ مل. وهذا هو كاشف يودوبلاتينات البوتاسيوم. للحصول على الصيغة المحمضة، يضاف ٢ مل من حمض الهيدروكلوريك المركز.

كاشف الفلورة [٢٤].

(١) منظم AMP: يضاف ١٠٥ ملغم من ٢-أمينو-٢- ميثل-١،٣- بروبانيديول (2-amino-2-methyl-1,3-propanediol) إلى ١٨,٨ مل من حمض الهيدروكلوريك المركز ويخفف بالماء إلى ١٠٠٠ مل (pH ٩,٣ ± ٠,٢).

(٢) محلول سيانيد البوتاسيوم الحديدكي (Potassium ferricyanide): يذاب ٥٨ ملغم من سيانيد البوتاسيوم الحديدكي في ١٠٠ مل من الماء المقطر ويحفظ في الثلاجة (يحضر محلول جديد بعد مرور أسبوع واحد).

تلاحظ الصفيحة أولا في ضوء فوق بنفسجي. ويعطي المورفين بقعا برتقالية اللون على خلفية صفراء مع كاشف دراجندورف، وبقعا زرقاء إلى قرمزية عند رشّه بكاشف اليودوبلاتينات، ويتفلور مع كاشف الفلورة في الضوء فوق البنفسجي.

النتائج

الجدول الثاني-٢ قيم $R_f \times ١٠٠$ [٨]

المركب	نظام التظهير	
	ألف	باء
المورفين	١٩	٢٠
الكوديين	٤٠	٣٥

دال - طرائق التثبت الكروماتوغرافية

١ - كروماتوغرافيا الغاز

(أ) اشتقاق العينة

اشتقاق السيليل

تبخر خلاصة البول حتى الجفاف تحت تيار من النتروجين وتستخلص الفضالة مع ٢٠ ميكرولتر من (*N,O-bis*-trimethylsilyltrifluoroacetamide) (BSTFA) أو (*N,O-bis*-trimethylsilylacetamide) (BSA) في قارورة زجاجية مغلقة بالتسخين إلى ٨٥°م لمدة ١٥ دقيقة. ويمكن، كطريقة بديلة، الاستعاضة عن معاملي اشتقاق السيليل النقيين باستخدام مزيج من معامل اشتقاق السيليل والبيريدين (١ : ١، حجم/حجم). ويحقن المزيج مباشرة في الكروماتوغراف.

في حالة استخدام كاشف نيتروجيني- فوسفوري (NPD)، يمكن إجراء عملية اشتقاق السيليل باستخدام معامل متطاير لاشتقاق السيليل مثل (*N*-methyl-*N*-trimethylsilyltrifluoroacetamide) (MSTFA) أو مزيج من (hexa-methyldisilasane) (HMDS)، و trimethylchlorosilane (TMCS)، والبيريدين. ويمكن تبخير الخلاصة المشتقة حتى الجفاف وإعادة تكوين العينة في مذيب جاف مثل التوليوين قبل حقن (١-٢ ميكرولتر) في عمود كروماتوغرافيا الغاز.

وينبغي تحضير المشتقات قبل التحليل بفترة وجيزة لأن مشتقات السيليل ليست ثابتة.

اشتقاق الأسيل

يضاف ٥٠ ميكرولتر من أندريد خماسي فلوروبروبيونيك (pentafluoropropionic anhydride) (PFPA) إلى خلاصة البول ويسخن المزيج لمدة ٣٠ دقيقة بدرجة ٦٥°م في أنبوب محكم السداد. يبخر فائض معامل PFPA بواسطة تيار من النيتروجين ويعاد تكوين الفضالة مع ٥٠ ميكرولتر من خلات الأثيل. وتبقى المشتقات ثابتة في هذا الكاشف لعدة أشهر، ولمدة ٢٤ ساعة على الأقل بعد تبخير الكاشف.

(ب) تقنية العمود المعبأ [٨]

ظروف العمل

الكاشف: كاشف التأين الفلوري

ملحوظة: *لتحسين الحساسية والخصوصية، يوصى باستخدام كاشف نتروجيني - فوسفوري (NPD): وينبغي أن تتطابق برامترات العمل مع توصيات المنتج. كما ينبغي اختيار إجراءات تحضير العينة واشتقاقها بتجنب المذيبات والكواشف التي تحتوي على النيتروجين في المحلول النهائي الذي يحقن في الكروماتوغراف.*

العمود: ٢ م × قطر داخلي ٢-٤ ملم.

التعبئة: (أ) سيليكون ثنائي الميثل (SE-30, OV-1)

(ب) فنيل مثيل سيليكون، ٥٠٪ فنيل (OV-17)

الغاز الحامل: نيتروجين بمعدل ٧٠ مل/دقيقة

درجات حرارة العمل: الحاقن: ٢٧٥°م

الفرن: ٢٣٠°م

الكاشف: ٢٧٥°م

ملحوظة: *ينبغي تكييف جميع الأعمدة المعبأة قبل استخدامها. وتكون درجة حرارة التكييف عادة أعلى بـ ٣٠°م على الأقل من درجة الحرارة التي سيجرى فيها التحليل، ما لم يؤدي هذا إلى تجاوز الحد الأعلى لدرجة حرارة العمود التي يحددها الصانع. وفي هذه الحالة يتبع تباين أصغر في درجة الحرارة ويجري تمديد فترة التكييف تمديدا ملموسا. وتكيّف الأعمدة عموما طوال الليل، أو لمدة لا تقل عن ١٥ ساعة.*

يجري التكييف باستعمال التدفق العادي للغاز الحامل على أن يفصل العمود عن الكاشف.

ملحوظة:

- تعالج الأعمدة الزجاجية بالسيلان في فترات متكررة لتجنب امتزاز المورفين أثناء تحليلات كروماتوغرافيا الغاز.
- ينظف منفذ الحقن والكاشف بانتظام لتجنب تحلّل العينات وفقدان حساسية الكاشف.
- يجب التحذر عند مناولة معاملات اشتقاق السيليل، فهي شديدة التفاعلية وحساسة للرطوبة.

(ج) تقنية عمود ميغابور (Megabore)

ظروف العمل

الكاشف: (FID)

العمود: عمود سيليكا منصهرة، ١٠م × قطر داخلي ٠,٥٣ ملم مع طور ثابت ٢,٦ ميكرون من السيليكون ثنائي المثيل المترابط كيميائيا، مثال ذلك OV-1

الغاز الحامل: هيليوم بمعدل ٢٥ مل/دقيقة

درجات حرارة العمل: الحاقن: ٢٨٠°م

الفرن: ٢٦٠°م

الكاشف: ٣٠٠°م

ملحوظة: *يرد شرح إجراء مناسب آخر لطريقة العمود الشعري في دليل الأمم المتحدة عن الطرائق الموصى بها لاختبار الأفيون/المورفين الخام [٨]. وقد تتباين أبعاد العمود الشعري، والطور الثابت، وسمك الطور، والغاز الحامل، ومعدل التدفق مع القيم المبينة أعلاه وذلك وفقا لتوافر المواد. بيد أنه يمكن عموما تطبيق عمود غير مستقطب لتحليل العينات البيولوجية ويوصى باستخدامه. وينبغي اختيار شروط العمل المثلى وفقا لتوصيات المجهز.*

٢ - *كروماتوغرافيا الغاز - القياس الطيفي الكتلي*

(أ) التحليل النوعي

ظروف العمل

العمود: سيليكا منصهرة، ٢٥ م × قطر داخلي ٠,٣١ ملم مع طور ثابت ٠,١٧ ميكرون متقاطع الترابط من ٥٪ سيليكون ثنائي المثيل

الغاز الحامل: هيليوم بمعدل ١,٨ مل/دقيقة

درجات حرارة العمل: الحاقن: ٢٨٠°م

الفرن: ٢٣٠°م

التأين: EI mode at 75 eV

يورد الجدول الثاني-٣ أدناه الأيونات الرئيسية في أطياف كتلة المورفين، و MAM، والكوديين، والعيارات الداخلية (TMS، مشتقات TFA، SIM)

الجدول الثاني–٣ الأيونات الرئيسية في أطياف كتلة المورفين، و MAM، والكوديين، والعيارات الداخلية (TMS، مشتقات TFA، SIM)

المركب	*الأيونات الشظوية الرئيسية m/z*
مورفين – ثنائي TMS	٤١٤، ٤٢٩
نالورفين – ثنائي TMS	٤٤١، ٤٥٥
مورفين – ثنائي TFA	٣٦٤، ٤٧٧
d_3 – مورفين – ثنائي TFA	٣٦٧، ٤٨٠
MAM-TFA	٣١١، ٣٦٤، ٤٢٣
D_3-MAM-TFA	٣٦٧، ٤٢٦
كوديين – TFA	٢٨٢، ٣٩٥
d_3 – كوديين – TFA	٢٨٥، ٣٩٨

(أ) التحليل الكمي [٢٥]

ظروف العمل

العمود: سيليكا منصهرة، ١٢ متر × قطر داخلي ٠,٢ ملم مع طور ثابت ٠,٣٣ ميكرون متقاطع الترابط من ١٠٠٪ ثنائي مثيل بولي سيلوكزان

الغاز الحامل: هيليوم بمعدل ١,٩ مل/دقيقة

درجات حرارة العمل: الحاقن: ٢٥٠°م

الفرن: ١٥٠–٣٠٠°م بمعدل ١٢°م/دقيقة

تقنية الحقن: لا انشطاري

التأين: صدم إلكتروني (EI mode at 75 eV)

الأيونات: SIM، مشتقات TFA (انظر الجدول الثاني–٣ أعلاه)

الحساب الكمي

تدرّج منفرد الدرجة باستخدام نسب أيونات المواد المحللة وما يقابلها من العيارات الداخلية المعلمة بالديوتريوم. كوديين ٣٩٨/٣٩٥؛ مورفين ٣٦٧/٣٦٤؛ MAM ٤٢٦/٤٢٣.

الاستخلاص

يعدل الرقم الهيدروجيني لمليلتر واحد من البول إلى pH ٧ بإضافة ٣ مل من منظم ذي pH ٧. يضاف ١٠٠ ميكرولتر من محلول ١ ملغم/مل من d_3 – كوديين، و d_3 – مورفين، و d_3-MAM ويرج المزيج في دوامة. يمرر البول عبر عمود SPE (Bond-Elut Certify) جرى تكييفه مع ٣ مل من الميثانول و ٣ مل من الماء المقطر. ويغسل العمود على التعاقب بـ ٣ مل من الماء، و ٣ مل من منظم خلات الصوديوم ٠,١ مول (pH ٤,٥)، و ٣ مل من الميثانول. وبعد تجفيف العمود (١–٢ دقيقة في الفراغ) تشطف المواد المحللة مع ٣ مل من الميثان ثنائي الكلور – ايسوبروبانول – نشادر مركز dichloromethane-isopropanol-conc. ammonia (٨٠:٢٠:٢) (حديث التحضير).

الاشتقاق

مشتقات TFA: يعاد تكوين فضالة مادة الشطف المبخرة (N_2، ٥٠–٦٠°م) مع ٢٠٠ ميكرولتر من الكلوروفورم و ١٠٠ ميكرولتر من اندريد تريفلورو أستيك trifluoroacetic (TFAA) anhydride، ويمزج في دوامة ويسخن المزيج بدرجة ٧٠°م لمدة ١٥ دقيقة. ثم يبرّد المزيج ويبخر حتى الجفاف (N_2، ٥٠–٦٠°م) وتعاد إذابة الفضالة في ١٠٠ مل من الكلوروفورم وتحقن عينة مقدارها ٢ ميكرولتر في كروماتوغرافيا الغاز/القياس الطيفي الكتلي.

٣ – *كروماتوغرافيا السائل العالية الأداء*

هناك العديد من المنشورات التي تتناول طرائق تحليل المورفين باستخدام كروماتوغرافيا السوائل العالية الأداء، وهي تشرح شتى تقنيات الكشف مثل الامتصاص والفلورة بالضوء فوق البنفسجي. ومن مساوئ بعض هذه التقنيات حساسيتها القليلة وطريقة تحضير العينات المضجرة. ويمثل الكشف الكهروكيميائي بديلا أكثر حساسية وعملية. وفيما يلي شرح لطريقتين من الطرائق.

ظروف العمل

الطريقة ألف [١٦]

العمود:	سيليكا، (LiChrosorb Si-60 أو ما يكافئه)، ٥ ميكرون، ٣٠سم × قطر داخلي ٤ ملم.
الطور المتحرك:	استيونيتريل – ميثانول – محلول ألف – محلول باء (٧٥: ٢٥: ٠,٠٤: ٠,٢١٦، حجم/حجم/حجم/ حجم)
	محلول ألف: مزيج من النشادر المركز والميثانول (١: ٢، حجم/حجم)
	محلول باء: مزيج من حمض الخليك الجليدي والميثانول (١: ١، حجم/حجم)
معدل التدفق:	١,٣ مل/دقيقة
الكشف:	ضوء فوق بنفسجي بطول موجي ٢١٨ نانومتر

الطريقة باء [٢٦، ٢٧]

العمود:	أوكتاديسيل سيليكا الطور المعكوس، ٥ ميكرون، ٢٥سم × قطر داخلي ٤,٦ ملم.
الطور المتحرك:	١٠٠ مل من اسيتونيتريل و ٩٠٠ مل من منظم بركلورات الصوديوم ٠,٢ مول/سيترات الصوديوم ٠,٠٠٥ مول (يرشح قبل الاستعمال بمرشح غشائي سمك ٠,٥ ميكرون)
معدل التدفق:	١,٩ مل/دقيقة
الكشف:	كشف كهروكيميائي (ECD)، الكترود كربون زجاجي.

ملحوظة: *لتحديد مورفين -٣-O- غلوكورونيد (M-3-G) ومورفين -٦-O- غلوكورونيد (M-6-G) في البول بطريقة كروماتوغرافيا السائل العالية الأداء وبالكشف الكهروكيميائي أو فوق البنفسجي، يشار إلى ذلك في موضع آخر [٢٨، ٢٩].*

هاء – تحليل المورفين أحادي الاسيتل بكروماتوغرافيا الغاز/القياس الطيفي للكتلة كدليل على تعاطي الهيروين

تتوافر عدة طرائق لكروماتوغرافيا الغاز/القياس الطيفي الكتلي للكشف عن و/أو التحديد الكمي لكميات من النانوغرامات من O^6 المورفين أحادي الاسيتل -O^6 (MAM) monoacetylmorphine في عينات البول المأخوذة من متعاطي الهيروين. وفي إحدى هذه الطرائق [٣٠] يستند كشف MAM إلى استخلاص الطور الصلب من البول في رقم هيدروجيني قاعدي باستخدام عمود أوكتاديسيل والتحول اللاحق إلى مشتق خماسي فلوروبروبيونيل (PFP) (pentafluoropropionyl). ويفصل المورفين أحادي الاسيتل– خماسي فلوروبروبيونيل ويجري تحديده بكروماتوغرافيا الغاز/القياس الطيفي الكتلي في نمط الرصد الأيوني المختار (SIM) باستخدام النالورفين أو d_3 – مورفين كعيارين داخليين. ويرد في الفصل الثاني– دال–٢ شرح لطريقة أخرى بكروماتوغرافيا الغاز/القياس الطيفي الكتلي [٢٥] باستعمال مشتقات (TFA) والرصد الأيوني المختار (SIM). ويمكن الاستفادة من النتيجة الموجبة لوجود MAM في التمييز بين تعاطي الهيروين وبين تعاطي المورفين، أو الكوديين، أو الأفيون، أو بذور الخشخاش.

١ – تحضير العينة واستخلاصها

ملحوظة: *يجب تجنب تحليل عينات البول مائيا قبل التحليل لأن كلا التحليلين المائيين الحمضي والأنزيمي يمكن أن يؤديا إلى تحلل MAM مائيا إلى مورفين.*

يضاف ملليلتر واحد من محلول منظم (pH ٩) إلى ١٠ مل من البول في أنبوب الطرد المركزي من سعة ٢٥ مل ويجري التأكد من الرقم الهيدروجيني بين ٨ و ٩. يستعمل عمود من نوع (A C-18 SPE) ويجري تكييفه بغسله على التعاقب بـ ٥ مل من الميثانول و ٥ مل من الماء المقطر. تمرر عينة البول عبر العمود.

يغسل العمود مرتين بالماء المقطر. تضاف قطرة من محلول النشادر المركز ويغسل العمود مرة أخرى بالماء المقطر. يجفف العمود بسحب الهواء عبره (٥ دقائق). يستعاد MAM والمورفين بشطف العمود مرتين مع ٠,٧٥ مل من الميثان ثنائي الكلور – الاسيتون (١ : ١، حجم/حجم). تبخر المادة المشطوفة في أنبوبة اختبار من سعة ٢ مل بدرجة ٦٠ مئوية. تذاب الفضالة في ١٠٠ مل من الميثان ثنائي الكلور – الاسيتون (١ : ١، حجم/حجم) وينقل المحلول إلى أنبوب اختبار من سعة ١,٥ مل. يبخر تحت تيار خفيف من النيتروجين في ٦٥°م.

يضاف ٥٠ ميكرولتر من (PFPA). يحفظ المزيج لمدة ٣٠ دقيقة في أنبوب محكم السداد في ٦٥°م. يبخر فائض كاشف (PFPA) بواسطة تيار نتروجيني. يعاد تكوين الفضالة

مع ٥٠ ميكرولتر من خلات الأثيل. يحقن ميكرولتر واحد في كروماتوغرافيا الغاز/القياس الطيفي الكتلي.

ويرد في موضع آخر شرح تقنية بديلة باستخدام استخلاص المذيب البسيط [٣١].

٢ - *ظروف العمل*

تنطبق هنا ظروف العمل المبينة آنفا (الفصل الثاني-دال-٢). وللكشف عن مشتقات PFP للمورفين، والكوديين، و MAM يجري رصد الأيونات التالية: m/z ٣٦١ و ٤١٤ و ٤٤٥ و ٤٧٣ و ٥٧٧. ويستعمل الأيون m/z ٦٠٣ للعيار الداخلي.

واو - *تفسير النتائج*

تدل النتيجة الموجبة لاختبار التحليل المناعي الأولي على وجود مادة أفيونية في البول في مستوى أعلى أو مساو لمستوى الفصل وينبغي التثبت من ذلك بطريقة حساسة ولكن أكثر خصوصية من الاختبار الأولي. ويتوقف احتفاظ الجسم بالأفيونات والتركيز الفعلي للعقار في البول على عدد من العوامل مثل أيض العقار، والحالة البدنية للشخص، وتناول السوائل، وأسلوب تناول العقار. وباتباع النهج المبين أعلاه، يمكن عموما الشكف عن الأفيونيات في البول لغاية ثلاثة أيام بعد تناولها.

وبالنظر إلى أن مسالك الأيض واحدة لكل من الهيروين والأفيون والكوديين أو حتى المورفين نفسه، فإن جميع هذه المركبات يمكن أن تكون مصدرا للمورفين وللمورفين -٣- غلوكورونيد في البول. وهناك، علاوة على ذلك، أفيونيات أخرى مثل الاثيل مورفين والفولكودين والنيكومورفين التي يمكن أن تكون أيضا مصدرا للمورفين [١٨]. لذا فوجود المورفين في البول لا يبين بحد ذاته أيّ من الأفيونيات تم استهلاكه.

وعندما تؤدي النتائج التحليلية إلى التشكك بشأن مصدر المورفين، يمكن الحصول على معلومات أكثر دقة عن العقار الذي تم تناوله بواسطة الكشف عن و/أو الحساب الكمّي للمركب الأصلي ومن أسلوب إبراز الأيضات الهامة الأخرى. فكشف MAM ، على سبيل المثال، يمكن أن يعتبر برهانا على استهلاك الهيروين [١٩، ٣٠، ٣٢].

أما في حالة الكوديين، فعلى الرغم من أنه إلى حدّ ما لا يتأيض، فمن المسلم به عموما أنه إذا كانت نسبة الكوديين الكلي إلى المورفين الكلي تقل عن النصف، وإن كان تركيز المورفين الكلي في البول أكثر من ٢٠٠ نانوغرام/مل، فإنه يمكن استبعاد الكوديين كمصدر للمورفين الموجود في البول [٣٣، ٣٤].

ثالثا - الطرائق الموصى بها للكشف عن منتجات القنب وتحليلها في العينات البيولوجية

ألف - إنتاج منتجات القنب غير المشروعة [٩]

١ - المنتجات العشبية (الماريجوانا)

القنب *(Cannabis sativa L.)* نبات واسع الانتشار في مناطق العالم المعتدلة والاستوائية، وقد أبلغت معظم بلدانها عن زراعة غير مشروعة واتجار غير مشروع بالمنتجات العشبية. وتجري زراعة واسعة النطاق بصورة غير مشروعة لنبات القنب في أمريكا الشمالية والجنوبية، والكاريبي، وأفريقيا، وجنوب شرق آسيا. ويتباين شكل المادة العشبية في الاتجار غير المشروع بين منطقة وأخرى، ولكنه يتباين أيضا ما بين بلدان المنطقة الواحدة.

والاعتقاد التقليدي السائد هو أن أوراق نبات القنب وأطرافه المثمرة والمزهرة هي أجزاء النبات الوحيدة التي تحتوي على كميات كبيرة من المكونات ذات التأثير النفسي (كمادة تتراهيدروكنابينول)، وهي تعرف بـ "الأجزاء المحتوية على العقار"، وهي عموما الأجزاء الوحيدة من النبات التي تباع منه في الاتجار غير المشروع. ويمكن انتزاع هذه الأجزاء من النبات دون أن يؤثر ذلك على نموه. ولا يقتطع ساق النبات المحوري ولا سيقانه الجانبية الرئيسية، وهي لا تلعب أي دور في إنتاج منتجات القنب غير المشروعة. وقد يزال النبات بأكمله أحيانا بقطع الساق الأساسي في أسفل السيقان الجانبية الحاملة للأوراق. وتترك الأجزاء الورقية المفصولة، أو النباتات بأكملها، لتجف في الهواء، وذلك عموما بنشرها على الأرض، أو على أطباق مسطحة إن كانت كميتها قليلة نسبياً. ويمكن تجفيف النباتات الكاملة بتعليقها من الأسفل إلى الأعلى. وبعد أن يجف النبات تنتزع الأجزاء المحتوية على العقار من الساق المركزي والسيقان الجانبية الرئيسية. وهناك مجموعة واسعة من الأشكال العشبية المعروضة وهي تتوقف على العملية اللاحقة التي ستطبق لمعالجة المواد المجففة. ويمكن كبس الأجزاء المفصولة بشدة لتكوين كتل من المواد العشبية (ويجري الاتجار عموما بقنب أفريقيا الغربية والكاريبي على هذه الهيئة). ويجوز أحيانا ترك القنب في شكله العشبي السائب (وهو الشكل الذي تتخذه غالبا عينات القنب من بعض بلدان أفريقيا الوسطى والجنوبية ومن بلدان جنوب غرب وجنوب شرق آسيا). وينتج شكل آخر تقل مصادفته عموما بلفّ المواد العشبية في شكل "كوز الذرة" وتغليفه بألياف نباتية خشنة (أفريقيا الجنوبية الوسطى).

ولتحضير منتوج رفيع الجودة من أجل الاتجار تستخدم الأطراف المثمرة والمزهرة فقط. وهي تنتج في الغالب في شكل أصابع؛ وكثيراً ما يربط الطرف المثمر والمزهر حول قضيب وسطي من الخيزران بواسطة خيط قنبي ويبلغ وزن الأصابع من هذا القبيل نحو غرامين (وزن إجمالي)، وطولها ٨ سم تقريبا وتعرف في محيط الاتجار غير المشروع باسم "أصابع بوذا" (جنوب شرق آسيا). وهي تصادر في الغالب من الاتجار غير المشروع في شكل حزم تضم نحو ٢٠ إصبعا. وأحيانا يغلف الطرف المثمر والمزهر بقطعة من الورق البني (جنوب أفريقيا)، وهذه اللفائف أصغر بكثير من نوع جنوب شرق آسيا. وهي تزن عادة أقل من نصف غرام من القنب في كل لفة، ولا تضم المادة سوى عدد ضئيل من البذور أو قد تكون خالية منها.

ويمكن إنتاج منتوج رفيع الجودة بنخل القنب العشبي للتخلص من الأجزاء النباتية التي تحتوي على معدلات قليلة نسبيا أو تخلو من القنبيات. وتؤدي هذه العملية في الأساس إلى إزالة البذور وجميع مواد الساق ما عدا الهامة منها. وكل ما يمر عبر المنخل مستخلص من الأطراف المزهرة والمثمرة أو من أوراق القنب. والمادة المنخولة تشبه المواد العشبية المقطعة الدقيقة. وتعرف هذه المادة في الاتجار غير المشروع باسم "الكيف". وهي ناتج تتميز به منطقة شمال أفريقيا. وتحتوي هذه المادة على نسبة مرتفعة من راتنج القنب ويمكن كبسها في شرائح تشبه بعض الشبه في شكلها شرائح راتنج القنب المصنوعة في نفس المنطقة. بيد أن فحص هذه الشرائح بالمجهر يظهر بصفة خاصة خواصها العشبية التي احتفظت بها. ولهذه المادة، سواء أكانت سائبة أم مكبوسة في كتل صغيرة، نفس الطبيعة القنبية التي تتميز بها شرائح راتنج القنب المصنوعة في نفس المنطقة.

والمنتوج الآخر الرفيع الجودة هو السنسيميلا (Sinsemilla) والعبارة مستمدة من الاسبانية وتعني "عديم البذور". وتصنع السنسيميلا بفصل نباتات القنب الذكرية عن بيئة النباتات الانثوية قبل أن تطلق النباتات الذكرية غبار الطلع. وبذا فالنباتات الأنثوية لا تخصب البتة ومن ثم فهي لا تنتج أي بذور. ويزعم ممارسو زراعة القنب غير المشروعة أن الأجزاء الراتنجية من هذه النباتات تحتوي على نسبة أعلى من المواد الكيميائية ذات التأثير النفسي (مثل التتراهيدروكنابينول) بالمقارنة مع النباتات الأنثوية التي أتيح لها أن تخصب بالطريقة المعتادة. ويدعم التحليل الشرعي هذا الزعم، فالسنسيميلا تحتوي على نسب عالية من القنبيات، ولا سيما التتراهيدروكابينول.

وتجدر الإشارة إلى أن إزالة النباتات الذكرية من بيئة النباتات الأنثوية ممارسة متبعة منذ سنوات عديدة في شبه القارة الهندية على سبيل المثال. وكان الاعتقاد بأن عدم إزالة النباتات الذكرية سيؤدي بالنباتات الأنثوية إلى تكوين البذور، وبالتالي فهي لن تنتج سوى محصولا ضئيلا من الـ"غانجا" (ganja). بيد إن هذه المواد تتضمن دائما أطرافا زهرية ذات بذور. ولربما يعود السبب إلى أن القنب ليس نباتا ثنائي المسكن تماما. وهناك في أي حقل كبير لنباتات القنب بعض النباتات الأحادية المسكن، أي أنها تحمل أزهاراً أنثوية وذكرية.

وما زالت نباتات السنسيميلا في وقت إعداد هذا الكتيب منتوجاً يزرع في القارتين الأمريكيتين فقط، بالرغم من مصادرة السنسيميلا خارجهما أيضا. ولكن المواد المصادرة في هذه الحالة كانت مزروعة في القارتين الأمريكيتين.

٢ - المنتجات الراتنجية (الحشيشة)

يتركز إنتاج راتنج القنب في منطقتين رئيسيتين في العالم. البلدان الواقعة جنوبي وشرقي البحر الأبيض المتوسط في المنطقة الأولى، وبلدان شبه القارة الهندية في المنطقة الثانية. وتتبع في هاتين المنطقتين مجموعة متنوعة من عمليات صناعة راتنج القنب. بيد أن بلدان المنطقة الواحدة تتبع عموما تقنيات متشابهة. وأدى ذلك إلى "فصيلتين" من راتنج القنب، حيث تنتج بلدان جنوبي وشرقي البحر الأبيض المتوسط مجموعة واحدة من منتجات راتنج القنب، وبلدان شبه القارة الهندية مجموعة ثانية من المنتجات. بيد أن هناك بعض التشابه في الأساليب المتبعة

لصناعة راتنج القنب في هاتين المنطقتين، هناك على سبيل المثال طرائق تتبعها المنطقتين حيث يكون النخل خطوة هامة من عملية الإنتاج.

ويظهر الراتنج من أي بلد منفرد في إحدى هاتين المنطقتين تشابها أكبر في شكله الفيزيائي مع الراتنج من بلد آخر في نفس المنطقة من تشابهه مع راتنج من المنطقة الأخرى. (وقد تكون هناك اختلافات كبيرة في الخواص القنبية للراتنجات من منطقة واحدة).

(أ) راتنج القنب من بلدان حوض البحر الأبيض المتوسط

تدرس المواد العشبية بضربها على جدار في معظم الأحيان. والغرض من هذه العملية هو فصل الأجزاء المنتجة للراتنج عن أجزاء النبات الأخرى غير المنتجة له، وبالتالي فهي لا تحتوي سوى على نسبة ضئيلة من المؤثرات العقلية. وتنفصل جزيئات الراتنج القنبي وأوراق القنب، وكذلك بذور القنب عن الأجزاء الأكثر تليّفا من النبات. ويجري التخلص من هذه الأجزاء الليفية، ثم تنخل المادة بعد ذلك (للتخلص من البذور والأجزاء الليفية الصغيرة). ويحتوي الناتج المتبقي على نسبة أعلى من الراتنج. وفي هذه المرحلة تختفي فعليا جميع الخواص العشبية المرئية بالعين المجردة، بيد أن المادة تحتفظ بصفاتها العشبية المجهرية. وهي تشبه، من الناحية الفيزيائية، مسحوقاً دقيقا ويجري في هذه المرحلة كبسها على هيئة شرائح. وفي بعض البلدان (شرقي البحر الأبيض المتوسط) توضع المادة في أكياس من القماش قبل كبسها، وفي بلدان أخرى (شمال افريقيا) تضاف أغلفة سليلوزية قبل الكبس. وفي إحدى المناطق (شمال شرقي البحر الأبيض المتوسط) يجري أحيانا الاتجار بالمادة وهي على هيئة هذا المسحوق الدقيق دون تحويلها إلى شرائح.

(ب) راتنج القنب من شبه القارة الهندية

يتبع في بلدان شبه القارة الهندية أسلوب مختلف في إنتاج راتنج القنب. وفي شبه القارة الهندية، تحتوي الأطراف المثمرة والمزهرة لنباتات القنب على نسبة عالية من الراتنج، حيث تكون هذه الأجزاء من النبتة دبقة الملمس. وعند دعك الأطراف المثمرة والمزهرة من هذه النباتات بين اليدين.ينتقل الراتنج من النبتة إلى راحة اليد.

لذا فإنتاج راتنج القنب في بلدان شبه القارة الهندية يستند إلى عملية دعك أو عجن عوضا عن عملية الدرس. وقد تتبع مجموعة من الطرائق لهذه الغاية. ويمكن اعتبار الطرائق المشروحة هنا طرائق تمثيلية لهذه العملية.

وتتضمن إحدى الطرائق البطيئة المجهدة دعك أجزاء نبات القنب المحتوية على الراتنج بين راحتي اليدين، حيث تتكون عليهما مع دعك النبات طبقة رقيقة من راتنج القنب. ويجري التخلص من النبات بعد انتقال كل الراتنج من الحزمة التي يجري دعكها (ويجوز استخدام ما تبقى من النبات في إنتاج منتوج من الدرجة الثانية، على سبيل المثال، صنع نقيع مشابه للشاي). ويزال الراتنج المنتقل إلى راحتي اليدين بحكه بحافة أداة معدنية. ويمكن نقله إلى وعاء تجميعي والشروع في عملية دعك حزمة أخرى من القنب. وشيئا فشيئا يتجمع راتنج القنب في وعاء التجميع. ثم تزال من الوعاء بعد ذلك كمية مناسبة من الراتنج وتضغط أو تلف في حزم أو عود أو كرات أو أي شكل آخر مفضل في تلك المنطقة.

والأسلوب الآخر هو دعك الأطراف المزهرة والمثمرة من القنب على لوح مطاطي. وينتقل الراتنج في هذه الطريقة إلى اللوح المطاطي ويمكن قشطه فيما بعد وجمعه في كميات مناسبة لصنع الشرائح. وهناك نسق آخر لهذا الأسلوب حيث يرتدي الشخص الذي يحصد راتنج القنب رداء مطاطيا أو جلديا أو من نسيج مماثل أثناء تجوله في حقل نباتات القنب. ويتجمع الراتنج على الرداء المطاطي مع احتكاك الأطراف المزهرة والمثمرة من النبات به، وبعد جمع كمية كافية منه يقشط من على الرداء. ثم يجري صنع الشرائح وغيرها من الأشكال بالطريقة الموضحة آنفا.

ويمكن جمع الأطراف المزهرة والمثمرة بنفس الأسلوب المتبع في إنتاج القنب العشبي. ثم تترك لتجف، وتكسّر بعدها وتسحق بين اليدين لتكوين مسحوق خشن. ثم يمرر هذا المسحوق في مناخل من أجل الحصول على مسحوق يوازي في دقته المسحوق المنتج في منطقة البحر الأبيض المتوسط. ويخزن المسحوق الدقيق، وهو لا يزال أخضر اللون، في أكياس جلدية لمدة أربعة أو خمسة أشهر إلى أن يصبح المناخ حاراً مرة أخرى. وهنا يعرّض المسحوق للشمس لفترة قصيرة – تكفي لذبوان الراتنج. ثم يوضع المسحوق في الأكياس الجلدية لبضعة أيام، يزال بعدها ويعجن بواسطة قضبان خشبية إلى أن تظهر كمية معينة من مادة زيتية على السطح. ويواصل العجن إلى أن تنتج كمية مناسبة من المادة لصنع الشرائح.

أخيرا، هناك طريقة مختلفة تماما يجري اتباعها في بعض مناطق شبه القارة الهندية. وهي طريقة تدّر كمية صغيرة من راتنج القنب. تغمر أجزاء النبتة، باستثناء السيقان الأساسية، في الماء المغلي. ويؤدي ذلك إلى إزالة الراتنج من الأطراف المزهرة والمثمرة (تقارن هذه الطريقة بمعالجة اللحوم حيث يجري غليها لإزالة الشحم الحيواني من المادة اللحمية). ويجري التخلص من القنب المستخلص (ويمكن استخدامه لأغراض الطهي)، وبعد أن يبرد سائل الاستخلاص، تتشكل طبقة من الراتنج المتصلب على سطحه. ويمكن إزالة هذا الراتنج وتحويله إلى شرائح أو إلى أي شكل مفضل آخر. والمشكلة التي ترافق هذه هي إضافة الماء إلى الراتنج، مما يؤدي في الغالب إلى تعفن شرائح الراتنج بمرور الزمن.

٣ – القنب السائل (زيت الحشيشة)

القنب السائل هو خلاصة سائلة لمادة القنب العشبية أو لراتنج القنب؛ ويجري في الغالب تركيز الخلاصة قبل الاتجار بها. والغاية من صنع القنب السائل هو تركيز المكونات ذات التأثير العقلي (مثل التتراهيدروكنابينول). وقد يساعد ذلك المتجرين على تجنب الحظر، حيث يمكن لمخبأ أصغر أن يحتوي على كمية أكبر من المؤثرات العقلية. والفائدة الأخرى التي يستفيد منها المتجرون هي القدرة على إدخال القنب السائل في عبوات سرية لا يسهل تجهيز القنب العشبي أو الراتنجي بها. فضلا عن سهولة سدّ أوعية القنب السائل سدّاً محكما، مما يتيح التخلص من إمكانية كشفه عن طريق الرائحة التي تفرزها مادة القنب.

والقنب السائل، سواء استخلص من المادة العشبية أو الراتنجية، يحضرّ بطريقة مماثلة للطريقة المتبعة في تقطير القهوة. كما يمكن أيضا اعتبارها طريقة مماثلة للطريقة المتبعة في المختبرات الكيميائية لاستخلاص المواد الكيميائية من المواد الصلبة، بالجريان الارتجاعي المتواصل لمذيب الاستخلاص.

باء – وصف منتجات القنب غير المشروعة

١ – أسماء ومرادفات منتجات القنب غير المشروعة

هناك العديد من المرادفات المستخدمة لشتى منتجات القنب غير المشروعة التي يخرج ذكرها جميعا عن نطاق هذا الدليل. وينصح القارئ بالرجوع إلى "المعجم المتعدد اللغات للمخدرات والمؤثرات العقلية الخاضعة للمراقبة الدولية" الذي أصدرته الأمم المتحدة، (ST/NAR/1).

٢ – الشكل الفيزيائي لمنتجات القنب غير المشروعة وخواصها الكيميائية

يجب التشديد على انه ليس هناك أي منتجان من منتجات القنب لهما نفس الشكل الفيزيائي تماما. وليس من المفاجئ وجود أشكال متعددة لمنتجات القنب بالنظر لإنتاجها من مواد طبيعية كثيرة التنوع، وللتباين الواسع في عمليات تجميع كمياتها، وخضوعها اللاحق للمعالجة والتغيير لأغراض الاتجار. والمنتجات المشروحة هنا هي مجرد منتجات مختارة، وإن كانت أكثرها شيوعاً. وعدم وجود علاقة فيزيائية بين المواد الخاضعة للفحص الشرعي وبين أي من الأنواع المشروحة هنا لا يعني أنها ليست من القنب أو منتجاته.

(أ) المنتجات العشبية (ماريجوانا)

القنب المزروع في مناخ معتدل

يكون القنب المزروع في أوروبا وأمريكا الشمالية والمناطق الجنوبية من نصف الكرة الجنوبي ذا لون أخضر فاتح أثناء نموه؛ وبعد الحصاد تفقد بعض العينات لونها الأخضر وتصبح صفراء اللون، ولكن يندر أن يصبح لونها بنيّا. وتخلو الأطراف المزهرة والمثمرة عموما من الراتنج – وخلافا عن القنب من شبه القارة الهندية، فهي ليست دبقة عند الضغط عليها في راحة اليد. وللسبب نفسه يصعب كبس هذه المادة إلى شرائح، وهو ما يمكن عمله بسهولة مع قنب غرب أفريقيا على سبيل المثال. وتحتوي هذه المادة دائما على البذور. وهناك نسبة مرتفعة من المكونات الورقية في القنب الأوروبي بالمقارنة مع قنب أمريكا الشمالية الذي تسود فيه مكونات الأطراف المزهرة والمثمرة.

الخواص الكيميائية: وهي شديدة التنوع لأن البذور تستورد، غالبا بصورة غير مشروعة، من مناطق مختلفة متعددة ينمو فيها القنب البري. وتصادف صفات قنبية مختلفة، وقد تحتوي أو لا تحتوي على كنابيديول وتتراهيدروكنابيفارين.

القنب المزروع في مناخ مداري

قنب شمال أفريقيا

يندر الاتجار به خارج المنطقة؛ وهو عشب مفروم دقيق ذو لون أخضر فاتح أو أخضر مصفر، خالي من البذور أو المواد الليفية.

الخواص الكيميائية: مشابهة للراتنج المنتج في المنطقة، أي نسب قليلة من التتراهيدروكنابيفارين والكنابيفارين بالمقارنة مع التتراهيدروكنابينول.

قنب غرب أفريقيا والكاريبي

تكون المادة خضراء اللون عند نموها وتتحول بعد الحصاد والتجفيف إلى اللون البني. وتحتفظ بعض العينات بلونها الأخضر. ويحتفظ قنب الكاريبي عموما بلونه الأخضر أكثر من قنب غرب أفريقيا. ويندر العثور على عينات جافة غير بنيّة من قنب غرب افريقيا. وباستثناء اللون، يتشابه هذا النوعان من القنب في خواصهما الفيزيائية والكيميائية. وتؤدي المعالجة إلى تلف الأطراف المثمرة والمزهرة لبعض عينات قنب غرب أفريقيا؛ ويلاحظ العديد من البذور ذات اللون البني الغامق في كتلة المادة العشبية المكبوسة.

وحتى السنوات الأخيرة تميز قنب الكاريبي بنوعية رديئة، فهو يحتوي على الكثير من السيقان والسويقات الخالية تماما أو التي تحتوي على كمية ضئيلة من مكونات القنب ذات التأثير النفسي. وظهر حديثا اتجاه نحو إنتاج السنسيميلا؛ ولم تكتشف بعد أي عينة خالية من البذور، بيد أنه حصل انخفاض كبير في كمية المواد المصادرة الخالية من المؤثرات العقلية، كما أن نوعية الأطراف المثمرة والمزهرة لبعض الكميات المصادرة مشابهة لتلك التي يحصل عليها من سنيسيميلا أمريكا الشمالية.

الخواص الكيميائية: يفتقر النوعان إلى مادة الكنابيديول، وفيهما نسب ضئيلة من التتراهيدروكنابيفارين والتتراهيدروكنابينول.

قنب أفريقيا الوسطى

تتشابه معظم العينات مع قنب غرب أفريقيا، ولكن عدداً قليلاً منها يشابه القنب المنتج في المناطق الأفريقية الجنوبية.

الخواص الكيميائية: تتشابه العينات البنية في موادها القنبية مع قنب غرب أفريقيا؛ أما العينات الخضراء فتتشابه في هذه الخواص مع قنب أفريقيا الجنوبية.

قنب أفريقيا الجنوبية

عند تجفيف هذه المادة وتحضيرها لأغراض الاتجار، تتشابه عموماً مع القنب المزروع في المناطق المعتدلة المناخ. وهي أكثر اخضرارا وتحتوي على نسب أعلى من الأوراق بالمقارنة مع قنب غرب أفريقيا.

الخواص الكيميائية: يخلو هذا القنب من الكنابيديول، مع كميات متساوية تقريبا من التتراهيدروكنابيفارين والتتراهيدروكنابينول.

قنب أمريكا الجنوبية

وهو مشابه لقنب الكاريبي؛ وتتباين نوعية العينات إلى حد بعيد، من منتجات ذات نسبة عالية من الألياف وخالية من المواد ذات التأثير النفسي، إلى منتجات من نوع السنسيميلا التي لا تحتوي إلا على الأطراف المثمرة والمزهرة.

الخواص الكيميائية: مماثلة لقنب الكاريبي. وتحتوي بعض العينات أحيانا على مادة الكنابيديول.

قنب شبه القارة الهندية

هناك ثلاثة أنواع يمكن الاتجار بها وهي: (١) الأطراف البنية المثمرة والمزهرة التي تحتوي على كمية كبيرة من الراتنج والدبقة عند دعكها براحة اليد؛ (٢) المادة ذات اللون الأخضر الغامق وهي مشابهة لبعض عينات غرب أفريقيا؛ (٣) مادة خضراء متكونة من الأوراق عموماً خالية من الأطراف المثمرة والمزهرة.

الخواص الكيميائية: (١) وجود الكنابيديول، وكميات متساوية تقريبا من التتراهيدروكنابينول والتتراهيدروكنابيفارين؛ (٢) مماثل لقنب غرب أفريقيا؛ (٣) مماثل للنوع (١) مع نسب أقل من القنبيات.

قنب جنوب شرق آسيا

"أصابع بوذا" – انظر الفصل الثالث– ألف–١ "إنتاج منتجات القنب غير المشروعة".

الخواص الكيميائية: يحتوي عادة على التتراهيدروكنابينول فقط، ويخلو من الكنابيديول وفيه نسب ضئيلة جداً من التتراهيدروكنابيفارين.

(ب) منتجات راتنج القنب

راتنج قنب شمال أفريقيا

بني مصفر، شرائح مستطيلة رقيقة مغلفة في ورق السيلوفان وينـدر أن تحمل أي علامات. وتترك قطع النقود المعدنية أثرا على بعض العينات عند الضغط عليها.

ومن المنتجات التي ظهرت مؤخرا منتوج يتشابه بعض الشيء مع راتنج قنب شبه القارة الهندية – فهو أسود اللون تقريبا على السطح، وفي الداخل أغمق بكثير من الشرائح البنية المصفرة. ويتخذ هذا النوع شكل قوالب الصابون، ويغلف بورق السيلوفان. ولا تظهر عليه أي علامات ولكن النقود المعدنية تترك أثرا على بعض العينات.

الخواص الكيميائية: تقل نسبة الكنابيديول عموما عن نسبة التتراهيدروكنابينول، مع نسبة ضئيلة جدا من التتراهيدروكنابيفارين. وتتباين كميات الأحماض القنبية بين عينة مصادرة وأخرى.

راتنج قنب شرقي البحر الأبيض المتوسط

ويتخذ شكل مسحوق بني محمر. ويجري الاتجار به دائما في أكياس من القماش كانت، حتى السنوات الأخيرة، بيضاء اللون دائما وتحمل أحيانا أختاما بالحبر. وتستخدم اليوم أكياس ذات ألوان براقة مع أختام الحبر أو من غيرها. ويبلغ وزن الشرائح نصف كيلوغرام وأحيانا كيلوغرام واحد. ويحمل الراتنج أثر القماش عند إخراجه من التغليف.

الخواص الكيميائية: تفوق كمية الكنابيديول في هذا الراتنج الكميات الموجودة في أي راتنج قنب آخر. وهو يحتوي على نسبة ضئيلة جدا من التتراهيدروكنابيفارين. كما توجد فيه أيضا أحماض، وغالبا حمض الكنابيديوليك وبنسب أكبر من أي راتنج قنب آخر.

راتنج قنب شمال شرق البحر الأبيض المتوسط

مسحوق بني مخضر، أو (يندر جدا) رقائق دقيقة جدا من مادة هشة مغلفة بالسيلوفان.

الخواص الكيميائية: نسبة الكنابينول تقل كثيرا عن نسبة التتراهيدروكنابينول. مع نسبة قليلة من التتراهيدروبيفارين. مع وجود كميات كبيرة من الأحماض.

راتنج القنب من شبه القارة الهندية

تحضر مجموعة واسعة من المنتجات المتنوعة. والكميات المتوافرة من الشرائح المستطيلة، السوداء على السطح والخضراء الغامقة في الداخل، ومنشؤها المنطقة الشمالية الغربية من شبه القارة، تفوق في حجمها جميع كميات الأنواع الأخرى. وتحمل هذه الشرائح في أغلب الأحيان علامة محدبة على سطحها، تغلف عموما بسلوفان غامق قبل الاتجار بها. وهناك بعض الشرائح المربعة. ويتراوح سمك الشرائح بين ٥ مل و ٢٠ مل ولها رائحة ويمكن طيها عندما تكون حديثة الصنع. وتفقد هذه الشرائح رائحتها بمرور الزمن وتصبح هشة. وهي تزن عادة بين ٠,٢٥ و ٠,٥ وكيلوغرام واحد، وتصادف أحيانا شرائح أثقل وزنا. وغالبا ما تكون الشرائح من المنطقة الشمالية لشبه القارة الهندية شرائح عفنة يسهل تفتيتها.

وتتضمن منتجات راتنج القنب الأخرى من شبه القارة الهندية أصابع، تجمع في حزم غالبا، وكريات (قطرها سم واحد)، وكرات أكبر (قطرها ٨ سم)، وقطع راتنجية غير منتظمة الشكل. وجميع هذه المنتجات بنية غامقة أو سوداء على السطح وذات لون أخضر غامق أو بني غامق في الداخل.

الخواص الكيميائية: وهي شديدة التباين بقدر التباين الفيزيائي. وتحتوي هذه الراتنجات عموما على كمية من الأحماض القنبية أقل من مثيلتها في راتنج قنب البحر الأبيض المتوسط. كما أن كمية الكنابيديول التي تحتويها تقل عن مثيلتها في راتنج شرقي البحر الأبيض المتوسط، ولكنها تفوق الكمية الموجودة في راتنج شمال أفريقيا؛ وتحتوي بعض الأنواع على كميات ضئيلة جداً أو تكون خالية منه. وتكون نسبة التتراهيدروبيفارين ضئيلة عموما، ولكن بعض الأنواع تحتوي على كمية من التتراهيدروكابينول تزيد عن مثيلتها في أي راتنج قنبي آخر، وبالتالي فهي تتاجر بقيمة أعلى عند بيعها بصورة غير مشروعة.

(ج) القنب السائل (زيت الحشيشة)

القنب السائل هو زيت لزج غامق ذو رائحة مميزة. وعند تخفيفه بالمذيبات يصبح محلولا أخضر أو بني اللون. وهذا اللون لا يدل بالضرورة على المنشأ، لأن اللون يمكن أن يتأثر بدرجة نضوج المادة النباتية وبالمذيب المستخدم في صنع القنب السائل. وعموما، يكون القنب السائل، الذي يؤدي تخفيفه إلى محلول أخضر، مصنوعا من قنب عشبي، أما القنب السائل الذي ينتج محلولا بنيا عند التخفيف، فيكون مصنوعا من راتنج القنب. والقنب السائل لا يمكن تخفيفه بالماء. وإذا ما أضيف الماء إلى القنب السائل الذي تم تخفيفه، بالايثانول على سبيل المثال، يصبح الناتج سائلا مستحلبا.

وهناك بعض أنواع القنب السائل التي لا يجري تركيزها قبل الاتجار بها؛ ولهذا المنتوج عموما قوام (ورائحة أيضا في الغالب) يشبه قوام مذيب عضوي، وقد يكون لونه أخضرا أو بنيا.

الخواص الكيميائية: تتشابه الصفات القنبية مع القنب أو راتنج القنب الذي حضّر منه القنب السائل باستثناء اختلاف هام واحد، والاختلاف هو أن القنب السائل يخلو من الأحماض القنبية. وأهم المناطق المنتجة للقنب السائل هي بلدان البحر الأبيض المتوسط وشبه القارة الهندية المنتجة للراتنج، وبلدان الكاريبي المنتجة للقنب العشبي. وتتشابه الصفات القنبية المتعادلة للقنب السائل من هذه المناطق مع تلك الصفات لمنتجات الراتنج أو القنب العشبي المنتجة في تلك المناطق. بيد أن القنبيات تشكل نسبة أعلى بكثير في هذه المادة.

وتبلغ النسب المعتادة للتراهيدروكنابينول في منتجات القنب الثلاثة غير المشروعة ما يلي:

القنب العشبي: ٠,٥ – ٥٪
القنب الراتنجي: ٢ – ١٠٪
القنب السائل: ١٠ – ٣٠٪

وتجدر الإشارة إلى أن هذه القيم هي مجرد دليل يسترشد به للنسب التي يرجح أن يصادفها المحلل الشرعي. وللكثير من عينات القنب العشبي أو الراتنجي أو السائل نسب من التتراهيدروكاربينول التي تندرج خارج حدود هذه النسب.

وفضلا عن القنبيات المتعادلة، يمكن لمواد القنب المصادرة أن تحتوي أيضا على نسب متفاوتة كثيرا من الأحماض القنبية المقابلة لها. ومع أنه قد لا تبدو علاقة منطقية بين منشأ المادة وكمية الحمض القنبي الفعلية وتركيبه فيها، فقد يطلب من الكيميائي الشرعي، بموجب التشريعات الوطنية، أن يوضح وجود و/أو يحدد المحتويات من هذه الأحماض على نحو منفصل في العينة تحت الاختبار.

ويشار، بالإضافة إلى ذلك، إلى شتى الأدلة والتقارير الاستعراضية التي تتناول كيمياء القنبيات بالتفصيل الكامل [٣٥–٣٧].

ويحتوي القنب على مزيج معقد من العديد من المواد الكيميائية المنفردة التي تعرف بالقنبيات. والمكونات الرئيسية الأربعة هي:

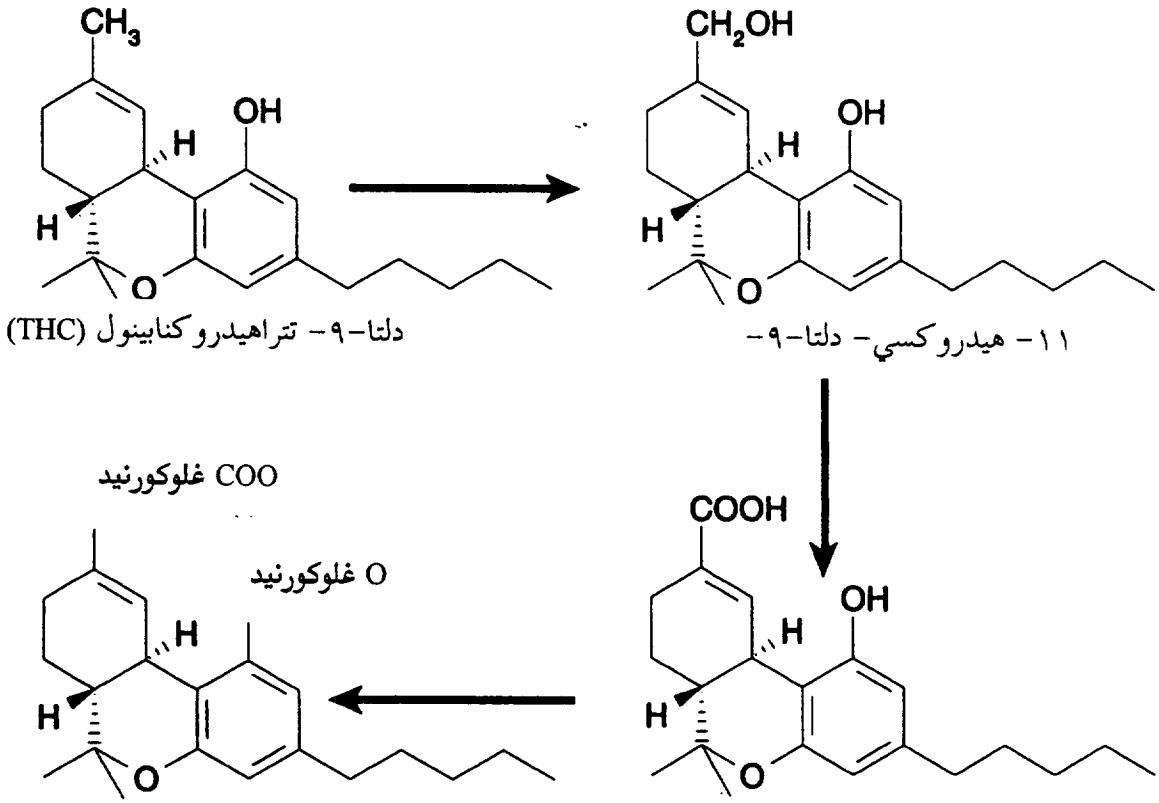
دلتا–٩– تتراهيدروكنابينول (THC)
كنابينول (CBN)
كنابيديول (CBD)
كنابيكرومين (CBCh).

وتعزى معظم صفات التأثير النفسي لمنتجات القنب في الأساس إلى دلتا–٩– هيدروكنابينول (THC). لذا فهو المادة القنبية الوحيدة ذات الأهمية في السياق الحالي.

٣ – طرق تعاطي (THC) وأيضه وإبرازه [٣٨، ٣٩]

التدخين هو أكثر طرق تعاطي القنب انتشارا. ويجري تعاطيه أحيانا عن طريق الفم. ويتأيض THC إلى حد واسع في جسم الإنسان وما يمكن استرجاعه من THC غير متأيض في البول لا يتجاوز ١٪. وعند تدخينه، يبدأ أيضه الأولي في الرئة، بينما يحدث ذلك في الكبد عند تعاطي الماريجوانا عن طريق الفم. ويوجز الجدول الثالث–١ مسلك أيض THC.

الشكل الثالث – ١ مسلك أيض THC



دلتا–٩– تتراهيدروكنابينول (THC)

١١– هيدروكسي– دلتا–٩–

١١– نور– دلتا–٩–THC– حمض الكربوكسيليك (٩– كربوكسي–THC)

٩– كربوكسي–THC– أحادي/ثنائي– غلوكورونيد

وبعد مرور اثنين وسبعين ساعة على التدخين، يبرز نحو ٥٠٪ من THC المستنشق كأيضات بينما تتوزع الـ ٥٠٪ الباقية منه في الجسم حيث يمتص غالبا في الأنسجة الدهنية ويجري إبرازه بصورة بطيئة في الأيام القليلة التالية. ويتم الإبراز عموما عن طريق البول (٢٥٪) والغائط (٦٥٪).

وعلى الرغم من تحديد ما لا يقل عن ٢٠ أيضة لمادة THC حتى الآن، فإن معظم المركبات التي تبرز عن طريق البول هي نتيجة للتأكسد في موضع C-11 والتحول إلى غلوكورونيدات. والأيض الحمضي الرئيسي هو حمض ١١– نور– دلتا–٩– تتراهيدروكنابينول–٩– كربوكسيليك (٩– كربوكسي– THC) الذي يتحول إلى غلوكورونيدات مقترنة أحادية وثنائية

وهي الأشكال الرئيسية للأيضات التي تبرز في البول. لذا فتحديد وجود ٩- كربوكسي- THC في البول يعتبر أفضل مؤشر على استهلاك سابق للقنب.

ويتضاءل تركيز THC في البلازما بسرعة بسبب الأيض والخزن في الأنسجة. بيد أن عمر النصف الأخير طويل ويزيد عادة عن عشرين ساعة. ويؤدي ذلك إلى وجود THC في الجسم لساعات عديدة، ولربما لأيام، بعد الاستهلاك الأخير. وبالتالي، فإن إبراز ٩- كربوكسي- THC يستغرق فترة أطول. ويختلف نمط الإبراز في البول عند الشخص الذي يتعاطى العقار بين حين وآخر عن نمطه عند المدمن. فعند تعاطي العقار بين حين وآخر يمكن كشف الأيضة في البول في فترة ١-٣ أيام وفقا للطريقة التحليلية، بينما يحتوي بول المدخنين المدمنين على مستويات تدوم لفترة أسبوع أو أكثر بعد تعاطي آخر جرعة.

جيم - أخذ العينات وإجراءات تحضيرها لتحليل ٩- كربوكسي- THC

يمكن تطبيق إجراءات أخذ العينات المبينة في الفصل الأول- جيم وفي زاي-٥.

الاحتياطات الواجب اتخاذها

هناك بعض الاحتياطات التي يجب اتخاذها عند مناولة عينات البول لتحليل ٩- كربوكسي- THC. فأيضات القنبيات تنحل بالحرارة بسرعة نسبيا، ومقدار الأيضة الرئيسية، ٩- كربوكسي- THC، يمكن أن يتناقص كثيرا حتى في درجة الحرارة العادية بعد أسبوع، وبمقدار ٤٥٪ بعد ستة أشهر [٤٠، ٤١]. ويتوقف هذا التناقص على عوامل مثل التأكسد، وكمية البول في الوعاء، ونوع الوعاء المستعمل. كما تم الإبلاغ عن أن بعض أنواع الأوعية تمتص ٩- كربوكسي- THC حيث لا يمكن استرجاع المادة المفقودة بالامتصاص مما يؤدي إلى ضياع مهم من المادة.

١ - تحضير العينة للتحليل المناعي

لا يستلزم التحليل المناعي عموما أي تحضير، أو إنه يستلزم تحضيرا بسيطا للعينة (انظر أيضا الفصل الأول - زاي-٥).

٢ - تحضير العينة

(أ) التحليل المائي

يوجد أكثر من ٨٠٪ من أيضة القنبيات المبرزة، ٩- كربوكسي- THC، في البول في شكل غلوكورونيد متحد. ولتحرير الأيضة، يلزم تحليل البول مائيا ويمكن القيام بذلك بواسطة التحليل المائي القاعدي أو الانزيمي. ويعتبر التحليل المائي القاعدي أكثر فعالية وأيسر تكرارا من التحليل المائي الحمضي أو الأنزيمي [٤٢، ٤٣].

يمتص ١٠ مل في البول بواسطة ماصة أنبوبية من الوعاء الأصلي إلى أنبوب ذي سدادة زجاجية. وينبغي أن يضاف العيار الداخلي للأنبوب عندما تستلزم الطريقة المتبعة استعمال عيار داخلي (كروماتوغرافيا الغاز، كروماتوغرافيا الغاز/القياس الطيفي الكتلي، كروماتوغرافيا السائل العالية الأداء). يضاف ٢ مل من هيدروكسيد البوتاسيوم ١٠ عيار، يسد الأنبوب ويحضن لمدة ٢٠ دقيقة في حرارة ٥٠°م مع تحريكه بين حين وآخر.

وفي هذه المرحلة، يمكن إجراء استخلاص وحيد، كخطوة للتنظيف، مع ٢٠ مل من سيكلوهيكسان- خلات الأثيل (١:٧، حجم/حجم)، وذلك بصفة خاصة قبل إجراء كروماتوغرافيا الغاز، أو كروماتوغرافيا الغاز/القياس الطيفي الكتلي، أو كروماتوغرافيا السائل العالية الأداء، بغية إزالة جميع الشوائب المتعادلة والقاعدية.

(ب) الاستخلاص

ينبغي أن يكون الاستخلاص فعّالا وانتقائيا. وتعتبر الاستعادة الجيدة أمرا مهما بما أن الكمية الكلية للقنبيات الموجودة تكون صغيرة جدا. والانتقائية مهمة أيضا للتأكد من إزالة المواد المتدخلة الموجودة في البول.

ويجري استخلاص ٩- كربوكسي- THC من البول المحلل مائيا في رقم هيدروجين حمضي، وذلك لضمان ذوبان الأيضة في المذيبات العضوية المستعملة. والمذيبات أو أمزجة المذيبات الشائعة الاستعمال في استخلاص السائل - السائل التي نشرت في المطبوعات الصادرة هي إيثر البترول، والهيكسان، والايثر ثنائي الايثل، والكلوروفورم، وأمزجة من الهيكسان وخلات الاثيل. وتقترح المطبوعات أيضا العديد من طرائق استخلاص الطور الصلب.

السائل - السائل

بعد أن تبرد العينة عقب التحليل المائي، يعدّل الرقم الهيدروجيني إلى pH ٢ بواسطة حمض الهيدروكلوريك ٢ عيار أو حمض الكبريتيك ٢ عيار. يضاف ١٥ مل من مزيج الهيكسان - خلات الأثيل (١:٧، حجم/حجم) ويستخلص المحلول بالرج الميكانيكي لمدة ١٠ دقائق. تزال الطبقة العضوية وترشح عبر كمية صغيرة من كبريتات الصوديوم الجافة إلى أنبوب مدبب، يغسل المرشح بواسطة ٥ مل من المذيب ويبخر حتى الجفاف في درجة الحرارة الاعتيادية بواسطة تيار من الهواء أو النيتروجين. تعاد إذابة الفضالة في ٠,٢ مل من الميثانول أو مزيج الأستونيتريل - الميثانول (١:٣، حجم/حجم) بالرج أو بالموجات الصوتية.

الطور الصلب

يجوز استخدام استخلاص الطور الصلب كبديل لاستخلاص السائل - السائل. ويوصى باستعمال طور معكوس مترابط كيميائيا (سيليكا معدلة) للامتصاص، وينبغي أن يتم الاستعمال وفقا لإرشادات الصانع. وقد برهنت عدة طرائق جرى نشرها في المطبوعات ذات الصلة على قدرة استرجاعية عالية [٤٤، ٤٥]، وترد إحداها أدناه.

يكيّف العمود بالشطف البطيء بأجزاء من حجم ٣ مل من الميثانول، والماء، والميثانول، والماء في هذا التتابع. ويستفاد من محقنة بلاستيكية من سعة ١٠ مل كخزان مرتبط بالعمود. ويجري تفريغ هوائي ضعيف لزيادة التدفق. يسحب البول المحلل مائيا (٢ مل) عبر العمود ويغسل بـ ١٠ مل من حمض الهيدروكلوريك ٠,١ عيار و ٢٥ مل من ٥٠ ملليمول حمض الفوسفوريك في اسيتونيتريل ١٠٪. يشطف ٩- كربوكسي- THC مع ملليلتر واحد من الاسيتون. يبخر المذيب تحت تيار من النيتروجين وتعاد إذابة الفضالة في ٠,١ مل من الميثانول.

ويرد في موضع آخر شرح طريقة جديدة وبسيطة وسريعة لتحضير العينة وتنظيفها بغية اتباع طريقتي كروماتوغرافيا الغاز وكروماتوغرافيا الغاز/القياس الطيفي الكتلي، وذلك باستعمال قرص لاستخلاص الطور الصلب (عمود مصغر) واشتقاق على القرص (on-disc derivatization) (ODD) [٤٦].

(ج) العيارات الداخلية

ينبغي للعيارات الداخلية أن تتطابق مع المتطلبات المبينة في الفصل الثاني – زاي–٦. ويلائم الكنابينول (CBN)، والأوكسي فنبيوتازون، والكيتوبروفين معظم طرائق كروماتوغرافيا الغاز. ويوصى بنظائر ٩– كربوكسي– THC المعلمة بالديوتريوم d_3 أو d_6، إن توافرت، لكروماتوغرافيا الغاز/القياس الطيفي الكتلي. ويلائم الكنابينول، أو n – أوكتيل – p – هيدروكسي بنزويت كروماتوغرافيا السائل العالية الأداء.

تحضير محاليل العيار الداخلي:

يحضر محلول مركز أصلي في الميثانول المطلق الذي يحتوي على ملليغرام واحد من الكنابينول في كل ملليلتر. ينقل ملليلتر واحد من المحلول إلى دورق من سعة ٢٠٠ مل ويضاف إليه الميثانول المطلق حتى بلوغ العلامة المؤشرة (ملليلتر واحد من محلول العيار الداخلي = ٥ ميكروغرام من الكنابينول).

(د) المحلول العياري

بالنظر لعدم الحاجة عادة لإجراء حساب كمّي، يمكن استعمال محلول ٩– كربوكسي– THC المتوافر لكشف الأيضات في البول.

دال – طرائق الفحص الأولي

١ – طرائق التحليل المناعي

عند توافر تقنيات التحليلات المناعية في المختبرات، يوصى باستخدامها لإجراء الفحص الأولي. وتتوافر تجاريا عدة تحليلات مناعية لفحص القنبيات الأولي في البول [٤٧، ٤٨]. وتكشف جميع التحليلات المناعية ٩– كربوكسي– THC، مع تفاعلية تبادلية متوسطة أو عالية نحو أيضات THC الأخرى في البول مع مركب ثنائي بنزوبيران الحلقي (مثل ١١– كربوكسي– THC) [٤٩، ٥٠]. وينبغي التثبت من جميع النتائج الموجبة التي يحصل عليها من اختبارات الفحص الأولي بتحليل ثاني للعينة الأصلية باتباع طرائق تستند إلى تقنيات ومبادئ كيميائية مختلفة عن الفحص الأولي. ويجب أن تكون هذه التحليلات أكثر خصوصية وبحساسية مساوية على الأقل. ويرد في الجدول الثالث–١ موجز للتفاعليات التبادلية لبعض التحليلات المتوفرة تجاريا.

الجدول الثالث–١ التفاعليات التبادلية للتحليلات المناعية المتوافرة تجاريا لاختبار القنبيات

التحليل	التفاعلية التبادلية (٪)			
	٩– كربوكسي– THC	١١– كربوكسي– THC	THC	CBN
EMIT-d.a.u.	١٠٠ (٥٠)[أ،د]	٥٦ (٩٠)	—	—
FPIA-TDx	١٠٠ (١٠٠)[ب،ج]	٣٦ (٢٧٧)	١٥ (٦٥٥)	١١ (٨٩٩)
Abuscreen-Ontrak	١٠٠ (١٠٠)[ب،ج]	٤٠ (٢٥٠)	١٤ (٧١٤)	١ (١٠ ٦٤٠)
Abuscreen-Online	١٠٠ (١٠٠)[ب،ج]	١٠٠ (٥٠)	٣ (٣٠٠٠)	٥ (٢٠٠٠)

[أ،ب] التفاعلية التبادلية محسوبة بقسمة التركيز المستهدف (٥٠/١٠٠[ب] نانوغرام/مل) على تركيز مساو لـ ٥٠/١٠٠[ب] نانوغرام/مل لـ ٩– كربوكسي– THC وضرب الحاصل في ١٠٠ (المكافئات بين القوسين، نانوغرام/مل).

[ج] M.A. ElSohly [٥٠].

[د] معلومات مصدرها المنتج.

٢ – كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة

تقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة القياسية

ترد تفاصيل مواد وإجراءات كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة القياسية في دليل الأمم المتحدة "الطرائق الموصى بها لاختيار القنب" [٩]، وهي قابلة للتطبيق على تحليل الخلاصات البيولوجية لمركب ٩– كربوكسي– THC.

صفائح الطبقة الرقيقة

الطلاء: جلّ السيليكا المنشط G. ويمكن أيضا استخدام جلّ السيليكا الذي يحتوي على مادة مضافة تتفلور في الضوء فوق البنفسجي، ويمكن أيضا استخدام الطول الموجي ٢٥٤ نانومتر.

سمك الطبقة: ٠,٢٥ ملم

حجم الصفائح: صفائح زجاجية ٢٠ × ٢٠سم، ٢٠ × ١٠سم، أو ١٠ × ٥سم. ويبلغ الجريان الأقصى ١٠سم تقريبا.

الإجراء

يوضع ٢٥–٥٠ ميكرولتر من محلول معاد التكوين على صفيحة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة، ويوضع أيضا على الصحيفة محلول عياري من ٩– كربوكسي– THC ويجري تظهيرها فيما بعد بأحد النظامين المذيبين أدناه.

مذيبات التظهير

النظام ألف [٥١]:	خلات الأثيل	١٢
	ميثانول	٥
	محلول النشادر المركز	١
	ماء	٠,٥

النظام باء [٥٢]: كلوروفورم ٧٠
ميثانول ٣٠
محلول النشادر المركز ٢

الفحص البصري

يجب تجفيف الألواح قبل إجراء الفحص البصري. ويمكن القيام بذلك في درجة الحرارة العادية، أو بصورة أسرع، في فرن بحرارة ١٢٠°م لمدة ١٠ دقائق، أو باستخدام مروحة هواء ساخن. وكيما يتم التظهير بصورة صحيحة يجب إزالة جميع آثار النشادر أو القواعد الأخرى من الألواح. ويوصى باتباع طرائق الفحص البصري التالية:

كاشف الرش:

٠,١٪ من المحلول المائي لملح B الأزرق الثابت. ويجب أن يحضر المحلول عند الحاجة لاستعماله. والتردد المقبول لذلك تحضير واحد كل يوم.

ولغرض التظهير اللوني، يجب أن يكون لوح كروماتوغرافيا الطبقة الرقية قاعديا. ويمكن إجراء ذلك بتعريض اللوح لأبخرة النشادر أو الأمين ثنائي الأثيل بعد رشه بالكاشف، ثم يجفف اللوح بعدها بمروحة هواء ساخن. ويظهر ٩- كربوكسي- THC كبقعة وردية أو زهرية اللون ذات قيمة R_f مساوية لقيمة بقعة ٩- كربوكسي- THC العياري.

ملحوظة: *تدعي بعض السلطات أن ملح B الأزرق الثابت مادة يمكن أن تسبب السرطان. وتؤكد السلطات نفسها أن صبغة BB الزرقاء الثابتة أقل احتمالا للتسبب في السرطان [٥٣]. لذا يمكن، كإجراء بديل، رش الصفيحة بمحلول حديث التحضير بإذابة ملح BB الأزرق الثابت في محلول هيدروكسيد الصوديوم ٠,١ مول (٠,٧٥ ملغم/١٠ مل) ثم تجفيفها لضمان تظهير اللون الصحيح وثباته.*

النتائج

الجدول الثالث-٢ قيم R_f3100

المركب	*نظام التظهير*	
	ألف	*باء*
٩- كربوكسي- THC	٣٥-٤٠	٢٥-٣٨

هذه القيم قابلة للتباين وفقا لظروف المختبر (الرطوبة، والحرارة، وتيارات الهواء) ولبرامترات أخرى (كنوعية المادة المستخدمة).

هاء – طرائق التثبت الكروماتوغرافية

١ – *كروماتوغرافيا الغاز*

(أ) اشتقاق العينة

تبخر خلاصة البول حتى الجفاف تحت تيار من النيتروجين، ويضاف ٥٠ ميكرولتر من مادتي (N,O-*bis*-trimethylsilyl-trifluoroacetamide) (BSTFA) و (TMCS) (trimethylchlorosilane) إلى الأنبوب الذي يرج في دوامة ثم يسخن إلى ٦٠°م لمدة ١٠ دقائق. وكطريقة اشتقاق بديلة يمكن استخدام مادتي MSTFA/TMCS [٣٩، ٥٤] أو MTBSTFA/TBDMS [٥٥، ٥٦]. وبما أن مادة (MTBSTFA) أكثر فعالية فإن مشتقات TBDMS الناتجة أكثر ثباتا وتظهر حساسية أكبر في كروماتوغرافيا الغاز/القياس الطيفي الكتلي.

ويمكن اتباع طريقة اشتقاق بديلة للحصول على مشتق ثنائي الأثيل لـ ٩– كربوكسي– THC، وذلك باستخدام هيدروكسيد رباعي مثيل أمونيوم (TMAH) [٥٧، ٥٨]. وفي هذه الحالة يضاف ٧٠ ميكرولتر من ١٠٪ TMAH – ثنائي مثيل سلفاوكسيد (TMAH-dimethylsulfoxide) (١ : ٢٠، حجم/حجم) للفضالة الجافة، ثم يضاف بعد مرور دقيقتين ٥ ميكرولتر من يوديد الميثل. وبعد مرور ١٠ دقائق أخرى يضاف ٢٠٠ ميكرولتر من حمض الهيدروكلوريك ٠,١ عيار ويستخلص المحلول بإضافة ٢ مل من الايزوأوكتان. وتفصل طبقة الايزوأوكتان ثم تبخر تحت تيار من النيتروجين. ويعاد تكوين الفضالة في ٥٠ ميكرولتر من المذيب. ويحقن ١–٢ ميكرولتر من المحلول المشتق.

(ب) تقنية العمود المعبأ [٥٧]

ظروف العمل

الكاشف:	FID
العمود:	٢م × قطر داخلي ٢ ملم
التعبئة:	(أ) ٣٪ سيليكون ثنائي المثيل (OV-1)
	(ب) ٣٪ فنيل مثيل سيليكون، ٥٠٪ فنيل (OV-17)
الغاز الحامل:	نيتروجين أو هيليوم بمعدل ٣٠ مل/دقيقة
درجات حرارة العمل: الحاقن:	٢٦٠°م
الفرن:	٢٥٥°م
الكاشف:	٢٧٥°م

ملحوظة: *يجب تكييف جميع الأعمدة قبل استعمالها وينبغي عموما أن تزيد حرارة التكييف بـ ٣٠°م على الأقل عن درجة الحرارة التي يجري فيها التحليل، وذلك ما لم يقتضي هذا تجاوز الحد الأعلى لدرجة حرارة العمود التي يعينها المنتج. وفي هذه الحالة يتبع فرق أصغر في درجة الحرارة وتمدد فترة التكييف تمديدا ملموسا. ويجري عادة تكييف الأعمدة طوال الليل، أو لمدة لا تقل عن ١٥ ساعة.*

ويجري التكييف بالتدفق العادي للغاز الحامل مع فصل العمود عن الكاشف.

ملحوظة: *ينظف منفذ الحقن والكاشف بانتظام لتجنب تحلل العينات وفقدان حساسية الكاشف.*

(ج) تقنية عمود ميغابور (Megabore)

ظروف العمل

الكاشف:	FID
العمود:	سيليكا منصهرة، ١٠ م × قطر داخلي ٠,٥٢ ملم مع طور ثابت ٢,٦ ميكرون سيليكون ثنائي المثيل مترابط كيميائيا، مثال ذلك (OV-1)
الغاز الحامل:	هيليوم بمعدل ٢ مل/دقيقة
تقنية الحقن:	انشطاري/لا انشطاري
درجات حرارة العمل: الحاقن:	٢٩٠°م
الفرن:	٢٤٠°م
الكاشف:	٢٩٠°م

٢ – *كروماتوغرافيا الغاز – القياس الطيفي الكتلي*

ظروف العمل [٤٦، ٥٦، ٥٩، ٦٠]

العمود:	سيليكا منصهرة، ١٠–٣٠ م × قطر داخلي ٠,١٨–٠,٢٥ ملم مع طور ثابت ٠,٢٥ ميكرون فنيل مثيل أو ثنائي المثيل– بولي سيلوكسان مترابط كيميائيا
الغاز الحامل:	هيليوم بمعدل ٢ مل/دقيقة
حرارة العمود:	١٥٠°م–٢٢٠°م إلى ٢٧٠°م–٢٩٠°م بمعدل ٥–٢٥°م/دقيقة
حرارة الحاقن:	٢٥٠°م–٢٦٠°م، يجري تشغيله بنمط لا انشطاري
التأين:	صدم إلكتروني (EI) أو تأين كيميائي (CI)

العيارات الداخلية

نظائر ٩– كربوكسي– THC المعلّمة بالديوتريوم (d_3 أو d_6) أو عيارات لا نظائرية (على سبيل المثال حمض ميكلوفيناميك)

الاستخلاص

استخلاص الطور الصلب [٤٦، ٥٩، ٦٠] أو استخلاص السائل/السائل [٥٦]

الاشتقاق

بواسطة BSTFA أو MSTFA (مشتقات TMS) [٤٦، ٥٩]، MTBSTFA (مشتقات TBDMS) (٥٦) أو هيدروكسيد الأمونيوم ثلاثي المثيل (مشتقات المثيل) [٦٠].

الجـــدول الثـــالث-٣ الأيونـــات الرئيســـية في أطيـــاف كتلـــة مشـــتقات ٩- كربوكسي- THC (SIM)

المركب	الأيونات الشظوية الرئيسية m/z
مشتق ثنائي الميثل لـ ٩- كربوكسي- THC	٣٧٢ (M^+)، ٣٥٧، ٣١٣
٩- كربوكسي- THC - ثنائي TMS	٤٨٨ (M^+)، ٤٧٣، ٣٧١
٩- كربوكسي- THC - ثنائي TMS[أ]	٤٨٩ (M^+)، ٣٩٩، ٣٧١
٩- كربوكسي- THC - ثنائي TBDMS	٥٧٢ (M^+)، ٥٥٧، ٥١٥، ٤١٣

[أ] (نمط التأين الكيميائي CI، باستعمال ايزوبوتان كغاز كاشف).

٣ - كروماتوغرافيا السائل العالية الأداء

تتيح كروماتوغرافيا السائل العالية الأداء على أعمدة الطور المنعكس وبالكشف فوق البنفسجي [٦١] أو الكهروكيميائي [٥٥، ٦٢] حساسية عالية وخصوصية كافية للتثبت من النتائج الموجبة المحصلة من فحص أولي بإحدة تقنيات التحليل المناعي. وتتيح هذه الطريقة كشفا سريعا لـ ٩- كربوكسي- THC في تركيز قليل محسوبا بالنانوغرام/مل دون الحاجة إلى اشتقاق مسبق. ولإعادة التحليل للحساب الكمي، يوصى باستعمال عيار داخلي (مثال ذلك كنابينول [٥٥، ٦١]).

ظروف العمل

الطريقة ألف [٦١]

العمود: أوكتيل سيليكا، (Spherisorb C-8 أو ما يكافئه)، ٥ ميكرون، ٢٥سم × قطر داخلي ٤,٦ ملم

الطور المتحرك: استيونيتريل - حمض الفوسفوريك ٥٠ ملليمول (٦٥:٣٥، حجم/حجم)

معدل التدفق: ١,٥ مل/دقيقة

الكشف: ضوء فوق بنفسجي بطول ٢١١ نانومتر (مجال مسحي ٢٠٠-٣٥٠ نانومتر في حالة استعمال كاشف ذي صمام ثنائي)

حجم الحقن: ١٠-١٥ ميكرولتر

العيار الداخلي: كنابينول

الطريقة باء [٦٢]

العمود: أوكتيل سيليكا، (Zorbax C-8 أو ما يكافئه)، ٥ ميكرون، ٢٥سم × قطر داخلي ٤,٦ ملم

الطور المتحرك: اسيتونيتريل - ميثانول - حمض الكبريتيك ٠,٠٢ عيار (٣٥:١٥:٥٠، حجم/حجم/حجم)

معدل التدفق: ١,١ مل/دقيقة

الكشف:	ECD، ١١٠ ملليفولت (فضة/كلوريد الفضة) (الكترود كربون كامد)
حجم الحقن:	٥–١٠ ميكرولتر
العيار الداخلي:	n – أوكتيل – p – هيدروكسي بنزويت

للاطلاع على طريقة بديلة لكروماتوغرافيا السائل العالية الأداء انظر Dixit and Dixit [٦٣].

واو – تفسير النتائج

١ – السياق الزمني للكشف

تتباين الفترة الزمنية التي يمكن كشف الأيضة في غضونها وفقا لطرائق التحليل المناعي المتبعة ومستوى تركيز الفصل المستعمل في الفحص الأولي. ويمكن عموما كشف تعاطي الماريجوانا الحاد (أقل من مرتين في الأسبوع) بتحليل البول في فترة ١–٣ أيام باستخدام تركيز للفصل مساو لـ ١٠٠ نانوغرام/مل (أو أقل). وعند تعاطي الفرد للماريجوانا بصورة مزمنة عبر فترة زمنية طويلة، يمكن أن تمتد فترة الكشف إلى حد بعيد بالنظر لإمكانية امتصاص التتراهيدروكنابينول وتراكمه في الأنسجة الدهنية. وفي هذه الحالة يمكن كشف وجود ٩– كربوكسي– THC في فترة أسبوع أو أكثر [٣٩، ٦٤].

٢ – الاستنشاق السلبي

تثار أحيانا مسألة استنشاق دخان الماريجوانا السلبي أو غير المتعمد كتفسير للنتيجة الموجبة لتحليل البول. وقد جرت البرهنة على حدوث ذلك، ولكن استنشاق كمية كافية من التتراهيدروكنابينول عن هذا الطريق مسألة صعبة ولا يرجح حدوثها في معظم الأحوال. وعند اتباع تحليلات مناعية للفحص الأولي بتركيز فصل مقداره ٢٠ نانوغرام/مل يمكن الحصول على نتائج موجبة مع الاستنشاق السلبي ولكن في حالات نادرة. وتستبعد إمكانية تحقيق هذه النتيجة تماما عند استعمال تركيز فصل مقداره ١٠٠ نانوغرام/مل [٤٣، ٦٥–٦٨].

٣ – تباين التركيز

يتأثر تركيز العقار في البول بعدد من العوامل أهمها تناول السوائل. فقد يتغير تركيز العقار في البول عشرة أضعاف في غضون ساعات فقط. وهذا يعني ضرورة التقيد بالحذر عند تفسير نتيجة موجبة حصل عليها، على سبيل المثال، بعد الحصول على نتيجة سالبة باتباع نظام يومي لأخذ العينات. وتثير هذه المسألة جدلا خاصا في حالة تعاطي عقار ذي نصف عمر طويل مثل التتراهيدروكنابينول، حيث يحتمل كشفه خلال عدة أيام ولكن بتركيزات شديدة التباين بالمقارنة مع تركيز الفصل. والحصول على عينات موجبة بعد عينات سالبة لا يدل بالضرورة على تعاطي كمية إضافية من الماريجوانا.

رابعا – الطرائق الموصى بها للكشف عن الكوكايين وتحليله في العينات البيولوجية

ألف – الأنواع الشائعة من منتجات الكوكايين غير المشروعة [١٠]

١ – ورقة الكوكا

تتباين أوراق أنواع الاريثروزيلون (Erythroxylon) المختلفة في أحجامها وأشكالها. ويكون الجانب الأعلى من الورقة في جميع الأنواع أغمق لونا من جانبها الأسفل الذي قد يكون رماديا مخضرا. ويمتد على جانب الورقة الأسفل خطان موازيان للعرق الوسطي. ويعتبر هذان الخطان صفة مميزة لورقة الكوكا.

٢ – الكوكايين

ينتج الكوكايين من مواد طبيعية متباينة إلى حدّ ما ووفقا لمجموعة واسعة من عمليات الإنتاج المختلفة، بيد أن الكوكايين المنتج لا يتباين سوى تباينا قليلا بالمقارنة مثلا مع منتجات الهيروين. مع ذلك، لا توجد عينتان من الكوكايين غير المشروع متشابهتان تماما. وهو في معظم الأحيان مسحوق أبيض أو أبيض مصفر ناعم في الغالب ويندر أن يكون رطبا، وله رائحة مميزة.

وعجينة الكوكا هي مسحوق أبيض مصفر أو أبيض أو بيجي الون. ويندر أن يكون مسحوقا ناعما، وكثيرا ما يحتوي على كتل، وهو رطب عموما. وما لم تكن الكتل بلورية (وهو أمر نادر) فإنها تتفتت عادة بقليل من الضغط، ولها رائحة مميزة.

ويحدث أحيانا أن يصادف الكوكايين على هيئة مادة تحتوي على بلورات كبيرة عديمة اللون أحيانا (الكوكايين الصخري). وقد تكون هذه البلورات صلبة جدا. ويتألف جزء من هذه العينات عادة، إن لم يكن الجزء الأعظم منها، من مادة تشبه "مسحوق" الكوكايين العادي.

ويندر نسبيا غش الكوكايين داخل البلدان المنتجة، ويغلب أن تتراوح نقاوة الكوكايين المتجر به دوليا بين ٨٠ و ٩٠٪ (هيدروكلوريد الكوكايين). ويجري عادة غش الكوكايين وتغييره لأغراض الاتجار غير المشروع فيما بعد في البلدان المتقدمة اقتصاديا بإضافة مخدر موضعي صناعي غير خاضع للمراقبة (مثل الليدوكايين أو البروكايين أو البنزوكايين)، أو مادة كربوهيدراتية (مثل المانيتول أو اللاكتوز أو الغلوكوز). وفي الحالتين لا يتغير المظهر الفيزيائي سوى تغييرا طفيفا، لأن جميع مواد الغش هي نفسها مساحيق ناعمة جافة بيضاء.

وبصورة عامة تبلغ نقاوة الكوكايين الذي يتم الاتجار به في البلدان المتقدمة اقتصاديا نحو ٣٠٪. وتتعرض المادة التي يتم الاتجار بها دوليا للغش بإضافة ثلاثة أضعاف وزنها تقريبا من المادة المخففة.

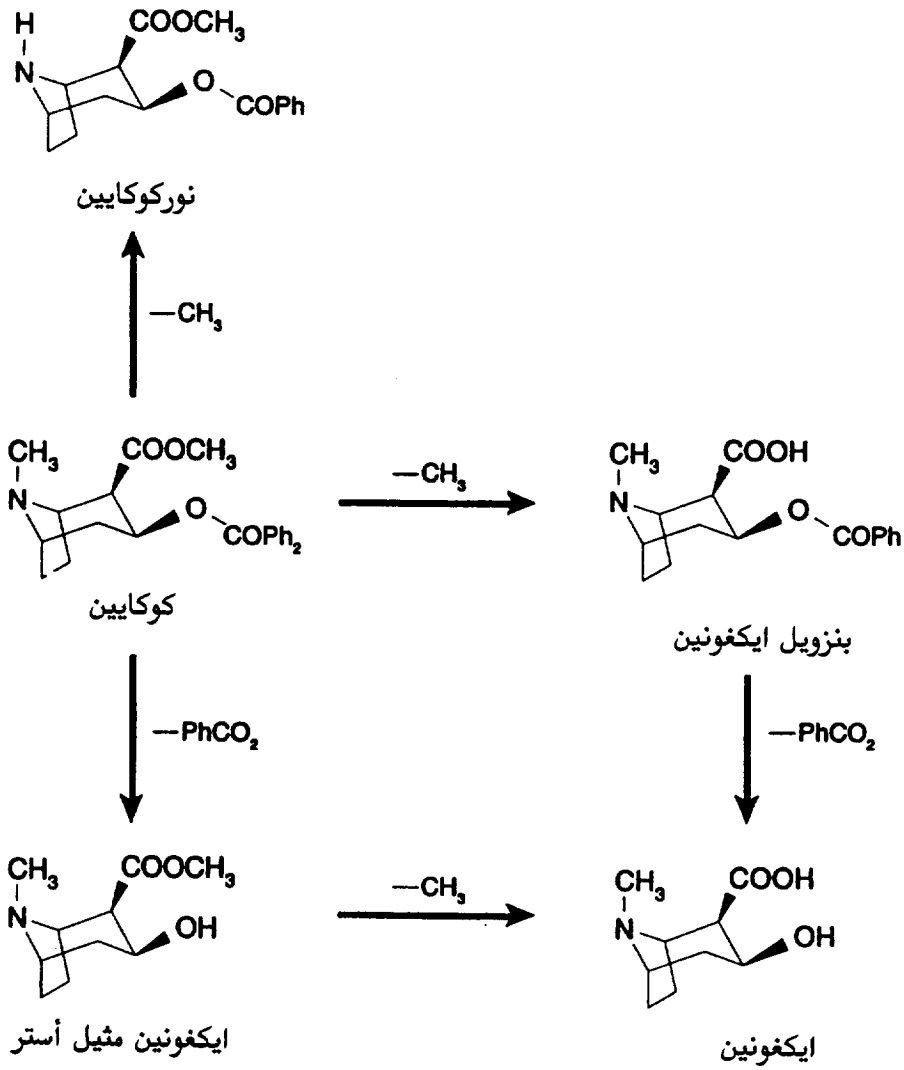
وإلى جانب مواد الغش والشوائب المبينة أعلاه، فإن هيدروكلوريد الكوكايين يمكن أن يحتوي أيضا على مجموعة من المواد بما فيها النشاء وحمض البوريك وكربونات الصوديوم الهيدروجينية والديبيرون.

وتتوافر الآن أشكال أحدث من الكوكايين، ولا سيما الأشكال القاعدية الحرة كالكوكايين القاعدي المستخلص والـ"كراك". ويمكن أن تحتوي هذه الأشكال على فضلات المذيبات أيضا إلى جانب مواد التحذير الموضعي المضافة لغرض الغش. ويعرف المزيج الشائع باسم « speed-ball » الذي يتكون من الكوكايين والهيروين.

وتجدر الإشارة، بالإضافة إلى ما تقدم، إلى المنشورات الاستعراضية التي تتناول كيمياء قلويدات الكوكا تناولا مفصلا [٦٩-٧٢]. ولوجود المركبات التالية أهمية عند إجراء التحليلات المختبرية لشتى العينات البيولوجية للكشف عن الكوكايين (للتعرف على البنية الكيميائية انظر الشكل الرابع-١):

كوكايين
بنزويل ايكغونين
ايكغونين مثيل أستر
ايكغونين

الشكل الرابع-١ مسالك أيض الكوكايين



٣ – طرق تعاطي الكوكايين

يمكن تعاطي الكوكايين عن طريق الأنف (أي الشم أو الاستنشاق، وهي أكثر طرق التعاطي شيوعا)، أو عن طريق الحقن الوريدية أو العضلية. كما يمكن تعاطيه أيضا عن طريق الفم أو تحت اللسان أو عن طريق المعي المستقيم أو المهبل أو بالتدخين. وفي حالة استنشاقه، يوضع الكوكايين على سطح أملس على هيئة خط رفيع قبل نفخه عبر ماصة ورقية أو أنبوب يشكل من ورقة ملفوفة. ويبلغ طول "خط" الكوكايين عادة ٣–٥سم ويحتوي على ١٠–١٠٠ ملغم من المسحوق. ويجري تعاطي قاعدة الكوكايين الحرة والكراك بالشهيق، أي بتدخينه بواسطة أداة خاصة. وفي بعض المناطق الجغرافية يجري تعاطي ورق الكوكا تقليديا بمضغها مع تربة قاعدية.

ويتباين التوافر البيولوجي للكوكايين وفقا لطريقة التعاطي (انظر الجدول الرابع–١) [٧٣].

الجدول الرابع–١ التوافر البيولوجي للكوكايين حسب طريق تعاطيه

طريق التعاطي	التوافر البيولوجي (٪)
الفم	٢٠–٣٠
الأنف	٢٠–٣٠
التدخين	٦–٣٢
الحقن الوريدية	١٠٠

٤ – الأيض والإبراز

يتحول الكوكايين إلى أيضتين رئيسيتين هما البنزويل ايكغونين والايكغونين مثيل أستر [٧٤]. وتم مؤخرا العثور على أيضات ثانوية أخرى في بول الإنسان منها أيضة النوركوكايين [٧٥]. ويلخص الشكل الرابع–١ مسالك الأيض. ويجري إبراز الكوكايين في البول على هيئة عقار غير متحول (١–٩٪ من الجرعة)، بنزويل إيكغونين (٣٥–٥٤٪) وإيكغونين مثيل أستر (٣٢–٤٩٪) [٧٦]. والمواد التي يوصى باستهدافها في التحليل هي الكوكايين وأيضتيه البنزويل ايكغونين والايكغونين مثيل أستر.

ويتحقق تركيز الذروة للكوكايين في البلازما في غضون فترة قصيرة بعد تعاطيه عن طريق الفم أو الرئة أو الحقن الوريدي. كما أن فترة تحقيق الأثر العقلي والنفسي الأقصى فترة قصيرة أيضا؛ وتتلاشى فيما بعد آثار الغبطة في غضون ٣٠–٦٠ دقيقة (٢٠ دقيقة بعد التدخين). ويبلغ عمر النصف لتخلص البلازما من الكوكايين ٣٨–٣٩ دقيقة بعد تعاطيه عن طريق الحقن الوريدي أو التعاطي عن طريق الرئة [٧٧].

باء – إجراءات أخذ العينة وتحضيرها لتحليل الكوكايين وأيضاته

تطبق الإجراءات العامة المشروحة في الفصل الأول – جيم وزاي–٥.

الاحتياطات الواجب اتخاذها

هناك بعض الاحتياطات التي يلزم اتخاذها عند معالجة عينات البول لتحليل الكوكايين وأيضاته. فالمواد المستهدفة بالتحليل ضعيفة الثبات مائيا، لا سيما في الظروف القاعدية [٧٨، ٧٩]. وينبغي حفظ العينات بعد جمعها في مكان بارد ومظلم بقدر الإمكان. وقد اتضح أن تركيزات الكوكايين في عينات البول تتناقص في الرقم الهيدروجيني ٨ pH بنسبة ٤٠–٧٠٪ أثناء حفظها في حرارة ٤°م لمدة ٢١ يوما. لذا ينصح بتعديل الرقم الهيدروجيني للعينة إلى ٥ pH بإضافة حمض الخليك المخفف. فالايكغونين لمثيل أستر على سبيل المثال، يبقى ثابتا لغاية ثلاث سنوات في البول بين ٣ pH و ٥ pH وفي حرارة ٤–٥°م [٨٠]. وتجدر الإشارة أيضا إلى أن أفضل أسلوب لحفظ عينات الدم التي ستستخدم لتحليل الكوكايين هو باستعمال الفلوريد وبرقم هيدروجيني ٥ pH.

١- *تحضير العينة للتحليل المناعي*

ينبغي، إن استلزمت الضرورة، إزالة العكر من البول بالطرد المركزي. كما ينبغي تعديل الرقم الهيدروجيني لعينات البول بين ٦,٥ و ٨ كما يلزم، ومن ثم تتبع إرشادات المنتج فيما يخص الإجراءات اللاحقة.

٢ - *تحضير العينة للكروماتوغرافيا*

(أ) التحليل المائي

لا حاجة هناك للتحليل المائي.

(ب) الاستخلاص

السائل/السائل

تستخلص عينة من البول يتراوح حجمها من ملليلتر واحد إلى ٢٠ ملليلتر وفقا للمنهجية التي ستتبع فيما بعد. يعدل الرقم الهيدروجيني للعينة إلى ٩ pH (المعدل ٨–٩,٥) باستعمال منظم مناسب. ويمكن استعمال أي من المحلولين المنظمين المناسبين التاليين:

البوراكس (٩–٩,٦ pH): محلول يحتوي على ١٩,٠٧ غم من رباعي بورات الصوديوم ($Na_2B_4O_7 . 10 H_2O$) في لتر واحد من الماء.

منظم الأمونيا (٩,٥ pH): يذاب كلوريد الأمونيوم (١٠,٧ غم) في محلول النشادر المائي (٥ مول؛ ٤٠ مل) ويكمل المحلول بالماء إلى لتر واحد.

ثم تستخلص العينة مرتين على الأقل مع حجمين متساويين من مذيب الاستخلاص. والمذيبان المناسبان لهذا الاستخلاص هما مزيج من ميثان ثنائي الكلور– ايزوبروبانول (٨٥: ١٥، حجم/حجم) أو مزيج من الكلوروفورم– ايزوبروبانول (٥٠: ٥٠، حجم/حجم). وينبغي الانتباه إلى ضرورة السماح للطبقة المائية (العليا) بالانفصال تماما عن طبقة المذيب (السفلى) قبل سحب الخلاصة، وذلك لتجنب سحب أي كمية من الماء. وفي حالة حدوث تكوّن مستحلب يمكن استعمال ورقة ترشيح معالجة بالسيليكون (ورقة فصل الطور) لترشيح الخلاصة. ترشح الطبقة

العضوية خلال كمية صغيرة من كبريتات الصوديوم الجافة (على المرشح)، يغسل المرشح بـ ٥ مل من المذيب. تبخر الخلاصة حتى الجفاف في الفراغ أو تحت تيار من النيتروجين.

الطور الصلب

التراب الدياتومي

ينبغي التقيد بإرشادات الصانع عند الاستخلاص بالتراب الدياتومي (على سبيل المثال Extrelut ®). وفيما يلي الطريقة المتبعة عموما [٩٠-٩٢].

يعدل الرقم الهيدروجيني لعينة من البول (٢٠مل) إلى pH ٩ باستعمال منظم NH_4Cl/NH_3 المشبّع. ثم تنقل العينة إلى عمود كروماتوغرافيا السائل يحتوي على ٢٠ غم من التراب الدياتومي وتترك لتنغمر فترة تتراوح بين ١٠ و ١٥ دقيقة. يشطف العمود بـ ٤٠ مل من مزيج ميثان ثنائي الكلور- ايزوبروبانول (٨٥:١٥، حجم/حجم). يستعاد نحو ٢٥ مل من محلول الشطف. يجمع محلول الشطف العضوي ويبخر حتى الجفاف.

السيليكا المعدلة

يوصى أيضا بإجراء الاستخلاص الصلب باستخدام خراطيش السيليكا المعدلة [٨٢، ٨٣، ٩٤]. ولهذه الطريقة بعض الفوائد منها اختصار الوقت، وتقليل حجم المذيبات اللازمة وتجنب مشاكل تكون المستحلبات التي تنشأ أحيانا أثناء عملية استخلاص السائل- السائل. وتقابل هذه الفوائد مسألة تكلفة الخراطيش المستعملة. ويرد أدناه شرح لطريقتين لاستخلاص الطور الصلب، وكل واحدة منهما طريقة تمثيلية لهذا النوع من الطرائق. ويتوافر عدد آخر من مواد استخلاص الطور الصلب، وينبغي التقيد بالإجراءات التي يوصي بها الصانع.

الإجراء ألف: يستند هذا الإجراء إلى استعمال خرطوشة السيليكا المعدلة (على سبيل المثال Bond Elut Certify®) التي تتيح حدوث تفاعلات أيونية وغير مستقطبة على السواء بين المواد المحللة والمادة المازّة [٨٥].

تدخل خراطيش الاستخلاص في مركز للعمل في الفراغ وتكيّف بغسلها بالميثانول (٢ مل) ثم بمنظم فوسفاتي (٠,١ مول؛ pH ٧؛ ٢ مل). ويجب الانتباه إلى عدم تجفيف الخراطيش بعد تكييفها.

تعرّض عينات البول للطرد المركزي وتمزج كميات صغيرة منها (٢,٥ مل) مع محلول عياري داخلي، إن اقتضى الأمر، ومنظم فوسفاتي (٠,١ مول؛ pH ٧؛ ملليلتر واحد). ويجر التأكد من الرقم الهيدروجيني وتعديله عند الضرورة إلى pH ٧.

تنقل عينات البول بعد ذلك إلى الخراطيش وتسحب ببطء في الفراغ.

تغسل الخراطيش بالماء مزال التأين (٣ مل)، وحمض الهيدروكلوريك المائي (٠,١ مول؛ ٣ مل) والميثانول (٩ مل).

تشطف المواد المحللة بمزيج من الكلوروفورم - ايزوبروبانول - نشادر مركزة (٨٠:٢٠:٢، حجم/حجم/حجم، ٢ مل).

تبخر محاليل الشطف حتى الجفاف.

الإجراء باء: يستند هذا الإجراء إلى استعمال عمود بأساس السيكلودكستران (مثال ذلك Cyclobond I) الذي يتيح الحصول على خلاصة نظيفة للبنزويل ايكغونين مع كفاءة استرجاعية بنسبة ٥٠٪ [٨٥].

تستعمل أعمدة السيكلوديكستران (٥٠٠ ملغم/٣مل) دون تكييف.

يضاف البول (٥ مل) إلى العمود ويسحب ببطء في الفراغ.

يغسل العمود بالماء (١٠ مل) ويجفف بالطرد المركزي أو بسحب الهواء عبر العمود لمدة ١٠ دقائق.

يغسل العمود بالاسيتون (٢,٥ مل) ويجفف في الفراغ.

يشطف البنزويل ايكغونين بمزيج الكلوروفورم – ايثانول (٨:٢، حجم/حجم؛ ٢ مل) بالضغط الموجب الخفيف على رأس العمود بواسطة بصيلة مطاطية.

يبخر محلول الشطف حتى الجفاف.

ويشرح اندرسون [٩٥] طريقة محسنة وسريعة وكفوءة لاستخلاص الطور الصلب للبنزويل ايكغونين مع قدرة استرجاعية بنسبة ٩٠–١٠٠٪. كما يرد في موضع آخر [٩٦] شرح لإجراء جديد وبسيط وسريع لتحضير العينة وتنظيفها لغرض كروماتوغرافيا الغاز وكروماتوغرافيا الغاز/القياس الطيفي الكتلي باستخدام قرص استخلاص الطور الصلب (عمود مصغر) واستخلاص على القرص (ODD).

(ج) العيارات الداخلية

ينبغي عند اختيار العيار الداخلي المناسب الالتزام بالشروط العامة المبينة في الفصل الثاني– زاي–٦ إن أمكن. وهناك ثلاث فئات من العيارات الداخلية المناسبة لتحليل الكوكايين وأيضاته بطريقة كروماتوغرافيا الغاز:

نظير للبنزويل ايكغونين، بروبيل بنزويل ايكغونين على سبيل المثال [٨١].

قلويد أفيوني، مثل ليفالورفان [٨٢]، أو نالورفين [٨٣]، أو اثيل مورفين [٨٤]، أو كوديين [٨٥].

مواد متنوعة مثل n – تتراكوسان، وتترافنيل اثيلين (لكاشف FID فقط)، أو بوتيل انثراكينون [٨٦].

أما العيارات الداخلية التي يفضل استعمالها في كروماتوغرافيا الغاز/القياس الطيفي الكتلي فهي نظائر الكوكايين وأيضاته المعلّمة بالديوتريوم، وإن لم تتوافر ينبغي استعمال أحد المعايير المبينة أعلاه لكروماتوغرافيا الغاز. والعيارات الداخلية المناسبة لكروماتوغرافيا السائل العالية الأداء هي الليدوكايين [٨٧] والتروباكوكايين (بنزويل تروبين) [٨٨].

(د) عيارات التدريج

تحضر المحاليل الأصلية في الميثانول الذي يحتوي على ١ ملغم/مل من الكوكايين، والبنزويل ايكغونين، وايكغونين مثيل أستر وعيار داخلي. وتحضر من هذه المحاليل الأصلية عيارات البول التي تحتوي على الكوكايين بتدرج صفر إلى ٥ ميكروغرام/مل، وبنزويل ايكغونين وايكغونين مثيل أستر بتدرج صفر إلى ٢٥ ميكروغرام/مل وعيار داخلي بتركيز ٢٥ ميكروغرام/مل. وينبغي إجراء معالجة متزامنة لمجموعة من عيارات تدريج البول مع عينات الاختبار.

جيم - طرائق الفحص الأولي

١ - طرائق التحليل المناعي

توصى المختبرات، عند توافر المرافق اللازمة، باتباع تقنيات التحليل المناعي الإشعاعي، والتحليل المناعي بالاستقطاب الفلوري، والتحليل المناعي الأنزيمي المضاعف، ومنع تلازن اللثى (انظر الفصل الأول - زاي-١). وتبلغ حدود الكشف بالتحليل المناعي الإشعاعي وبالاستقطاب الفلوري ٥٠ نانوغرام/مل أو أقل بوجه عام، بينما تبلغ ٣٠٠ نانوغرام/مل مع التحليل المناعي الانزيمي المضاعف. وتوجه الأجسام المضادة لمعدات التحليل المناعي المتوافرة جاريا نحو البنزويل ايكغونين، ولكنها يمكن أن تتفاعل تبادليا بأساليب مختلفة مع الكوكايين وأيضاته الأخرى [٩٧]. ويورد الجدول الرابع-٢ ملخصا للتفاعليات التبادلية.

الجدول الرابع-٢ التفاعلية التبادلية للتحليلات المناعية المتوافرة تجاريا للكوكايين وأيضاته

التحليل	التفاعلية التبادلية (٪)			
	بنزويل ايكغونين	كوكايين	ايكغونين مثيل أستر	ايكغونين
Coat-A-Count	١٠٤ (٣٠٠)[أ،ب]	٧ ٢٥٩ (٥٠)	١ (٥ ٠٠٠)	—
Aburscreen-RIA	١٠٨ (٣٠٠)[أ،ب]	٢١٥ (٣٠٠)	٠,٦ (٥ ٠٠٠)	—
EMIT-d.a.u.	١٠٠ (٣٠٠)[ج،د]	٠,١٥ (٢٠٠ ٠٠٠)	—	١,٥ (٢٠ ٠٠٠)
EMIT-s.t.	موجب (٣٠٠)[ب]	سالب (٥ ٠٠٠)	سالب (٥ ٠٠٠)	—
FPIA-TDx	٩٥,٧ (٣٠٠)[أ،ب]	١,٢ (٥ ٠٠٠)	٠,١ (٥ ٠٠٠)	—
Abuscreen-Ontrak	١٠٠ (٣٠٠)[ج،د]	١٠ (٣ ٠٠٠)	< ٠,٠١ (<١٠٠ ٠٠٠)	٠,٧٥ (٤٠ ٠٠٠)
Abuscreen-Online	١٠٠ (٣٠٠)[ج،د]	٠,٩٧ (٣٠ ٩٢٨)	٠,٣١ (٩٦ ٧٧٤)	١,٢ (٢٥ ٠٠٠)

[أ] التفاعلية التبادلية محسوبة بقسمة التركيز الظاهر على التركيز المستهدف وضرب الحاصل في ١٠٠ (الرقم بين القوسين هو التركيز الذي حددت فيه التفاعلية التبادلية، نانوغرام/مل).

[ب] انظر J. E. Wallace [٨٦].

[ج] التفاعلية التبادلية محسوبة بقسمة التركيز المستهدف (٣٠٠ نانوغرام/مل) على التركيز المكافئ لـ ٣٠٠ نانوغرام/مل من البنزويل ايكغونين وضرب الحاصل في ١٠٠ (التركيز المكافئ بين القوسين، نانوغرام/مل).

[د] معلومات مصدرها الصانع.

٢ - كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة

يجب استخلاص من ٥ إلى ٢٠ مل من البول. ويبلغ حدّ كشف الكوكايين والبنزويل ايكغونين بكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة ملليغرام واحد/ملليلتر من البول. ويبلغ حد كشف البنزويل ايكغونين بكروماتوغرافيا السائل العالية الأداء نحو ٠,٣ ملغم/مل من البول، ويفضل اتباع هذه الطريقة في حالة توافر المعدات اللازمة.

تقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة القياسية

ترد التفاصيل الخاصة بمواد وإجراءات كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة القياسية في موضع آخر [١٠] وهي قابلة للتطبيق على تحليل العينات البيولوجية.

صفائح كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة

الطلاء:	جلّ السيليكا المنشط « G » الذي يحتوي على مادة مضافة تتفلور عند إشعاعها بالضوء فوق البنفسجي، الطول الموجي ٢٥٤ نانومتر.
سمك الطبقة:	٠,٢٥ ملم
حجم الصفائح:	صفائح زجاجية ٢٠ × ٢٠سم، ٢٠ × ١٠سم، أو ١٠ × ٥سم. ويبلغ الجريان الأقصى ١٠سم تقريبا.

صفائح كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة

صفائح مجهزة تجايا لكروماتوغرافيا السائل العالية الأداء، ١٠ × ١٠سم، تظهّر عادة لمسافة ٥ سم.

المحاليل العيارية

كوكايين
بنزويل ايكغونين
ايكغونين مثيل أستر

تحضر محاليل عيارية بتركيز ١ ملغم/مل في الميثانول ويوضع ٥ ميكرولتر من كل محلول على الصفيحة.

الإجراء

تبخّر خلاصات البول (انظر الفصل الرابع- باء- ج) حتى الجفاف في أنبوب اختبار وتعاد إذابتها في الميثانول (٥٠ ميكرولتر). وتستعمل الخلاصة بأكملها في تبقيع الصفيحة.

مذيبات التظهير

النظام ألف (كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة) [١٠]:	ميثانول	١٠٠
	نشادر مركزة	١,٥
النظام باء (كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة) [٩٨]:	كلوروفورم	٥٠
	ميثانول	٥٠
النظام جيم (كروماتوغرافيا السائل العالية الأداء) [٩٩]:	خلات الأثيل	٥٠
	ميثانول	١٥
	ميثان ثنائي الكلور	٥
	نشادر مركزة	٣

الفحص البصري

يجب تجفيف الصفائح قبل الفحص البصري. ويمكن القيام بذلك في درجة الحرارة الاعتيادية، أو لغرض السرعة، باستخدام مروحة هواء ساخن، أو في فرن بدرجة حرارة ١٢٠°م لمدة ١٠ دقائق ومن أجل إجراء التظهير اللوني الصحيح، لا بد من إزالة جميع آثار النشادر أو غيرها من القواعد من الصفيحة. ويوصى باتباع طرائق الفحص البصري التالية:

ضوء فوق بنفسجي بطول موجي ٢٥٤ نانومتر.

كاشف يودو بلاتينات البوتاسيوم المحمضة (لتحضير هذا الكاشف انظر الفصل الثاني- جيم-٢)

كاشف دراجندروف (لتحضير هذا الكاشف انظر الفصل الثاني- جيم-٢)

ويمكن تحقيق استجابة أفضل بالرش اللاحق بمحلول كلوريد الحديديك المحمض [١٠٠].

كاشف الرش: يضاف حمض الكبريتيك المركز (١ مل) بعناية إلى محلول كلوريد الحديديك المائي (٥٪، وزن/حجم؛ ١٠ مل) ويمزج السائلان.

النتائج

الجدول الرابع-٣ قيم $R_f \times ١٠٠$

المركب	نظام التظهير	
	ألف	*باء*
كوكايين	٥٩	٦١
بنزويل ايكغونين	٢٥	٢٨
ايكغونين مثيل أستر	٦٥	—

الجدول الرابع-٤ ظهور البقع مع كل طريقة للفحص البصري

المركب	طريقة الكشف		
	الضوء فوق البنفسجي	يودو بلاتينات	دراجندروف
كوكايين	غامق	بنفسجي	برتقالي[أ]
بنزويل ايكغونين	غامق	سالب[ب]	برتقالي[أ]
ايكغونين مثيل أستر	سالب	أزرق	برتقالي[أ]

[أ] نفس اللون قبل وبعد الرش بمحلول كلوريد الحديديك المحمض.

[ب] تعطي البقع مع أكثر من ١ ميكروغرام بقعة قرمزية على خلفية قرمزية أفتح لونا [٨٥].

دال - طرائق التثبت الكروماتوغرافية

١ - كروماتوغرافيا الغاز

(أ) اشتقاق العينة

للكشف عن أيضات الكوكايين، ينبغي اشتقاق عينة البول (انظر أيضا الملاحظات في الفصل الأول-زاي-٥).

اشتقاق الألكيل/الأسيل (مشتقات « PFP »، ملائمة لكاشف التأين باللهب « FID » وكاشف النيتروجين - الفوسفور « NPD ») [٨٣].

تبخر خلاصة البول حتى الجفاف ويضاف إليها اندريد خماسي فلوروبروبيونيك (٥٠ ميكرولتر) وخماسي فلوروبروبانول(٢٥ ميكرولتر). يسخن المزيج إلى ٩٠°م لمدة ١٥ دقيقة. يبخر مفاعلا الاشتقاق وتعاد إذابة الفضالة في خلال الأثيل (٢٥ ميكرولتر). وتبقى مشتقات « PFP » ثابتة في المفاعل لعدة أشهر وبعد تبخيره لمدة ٢٤ ساعة على الأقل.

اشتقاق السيليل (مشتقات « TMS » أو « TBDMS »، ملائمة للكشف بـ « FID »

تبخر خلاصة البول حتى الجفاف ويعاد تكوينها في الاسيونيتريل (٢٥ ميكرولتر). يضاف مفاعل اشتقاق السيليل مثل (٢٥ ميكرولتر) من *N*-مثيل-*N*-ثلاثي مثيل سيليل ثلاثي فلورو أسيتاميد *N*-methyl-*N*-trimethylsilyltrifluoroacetamide (MSTFA) للحصول على مشتقات TMS، أو *N*-مثيل -*N*-(ثالث-بوتيل ثنائي المثيل سيليل) ثلاثي فلورو أسيتاميد -*N* methyl-*N*-(*tert*-butyldimethylsily)trifluoroacetamide (MTBSTFA) [٨٨] للحصول على مشتقات TBDMS، ويسمح بالتفاعل بالتسخين إلى ٥٠-٦٠°م لمدة ٣٠ دقيقة. يحقن المزيج مباشرة في جهاز الكروماتوغرافيا. وينبغي تحضير المشتقات بفترة وجيزة قبل التحليل بطريقتي كروماتوغرافيا الغاز أو كروماتوغرافيا الغاز/القياس الطيفي الكتلي، وتبقى هذه المشتقات ثابتة في المفاعلات لعدة أيام فقط.

(ب) تقنية العمود المعبأ [٨]

ظروف العمل

الكاشف: FID، هيدروجين بمعدل ٣٠مل/دقيقة، هواء بمعدل ٤٥٠ مل/دقيقة.

ملاحظة: *لتحسين الحساسية والخصوصية، يوصى باستخدام كاشف النتروجين – الفوسفور (NPD): ينبغي أن تتطابق برامترات التشغيل مع توصيات الصانع. كما ينبغي اختيار إجراءات تحضير العينة واشتقاقها بتجنب المذيبات والكواشف التي تحتوي على النيتروجين في المحلول النهائي الذي سيحقن في جهاز الكروماتوغرافيا.*

العمود: متران × قطر داخلي ٢–٤ ملم.

التعبئة: (أ) سيليكون ثنائي الميثل (SE-30, OV-1)

(ب) فنيل مثيل سيليكون، ٥٠٪ فنيل (OV-17)

الغاز الحامل: نيتروجين بمعدل ٣٠ مل/دقيقة

درجات حرارة العمل: الحاقن: ٢٢٠°م

الفرن: ٢٢٠°م

الكاشف: ٣٠٠°م

تكييف الأعمدة المعبأة:

ملاحظة: *ينبغي تكييف جميع الأعمدة المعبأة قبل استخدامها. وتكون درجة حرارة التكييف عادة أعلى بـ ٣٠°م على الأقل من درجة الحرارة التي سيجرى فيها التحليل، ما لم يؤدي هذا إلى تجاوز الحد الأعلى لدرجة الحرارة التي يحددها الصانع. وفي هذه الحالة يتبع تباين أصغر في درجة الحرارة ويجري تمديد فترة التكييف تمديدا ملموسا. وتكيّف الأعمدة عموما طوال الليل، أو لمدة لا تقل عن ١٥ ساعة.*

يجري التكييف باستعمال التدفق العادي للغاز الحامل على أن يفصل العمود عن الكاشف.

ملاحظة: ينظف منفذ الحقن والكاشف بانتظام لتجنب تحلّل العينات وفقدان حساسية الكاشف.

(ج) تقنية العمود الشعري

ظروف العمل

الكاشف: FID أو NPD (انظر الملاحظة الآنفة بخصوص الكاشف)

العمود: سيليكا منصهرة، ٢٥م × قطر داخلي ٠,٣٢ ملم مع طور ثابت مترابط كيميائيا غير مستقطب من ٠,١٥ ميكرون (مثيل سيليكون)

الغاز الحامل: هيليوم أو هيدروجين بمعدل ٢ مل/دقيقة

درجات حرارة العمل: الحاقن: ٢٥٠°م

الفرن: ١٥٠°م إلى ٢٨٠°م، بمعدل ٩°م/دقيقة

الكاشف: ٢٨٠°م

ملحوظة: *يجوز تباين بُعد العمود الشعري، والطور الثابت، وسمك الطور، والغاز الحامل، ومعدل التدفق عن الأوصاف المبينة أعلاه، وذلك وفقا لتوافر المواد. مع ذلك يمكن بصورة عامة تطبيق العمود غير المستقطب في تحليل العينات البيولوجية، ويوصى باستخدامه. وينبغي اختيار ظروف العمل المثلى وفقا لتوصيات المجهز.*

٢ - كروماتوغرافيا الغاز / القياس الطيفي الكتلي

في حالة استخدام مقياس طيف الكتلة ككاشف، يورد الجدول الرابع-٥ الأيونات الرئيسية (m/z) في أطياف EI^+. وترد تفاصيل إجراءات كروماتوغرافيا الغاز/القياس الطيفي الكتلي باستعمال الرصد الأيوني المختار (SIM) في مواضع أخرى [٩٥، ١٠١].

الجدول الرابع- ٥ الأيونات الرئيسية في أطياف كتلة الكوكايين وأيضاته

	الأيونات الشظوية الرئيسية (m/z)			
الركب	غير مشتق	مشتق PFP	مشتق TMS	مشتق TBDMS
كوكايين	٨٢، ١٠٥، ١٨٢، ٣٠٣	(لا تتكون)	(لا تتكون)	(لا تتكون)
بنزويل ايكغونين	٨٢، ٩٣، ١٢٤، ١٦٨	٢٧٢، ٣٠٠، ٣١٦، ٤٢١	٨٢، ٢٤٠، ٣٦١	٢٨٢، ٣٤٦، ٤٠٣
ايكغونين مثيل أستر	٨٢، ٩٦، ١٦٨، ١٩٩	١١٩، ١٨٢، ٣٤٥	٨٢، ٨٣، ٩٦، ٩٨، ١٨٢	١٨٢، ٢٥٦، ٣١٣

٢ - كروماتوغرافيا السائل العالية الأداء

الإجراء

تبخّر خلاصات البول حتى الجفاف ويعاد تكوينها في الأسيتونيتريل أو الطور المتحرك (٥٠-١٠٠ ميكرولتر) ويحقن ١٠-٢٠ ميكرولتر.

وفيما يلي النظم الملائمة من كروماتوغرافيا السائل العالية الأداء:

الطريقة ألف [٨٧]

العمود: أوكتاديسيل سيليكا الطور المعكوس، ٣ ميكرون، ١٠ سم × قطر داخلي ٣,٢ ملم.

الطور المتحرك: منظم فوسفاتي (٠,٠١ مول؛ pH ٢,١) يحتوي على ترابوتيل- هيدروكسيد الأمونيوم (٠,٢ ملليمول) وعلى أستونيتريل (٦٪، حجم/حجم)

معدل التدفق: ١,٥ مل/دقيقة

الكشف: ضوء فوق بنفسجي بطول موجي ٢٣٣ نانومتر

الطريقة باء [٨٨]

العمود: أوكتاديسيل سيليكا الطور المعكوس، ٣ ميكرون، ١٥ سم × قطر داخلي ٤,٦ ملم + عمود أولي

الطور المتحرك: أسيتونيتريل- ماء (١٧,٥ : ٨٢,٥، حجم/حجم) يحتوي على حمض الفوسفوريك (٨,٥ غم/لتر) وهيكسيل أمين (٠,٢٨ مل/لتر)، pH ٣

معدل التدفق: ١,٢ مل/دقيقة

الكشف: ضوء فوق بنفسجي بطول موجي ٢٣٠ نانومتر

الطريقة جيم [٩٤]

العمود:	أوكتاديسيل سيليكا الطور المعكوس، ٢٥ سم × قطر داخلي ٤,٦ ملم + عمود أولي
الطور المتحرك:	الأولي: ١٠٪ أسيتونيتريل في منظم فوسفات البوتاسيوم (٠,٠٥ مول؛ pH ٣,٢). ويرفع التركيز إلى ٥٠٪ أسيتونيتريل عبر فترة ١٥ دقيقة وتجري المحافظة على التركيز النهائي لمدة ٥ دقائق حيث تلزم فترة ٥ دقائق لاستعادة التوازن بين حقن وآخر.
معدل التدفق:	١,٥ مل/دقيقة
الكشف:	ضوء فوق بنفسجي بطول موجي ٢٠٠ نانومتر

هاء – تفسير النتائج

١ – السياق الزمني للكشف

بعد تناول جرعة منفردة من الكوكايين يمكن الكشف عن العقار غير المتأيض لغاية ٢٤ ساعة وعن أيضتي البنزويل ايكغونين وايكغونين مثيل أستر لغاية ٤٨ ساعة [١٠٢–١٠٤]. وتكون فترة الكشف أطول في حالة التعاطي المزمن للعقار، حيث تبلغ خمسة أيام أو أكثر [١٠٥، ١٠٦].

وتلاحظ تباينات طفيفة في الكميات النسبية للأيضات المبرزة بعد تعاطي الكوكايين عن طريق الأنف أو الحقن الوريدية أو التدخين [١٠٧].

وبصورة عامة، لا تتيح تركيزات الكوكايين وأيضاته في البول التوصل إلى أي استنتاجات بشأن كمية العقار المتناولة، أو الفترة الزمنية التي مضت منذ تناول آخر جرعة، أو مستوى الضعف.

٢ – الاحتياطات الواجب اتخاذها

يتكون الايكغونين مثيل أستر بفعل أنزيم الكولين استيريز الكاذب (pseudocholinesterase). ويمكن لنمط إبراز الأيضة أن يتغير نتيجة لأي شذوذ في نشاط هذا الأنزيم لأسباب وراثية [١٠٨] أو بسبب التناول المتعمد المتزامن مع تعاطي العقار لمثبطات الكولين استيريز مثل المبيدات العضوية – الفوسفورية.

ويجوز، بعد التناول المتزامن للكوكايين والايثانول، ملاحظة بنزويل ايكغونين اثيل أستر (كوكايثلين)، وهو نظير للكوكايين، إلى جانب نواتج تحولية ثانوية أخرى [٩٩، ١٠٩].

ويمكن أن يؤدي استهلاك مشروبات محضرّة من الشاي الذي يحتوي على أوراق الكوكا (« Health Inca Tea ») إلى امتصاص الكوكايين وبالتالي إلى إبراز البنزويل ايكغونين في البول بتركيزات تبلغ بضعة ملليغرامات لكل لتر من البول [١١٠].

ويمكن ملاحظة الايكغونين مثيل أستر اللامائي بعد تدخين قاعدة الكوكايين الحرة (« crack ») [١١١].

واو – تحليل المواد البيولوجية الأخرى وتفسير النتائج

بعد تناول الكوكايين لأغراض طبية يبلغ تركيز الكوكايين والبنزويل ايكغونين في البلازما عموما معدلات لا تتجاوز ٠,٥ و ٠,١ ميكروغرام/مل على التوالي. وفي حالة تناول جرعات مفرطة، يتراوح تركيزاهما في دم الجثة المشرحة ١–٢٠ و ١–١٠ ميكروغرام/مل على التوالي [٧٦، ١١٢].

وكما وردت الإشارة إليه آنفا (الفصل الرابع– باء) فإن الكوكايين، وأيضاته، سريع التحلل مائيا (التحلل الأنزيمي واللاأنزيمي على السواء). لذا ينبغي جمع عينات الدم والبلازما في أنابيب تحتوي على فلوريد الصوديوم وتعديل الرقم الهيدروجيني إلى pH ٥ باستعمال حمض الخليك (١٠٪، حجم/حجم). ويمكن حفظ هذه العينات في الثلاجة بدرجة ٤°م أو تجميدها إن أمكن لعدة أشهر [٧٨، ٧٩، ١١٣].

وقد عثر على الكوكايين أيضا في عينات الشعر واللعاب المأخوذة من متعاطي الكوكايين [١١٤–١١٨]. ولم يتم حتى الآن التوصل إلى طريقة للتفسير الكمي لتركيزات الكوكايين في الشعر، ولكن مستويات الكوكايين في اللعاب ترتبط جيدا بتركيزاته في البلازما على ما يبدو.

خامسا – الطرائق الموصى بها للكشف عن الأمفيتامين والميثامفيتامين وتحليلهما في العينات البيولوجية

ألف – مقدمة

يستمد حجم واسع من الأمفيتامين والميثامفيتامين غير المشروعين من التحضير في مختبرات سرية، مع كميات هامة، وإن كانت أصغر، من الاستعمال المحوّل أو غير المناسب لمواد منتجة بصورة مشروعة. وهناك تباين ملحوظ في وجود الأمفيتامين والميثامفيتامين في مناطق العالم المختلفة: حيث يسود الأمفيتامين في أوروبا بينما يكون الميثامفيتامين أكثر شيوعا في الولايات المتحدة الأمريكية واليابان وجنوب شرقي آسيا.

ويرد في دليل الأمم المتحدة عن الطرائق الموصى بها لاختبار الأمفيتامين والميثامفيتامين [١١٩] شرح مفصل إلى حد ما لطرائق الإنتاج غير المشروع للأمفيتامين والميثامفيتامين وخواصهما الكيميائية ومظهرهما الفيزيائي، لذا فلن يتكرر هذا الشرح في الدليل الحالي. مع ذلك، فلقد ظهر منذ إصدار ذلك الدليل شكل نقي من (+)– هيدروكلوريد الميثامفيتامين، الذي يعرف بـ"الجليد" (ice) بالنظر لبلوراته اللوحية الشكل الشفافة [١٢٠].

١ – طرق التعاطي

يغلب تعاطي الأمفيتامين عن طريق الفم أو الأنف (الاستنشاق) على هيئة ملح الكبريتات أو الفوسفات وبجرعات تتراوح بين ٥ إلى ١٥ ملغم لدى الأشخاص الذين يتعاطونه من وقت لآخر، وبين ١٠٠ إلى ٠٠٠ ٢ ملغم لدى المدمنين [١٢١]. أما الميثامفيتامين فيغلب أن يحضر للحقن أو للتدخين (« ice ») [١٢٠] ولكنه يتوافر أيضا في شكل أقراص.

٢ – الأيض والإبراز

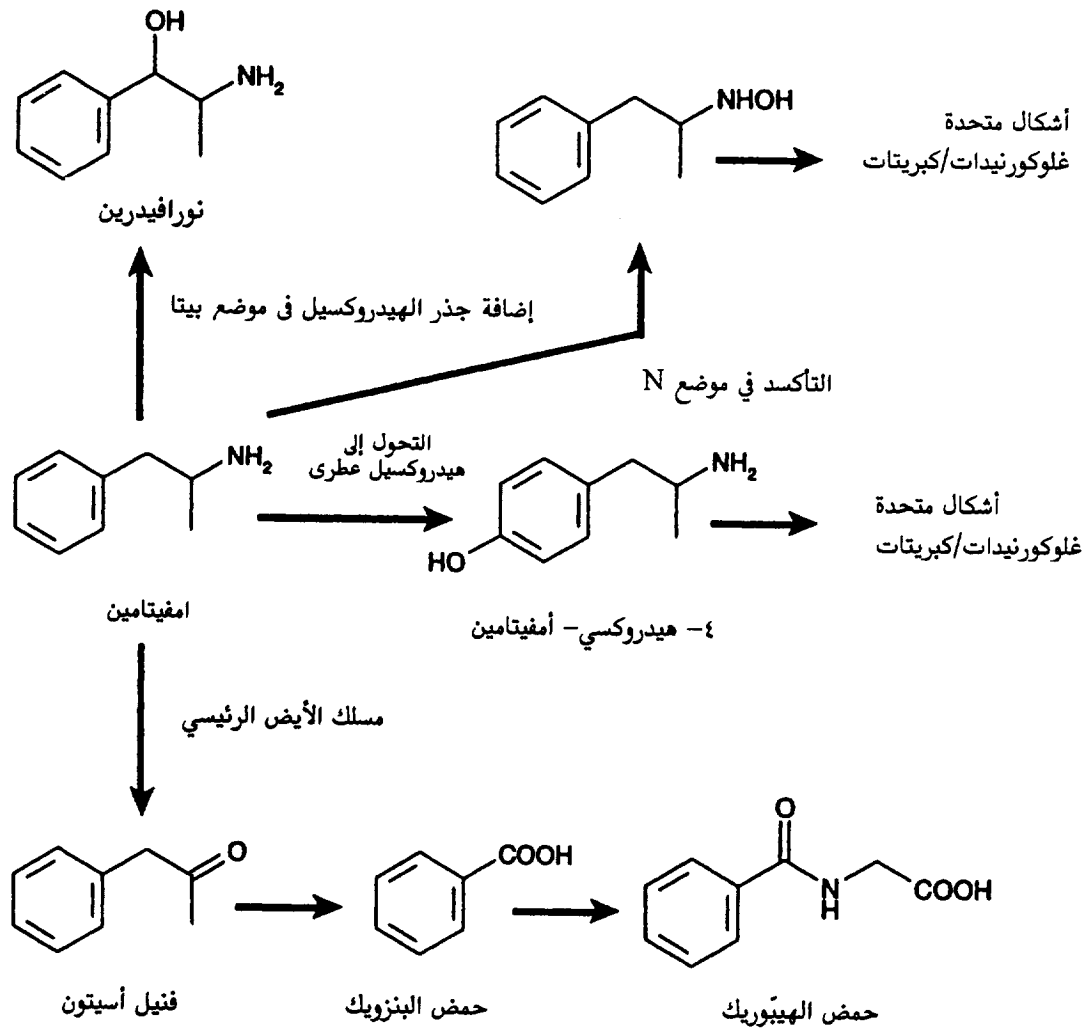
بعد تناول جرعات فمية من الأمفيتامين يبلغ مقدارها ٢,٥–١٥ ملغم، يتم في غضون ساعتين بلوغ مستويات الذروة في البلازما وتتراوح بين ٣٠ و ١٧٠ ميكروغرام/مل، ويتراوح عمر النصف لتخلص البلازما منه بين ٨ و ١٢ ساعة. ويتجاوز عادة تركيزه في الدم في الحالات المميتة ٥٠٠ ميكروغرام/مل [١٠٦].

ويبدأ الأمفيتامين والميثامفيتامين في الظهور في البول بعد ٢٠ دقيقة من تناولهما. ويبرز الأمفيتامين كالعقار نفسه دون تغيير بنسبة تتراوح عادة بين ٢٠ و ٣٠٪ من الجرعة، وكأيضات منزوعة الأمين (حمض الهيبّوريك وحمض البنزويك) وأيضات هيدروكسيلية، ويكون قسم من هذه الأيضات متحدا، وتبلغ نسبتها عادة ٢٥٪ من الجرعة. وتتباين سرعة الإبراز وجزء الجرعة المبرز في شكل عقار غير متحول وفقا للرقم الهيدروجيني للبول. ففي البول القاعدي يبرز نحو ٤٥٪ من الجرعة في غضون ٢٤ ساعة، ٢٪ منها كعقار غير متحول. أما في البول الحمضي فيمكن أن يبرز لغاية ٧٨٪ من الجرعة في غضون ٢٤ ساعة، ٦٨٪ منها كعقار غير متحول [١٢٢]. لذا يوصى بأن يستهدف العقار غير المتحول في إجراء التحليل. ويوجز الشكل الخامس–١ مسالك الأيض الكبرى والصغرى للأمفيتامين.

ويبرز الميثامفيتامين كعقار غير متحول (٤٤٪)، وفي شكل أيضتيه الرئيستين الأمفيتامين (٦-٢٠٪) و ٤- هيدروكسي ميثامفيتامين (١٠٪) [١٢٣]. ويوجز الشكل الخامس-٢ مسلك أيض الميثامفيتامين. وكما في حالة الأمفيتامين، يؤدي البول الحمضي إلى زيادة سرعة الإبراز والنسبة المئوية للعقار غير المتحول.

وبعد التعاطي المزمن، يظهر الأمفيتامين في بول المدمنين بتركيزات ١-٩٠ ميكروغرام/مل، والميثامفيتامين بتركيزات ٢٥-٣٠٠ ميكروغرام/مل [١٢٤].

الشكل الخامس-١ مسلك أيض الأمفيتامين



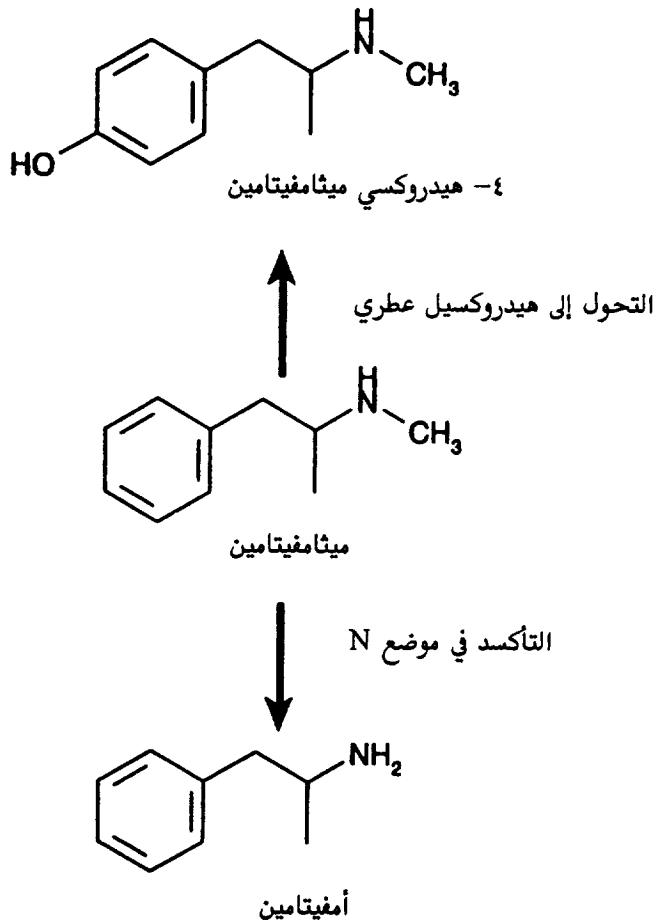
باء - أخذ العينات وتحضيرها لتحليل الأمفيتامين والميثامفيتامين وأيضاتهما

تنطبق إجراءات أخذ العينات العامة التي ترد في الفصل الأول-جيم وزاي-٥ على العينات المستعملة لتحليل الأمفيتامين والميثامفيتامين.

الاحتياطات الواجب اتخاذها

ينبغي الانتباه عند تركيز الخلاصات التي تحتوي على الأمفيتامين والميثامفيتامين بالتبخير إذ قد تفقد بعض القواعد الحرة أثناء تبخر المذيب. ويمكن تجنب ذلك بإضافة حمض الهيدروكلوريك الميثانولي (ميثانول: حمض الهيدروكلوريد المركز "٩:١، حجم/حجم؛ ٥٠ ميكرولتر") إلى الخلاصة لتكوين الأملاح الهيدروكلورية للعقارين قبل تبخير المذيب.

الشكل الخامس-٢ مسلك أيض الميثامفيتامين



١ - *تحضير العينة للتحليل المناعي*

لا يلزم بصورة عامة سوى تحضير بسيط للعينات لإجراء اختبارات التحليل المناعي. ولا ضرورة لإجراء تحليل مائي لعينات البول بما أن التحليلات المناعية تقيس الشكلين الحر والمتحد للعقار و/أو أيضاته على السواء. وقد يلزم تعديل الرقم الهيدروجيني أو إجراء عملية الطرد المركزي للبول للتخلص من العكر. وكيما تتحقق أفضل النتائج، ينبغي اتباع إرشادات الصانع.

٢ - *تحضير العينة للكروماتوغرافيا*

(أ) التحليل المائي

لا حاجة لإجراء تحليل مائي.

(ب) الاستخلاص

السائل - السائل

يستخلص الأمفيتامين والميثامفيتامين من البول في رقم هيدروجين قاعدي، عندما تكون المجموعة الأمينية في الحالة غير المشحونة. وتبلغ قيمتا pK_a للعقارين ٩,٩ و ١٠,١ على التوالي، والرقم الهيدروجيني الذي ينبغي تحقيقه للحصول على أفضل استعادة هو ١١ pH. ويمكن اتباع الإجراء التالي [١٢٥]:

يمتص ٢ مل من البول بأنبوبة ماصة وينقل إلى أنبوب مخروطي القاعدة بسعة ٥٠ مل ويضاف إليه محلول عياري داخلي (محلول ٢- ميثل- فنيل أثيل أمين؛ ٨ ميكروغرام/مل؛ ٠,٢٥ مل)، ومحلول هيدروكسيد الصوديوم (١ مول؛ ٢ مل)، وماء (٥ مل)، وميثان ثنائي الكلور (٢٠ مل) يغلق الأنبوب بسدادة ويرج، ثم يعرّض للطرد المركزي بسرعة بطيئة لمدة ٥ دقائق، ويجري التخلص من الطبقة العليا.

وإن لزم تنقية الخلاصة مرة أخرى، يمكن اتباع خطوة تنظيف إضافية تستند إلى عملية الاستخلاص الارتجاعي في حمض.

يضاف حمض الكبريتيك إلى الخلاصة (٠,١٥ مول؛ ٢ مل)، يغلق الأنبوب بسدادة، ثم يرج ويعرّض للطرد المركزي كما في الخطوة السابقة. تنقل الطبقة المائية العليا إلى أنبوب مستدير القاعدة بسعة ١٥ مل ويضاف إليها محلول هيدروكسيد الصوديوم (١ مول؛ ١ مل) و ١- كلوروبوتان أو ميثان ثنائي الكلور (٢,٥ مل). يغلق الأنبوب ويعرض لدوامة شديدة ثم للطرد المركزي. ينقل المذيب العضوي إلى أنبوب نظيف ويضاف إليه حمض الهيدروكلوريك الميثانولي (٩ : ١، حجم/حجم؛ ٥٠ ميكرولتر) وتبخر الخلاصة حتى الجفاف.

الطور الصلب

تتيح هذه الطريقة اختصار الوقت وخفض حجم المذيبات اللازمة وتجنب مشاكل تكوّن المستحلبات التي تنشأ أحيانا أثناء علمية استخلاص السائل - السائل. وتقابل هذه الميزات بتكلفة الخراطيش المستعملة.

وتحتوي الخراطيش المناسبة على تراب دياتومي أو سيليكا مستبدلة بمجموعات غير مستقطبة (أوكتاديسيل سيليكا) [١٢٦]، أو مجموعات استبدال الكاتيون، أو ممزوجة ببدائل غير مستقطبة وبدائل تبادل أيوني [١٢٧]. وينبغي اتباع إرشادات الصانع حسب الخراطيش المستعملة.

وفيما يلي إجراء نموذجي:

يجري تكييف خراطيش استبدال الكاتيون المتينة (بنزين سلفونيل بروبيل سيليكا، سعة ملليلتر واحد) في الفراغ أو في مركز العمل في فراغ باستعمال الميثانول (٢ مل) والماء (ملليلتر واحد)، وحمض الفوسفوريك (١٠ ملليمول؛ ٠,٥ مل). يمزج البول (ملليلتر واحد) مع حمض الفوسفوريك (١٠ ملليمول؛ ٠,٥ مل) مزجا جديا في أنبوب ويضاف إلى الخرطوشة. تجفف الخرطوشة بالهواء لمدة ٣٠ ثانية تقريبا ثم تغسل بحمض الفوسفوريك (١٠ ملليمول؛ ملليلتر واحد)، وحمض الخليك (٠,١ مول؛ ٠,٥ مل) والميثانول (ملليلتر واحد). ثم يعاد تجفيف العمود في الهواء لمدة ٣٠ ثانية تقريبا وتشطف المواد المحللة بالميثانول النشادري (٣٪، حجم/حجم؛ ٢ مل). تبخر الخلاصة حتى الجفاف في الفراغ أو باستعمال تيار من النيتروجين مع التقيد بالاحتياطات المبينة في الفصل الخامس- باء-٢- ب.

(ج) العيارات الداخلية

ينبغي عند اختيار العيار الداخلي المناسب التقيد بالمعايير العامة الموضحة في الفصل الأول- زاي-٦ إن أمكن. والعيارات الداخلية المقترحة لتحليل الأمفيتامينات في البول بطريقتي كروماتوغرافيا الغاز وكروماتوغرافيا السائل العالية الأداء هي الفنترمين، والبروبيل أمفيتامين

وغيرهما من نظائر الأمفيتامين. أما العيارات الداخلية المفضلة لكروماتوغرافيا الغاز/القياس الطيفي الكتلي فهي نظائر الأمفيتامين والميثامفيتامين المعلَمة بالديوتريوم، وإن لم تتوافر هذه النظائر ينبغي استعمال العيارات المبينة لكروماتوغرافيا الغاز.

(د) عيارات التدريج

تحضر محاليل أصلية منفصلة في الميثانول الذي يحتوي على ١ ملغم/مل من الأمفيتامين والميثامفيتامين وعيار داخلي. وتحضر من هذه المحاليل الأصلية عيارات البول التي تحتوي على الأمفيتامين والميثامفيتامين بتدرج صفر–٥ ميكروغرام/مل وعيار داخلي بتركيز ٥ ميكروغرام/مل. وينبغي أن تتم معالجة متزامنة لمجموعة من عيارات تدريج البول مع عينات الاختبار.

جيم – طرائق الفحص الأولي

١ – طرائق التحليل المناعي

كما أشير إليه في الفصل الأول–زاي–١، يمكن استخدام تقنيات التحليل المناعي لأغراض الفحص الأولي ويجب التثبت من النتائج الموجبة بطريقة أخرى أكثر خصوصية. ولهذه المسألة أهمية خاصة في تحليل الأمفيتامين والميثامفيتامين بالنظر لوجود عدد كبير من العقاقير المشابهة للأمفيتامين، يمكن أن يتفاعل بعضها تبادليا مع الأجسام المضادة الموجهة للأمفيتامين والميثامفيتامين (انظر أيضا الفصل السادس– جيم–١). وتتضمن العدد الجاهزة المتوافرة تجاريا للتحليل المناعي للأمفيتامين والميثامفيتامين التحليل المناعي الأنزيمي، والتحليل المناعي بالاستقطاب الفلوري، والتحليل المناعي بمنع تلازن اللثى، والتحليل المناعي الإشعاعي. وتتباين خصوصية هذه التحليلات المناعية تباينا واسعا، وذلك وفقا للجسم المضاد المعين المستعمل. ويلخص الجدول الخامس–١ بعض صفات التحليلات المناعية المتوافرة.

الجدول الخامس–١ التفاعليات التبادلية للتحليلات المناعية المتوافرة تجاريا للأمفيتامين (A) والميثامفيتامين(MA)

	التفاعلية التبادلية (٪)				
التحليل	*d-A*	*l-A*	*D,l-A*	*d-MA*	l-MA
EMIT-d.a.u. monoclonal	١٠٠ (٣٠٠)[أ،ب]	١٠ (٢٩٠٠)	٦٠ (٥٠٠)	١٠٠ (١ ٠٠٠)	١٤ (٧ ٠٠٠)
FPIA-TDx amphetamine	٩١ (١ ٠٠٠)[ج،د]	٦١ (١ ٠٠٠)	١٠٠ (١ ٠٠٠)	١٢٣ (١ ٠٠٠)	١١٥ (١ ٠٠٠)
FPIA-TDx amphetamine/ methamphetamine II	١٠٠ (١ ٠٠٠)[ج،د]	٥٧ (١ ٠٠٠)	١٦٥ (١ ٠٠٠)	٩٨ (١ ٠٠٠)	٧ (١ ٠٠٠)
Abuscreen-Online	١٠٠ (١ ٠٠٠)[ب،ه]	—	٦٦ (١ ٥١٧)	٠,٥ (٢١٩ ٢٩٨)	—

[أ] التفاعلية التبادلية محسوبة بقسمة تركيز العقار المستهدف (٣٠٠ أو ١ ٠٠٠ نانوغرام/مل) على تركيز مكافئ لـ ٣٠٠ أو ١ ٠٠٠ نانوغرام/مل من (d- أمفيتامين) أو ١ ٠٠٠ نانوغرام/مل من (d- ميثامفيتامين) وضرب الحاصل في ١٠٠ (المكافئات بين القوسين، نانوغرام/مل).

[ب] معلومات مصدرها الصانع.

[ج] التفاعلية التبادلية محسوبة بقسمة التركيز الظاهر (المحسوب) على التركيز الفعلي وضرب الحاصل في ١٠٠ (الرقم بين القوسين هو التركيز الذي حددت فيه التفاعلية التبادلية، نانوغرام/مل).

[د] J. T. Cody [١٢٨].

٢ - كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة القياسية

تقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة القياسية

ترد في الفصل الأول-زاي-٢ التعليقات العامة بشأن تطبيق كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة كتقنية للفحص الأولي. وترد في موضع آخر التفاصيل بشأن المواد والإجراءات اللازمة لكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة القياسية [١٠] وهي قابلة للتطبيق على تحليل الخلاصات البيولوجية.

صفائح كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة

الطلاء:	جلّ السيليكا المنشط، يحتوي على مادة مضافة تتفلور عند إشعاعها بضوء فوق بنفسجي، بطول موجي ٢٥٤ نانومتر.
سمك الطبقة:	٠,٢٥ ملم
حجم الصفائح:	٢٠ × ٢٠سم، ٢٠ × ١٠سم، أو ١٠ × ٥سم؛ ويبلغ الجريان الأقصى ١٠سم تقريبا.

المحاليل العيارية

أمفيتامين
ميثامفيتامين

تحضر جميع المحاليل العيارية بتركيز ٥ ملغم/مل في الميثانول ويضاف ميكرولتر واحد من كل محلول إلى الصفيحة.

الإجراء

تبخر خلاصات البول حتى الجفاف في أنبوب اختبار، مع الالتزام بالاحتياطات المذكورة في الفصل الخامس-باء-٢-ب، وتذاب الفضالة في الميثانول (٥٠ ميكرولتر). تبقع الخلاصة بأكملها على الصفيحة بواسطة أنبوب شعري زجاجي.

مذيبات التظهير [١٢٩]

النظام ألف:	ميثانول	١٠٠
	نشادر مركزة	١,٥
النظام باء:	خلات الأثيل	٨٥
	ميثانول	١٠
	نشادر مركزة	٥

الفحص البصري

يجب تجفيف الصفائح قبل فحصها بصريا. ويمكن القيام بذلك في درجة الحرارة الاعتيادية، أو في فرن بدرجة حرارة ١٢٠°م لمدة ١٠ دقائق، أو لغرض السرعة، باستخدام مروحة هواء ساخن. ومن أجل إجراء التظهير اللوني الصحيح، لا بد من إزالة جميع آثار النشادر من الصفيحة. ويوصى باتباع طرائق الفحص البصري التالية:

كاشف K الأسود الثابت [١٣٠-١٣٢]

المحلول ألف: ١٪ من ملح K الأسود الثابت في الماء.
المحلول باء: هيدروكسيد الصوديوم ١ مول.

ترش الصفائح بالمحلول ألف وتلاحظ أي بقع ملونة. وتنتج الأمينات الثانوية، مثل الميثامفيتامين، البقع فورا. ويؤدي الرش الثاني بالمحلول باء إلى ظهور البقع بوجود الأمفيتامين (وأي أمفيتامين بديل آخر). تجفف الصفائح بالهواء وترش مرة ثانية بالمحلول ألف. ويؤدي ذلك إلى ظهور بقع أوضح. وتتراوح الألوان بين البنفسجي للأمينات الأولية إلى وردي تقريبا للأمينات الثانوية كالميثامفيتامين. وتبلغ حدود كشف الأمفيتامين والميثامفيتامين ٠,١ و ٠,٠٥ ميكروغرام على التوالي [١٣٠].

كاشف نينهيدرين (Ninhydrin).

يحضر محلول في الميثانول بتركيز ١٠٪.

ترش الصفيحة بكاشف نينهيدرين وتسخن في الفرن بدرجة ١٢٠°م لمدة ١٥ دقيقة على الأقل. تظهر بقع بنفسجية أو وردية بوجود الأمينات الأولية كالأمفيتامين، وبقع أغمق لونا بوجود الأمينات الثانوية كالميثامفيتامين.

كاشف فلورسكامين (فلورام) (Fluram).

يحضر محلول بإذابة ١٠ ملغم من الفلورسكامين في ٥٠ مل من الأسيتون.

ترش الصفيحة بكاشف فلورسكامين وتجفف باستعمال مروحة هواء ساخن. تلاحظ الصفيحة تحت ضوء فوق بنفسجي بطول موجي ٣٦٥ نانومتر. يعطي الأمفيتامين بقعة فلورية صفراء براقة. ويبلغ حد الكشف للأمفيتامين والأمينات الأولية الأخرى نحو ١٠ نانوغرام. ولا يمكن الكشف عن الميثامفيتامين بهذا الكاشف.

كاشف سيمونز (Simons).

المحلول ألف: ٢٠٪ كربوناتِ الصوديوم المائية.

المحلول باء: ١٪ نيتروبروسيد الصوديوم المائي.

ترش الصفيحة بالمحلول ألف ثم ترش ثانية بالمحلول باء. توضع الصفيحة في حوض تظهير فارغ مع كأس يحتوي على الأسيتالدهيد. يغطى الحوض. يؤدي تبخر الأسيتالدهيد إلى تحول بقعة الميثامفيتامين إلى اللون الأزرق الداكن. ويبلغ حد كشف الأمفيتامين في البول نحو ٠,١ ميكروغرام/مل. ويكوّن الأمفيتامين والأمينات الأولية الأخرى بقعا وردية فاتحة إلى حمراء اللون ويكون تفاعله مع هذا الكاشف أقل حساسية.

الجدول الخامس-٢ قيم $R_f \times ١٠٠$

المركب	نظام التظهير	
	ألف	باء
أمفيتامين	٤٤	٦٦
ميثامفيتامين	٣٣	٦٣

٣ - الاختبار اللوني

تم تسجيل اختبار حساس وخاص للفحص الأولي للأمفيتامين في البول [١٣٣].

تحضير خراطيش الامتزاز

تعبأ أوكتاديسيل سيليكا (ODS-silica؛ ٠,١٣ غم) بالمص بسفاطة في أنبوب من البوليثيلين (٣٥ ملم × قطر داخلي ٤ ملم)، مسحوب إلى نهاية دقيقة (قطر داخلي من ٢ ملم تقريبا).

تحضير كاشف سيمونز المعدّل

يمزج الأسيتالدهيد (٢٥ مل) الذي يحتوي على ١,٥٪ حمض الخليك مع الياثنول (٢٥ مل) ويحفظ في الثلاجة. يمزج حجم واحد من محلول الأسيتالدهيد قبل الاستعمال مع حجم واحد من محلول ١٪ نيتروبروسيد الصوديوم المائي.

الإجراء

يجري أولا تنشيط كل خرطوشة مازّة بإمرارها في محلول الميثانول - حمض الهيدروكلوريك ٠,١ مول (٩:١، حجم/حجم؛ ٢ مل) ثم في الماء المقطر (٣ مل). تمزج كمية من عينة البول (٥ مل) مع محلول منظم (٠,٥ مول؛ pH ٨؛ ٢,٥ مل) ويمرر المحلول عبر خرطوشة الامتزاز ببطء باستخدام حقنة ذات استعمال وحيد. تغسل الخرطوشة بالأسيتون المائي (٢٠٪، حجم/حجم، ٤ مل) ثم يمرر كاشف سيمونز المعدل (٠,٤ مل) عبر المازّة. يجمع محلول الشطف في أربعة أجزاء من ثلاث قطرات وتضاف قطرة واحدة من محلول كربونات الصوديوم (١٪، حجم/حجم) إلى كل جزء. ويستدل على وجود الميثامفيتامين من تكوّن لون أزرق، الذي يظهر غالبا مع الجزء الثالث، ولكنه يظهر أيضا مع الجزء الثاني والرابع عند وجود تركيز عال من الميثامفيتامين في البول. ويدل تكون لون برتقالي باهت على غياب الميثامفيتامين. ويبلغ حدّ الكشف عن الميثامفيتامين في البول ١ ميكروغرام/مل ويمكن إجراء الاختبار في غضون ثلاث دقائق.

دال – طرائق التثبت الكروماتوغرافية

١ – *كروماتوغرافيا الغاز*

(أ) اشتقاق العينة

أندريد هيبتافلوروبوتريك (HFBA) [١٣٤]

يضاف HFBA (٥٠ ميكرولتر) إلى الفضالة الجافة. يغلق الأنبوب بسدادة، ويعرض إلى دوامة ويحضن بدرجة ٧٥°م لمدة ٢٠ دقيقة. تزال السدادة ويجفف الأنبوب تحت تيار من الهواء أو النيتروجين بدرجة ٣٠°م. تذاب المحتويات في ٥٠ ميكرولتر من خلات الأثيل ويحقن ١–٢ ميكرولتر في عمود كروماتوغرافيا الغاز.

طريقة بديلة [١٣٥]

يضاف هيدروكسيد البوتاسيوم (٠,٥ مول؛ ٥٠ ميكرولتر) إلى الفضالة الجافة يعقبه ٥٠٠ ميكرولتر من التوليوين. يمزج ويعرّض للطرد المركزي، تنقل الطبقة العضوية إلى أنبوب اختبار نظيف ويضاف ٥ ميكرولتر من HFBA. يمزج المحلول جيدا وتضاف بيكربونات الصوديوم (١٠٪، وزن/حجم؛ ٥٠٠ مكيرولتر) فورا ويواصل المزج. يعرّض الأنبوب للطرد المركزي ويحقن ميكرولتر واحد من طبقة التوليوين (العليا) في عمود كروماتوغرافيا الغاز.

أندريد ترايفلوروإستيك (TFAA) [١٢٥، ١٣٥]

تضاف خلات الأثيل (١٠٠ ميكرولتر) و TFAA (٥٠ ميكرولتر) إلى الفضالة الجافة. يرج الأنبوب ويحضن بدرجة ٦٠°م لمدة ٢٠ دقيقة. يبخر المزيج بعناية حتى التوصل إلى حجم نهائي من ٥٠ ميكرولتر تحت تيار خفيف من الهواء أو النيتروجين بدرجة الحرارة الاعتيادية. يحقن ١–٢ ميكرولتر من السائل في عمود كروماتوغرافيا الغاز.

N- مثيل-N- ثالث – بوتيل ثنائي المثيل سيليل– ثلاثي فلورو أسيتاميد N-Methyl-N-tert-butyldimethylsilyl trifluoroacetamide (MTBSTFA) [١٣٧]:

يضاف ١٠٠ ميكرولتر من الأسيتونيتريل و ١٥٠ ميكرولتر من MTBSTFA إلى الفضالة الجافة. يغلق الأنبوب بسدادة ويسخن إلى درجة ٩٠°م لمدة ١٥ دقيقة ثم يترك في درجة حرارة معتدلة لمدة ساعتين أو أكثر. يضاف ٥٠٠ ميكرولتر من الأسيتونيتريل وتمزج المحتويات وتستعمل في كروماتوغرافيا الغاز أو كروماتوغرافيا الغاز/القياس الطيفي الكتلي.

(ب) طريقة دون اشتقاق

ظروف العمل

الكاشف:	FID أو NPD
العمود:	أعمدة زجاجية معبأة (٢م × قطر داخلي ٣–٤ ملم) مع أطوار سائلة ثابتة من السيليكون ثنائي المثيل (على سبيل المثال OV-1، SE-30) أو مثيل فنيل سيليكون (على سبيل المثال OV-17)

الغاز الحامل: نيتروجين بمعدل ٣٠ مل/دقيقة

ومن البدائل المفيدة للأعمدة المعبأة المذكورة أعلاه أعمد السيليكا المنصهرة الشعرية مع أطوار ثابتة مترابطة كيميائيا وغير مستقطبة (مثال ذلك SE-54). ويستعمل الهيليوم كغاز حامل بمعدل تدفق ملليلتر واحد/دقيقة.

درجات حرارة العمل: الحاقن: ٢٥٠°م–٢٨٠°م
الفرن: ٩٠°م–٢٨٠°م (يبرمج حسب العمود المستعمل)
الكاشف: ٢٨٠°م–٣٠٠°م

(ج) طريقة مع الاشتقاق

ظروف العمل

الكاشف: FID أو NPD أو ECD أو MS مع تأين بالصدم الالكتروني (EI)، يشغل بنمط الرصد الأيوني المختار (SIM).

الأعمدة
ودرجات الحرارة: انظر الطريقة دون الاشتقاق المبينة أعلاه.

النتائج

الجدول الخامس–٣ بيانات الاحتفاظ بالأمفيتامين والميثامفيتامين ومشتقاتهما

الركب	العمود		
	SE-30 غير مشتق[1]	*٣٪ OV-17* مشتق[1] *TFA*	*SE-54* مشتق[٢] *HFBA*
أمفيتامين	١ ١٢٩	١ ٥٣٦	٢,٧٤
ميثامفيتامين	١ ١٧٦	١ ٧٢٢	٣,٦١

[1] مؤشرات الاحتفاظ.

[٢] زمن الاحتفاظ (دقيقة) على عمود شعري SE-54، ٢٥م × قطر داخلي ٠,٣ ملم، سمك الطبقة ٠,١٧ ميكرون، درجة الحرارة مبرمجة من ١٢٠°م (دقيقة واحدة) إلى ٢٨٠°م بمعدل ١٠°/دقيقة.

٢ – كروماتوغرافيا الغاز / القياس الطيفي الكتلي [١٢٥، ١٣٤، ١٣٦، ١٣٧]

يوضح الجدول الخامس–٤، عند استعمال مقياس طيف الكتلة ككاشف، الأيونات الرئيسية (m/z) في تاين EI^+، والمشغل بنمط الرصد الأيوني المختار (SIM).

الجدول الخامس–٤ الأيونات الرئيسية في أطياف كتلة الأمفيتامين والميثامفيتامين ومشتقاتهما

المركب	الأيونات الشظوية الرئيسية (m/z)			
	غير مشتق	HFBA غير مشتق[1]	TFA مشتق[1]	TBDMS مشتق[3]
أمفيتامين	٤٤، ٦٥، ٩١	٩١، ١١٨، ٢٤٠	٩١، ١١٨، ١٤٠	٧٣، ١٠٠، ١٥٨، ١٩٢
ميثامفيتامين	٥٨، ٩١، ١٣٤	٩١، ١١٨، ٢٥٤	١١٠، ١١٨، ١٥٤	٧٣، ١٧٢، ١٧٣، ٢٠٦

٣ – كروماتوغرافيا السائل العالية الأداء

ترد أدناه طريقتان لتحليل الأمفيتامين والميثامفيتامين في البول بكروماتوغرافيا السائل العالية الأداء [١٣٨–١٤١].

(أ) طريقة دون اشتقاق [١٣٨]

تحضير العينة

يجري استخلاص العينات كما ورد شرحه آنفا (الفصل الخامس– باء) باستعمال الفينترمين كعيار داخلي. تبخر الخلاصات حتى الجفاف تحت تيار من النيتروجين، مع اتخاذ الاحتياطات المبينة في الفصل الخامس– باء–٢، ثم تعاد إذابتها في ٥٠–١٠٠ ميكرولتر من الأسيتونيتريل أو الطور المتحرك.

المحاليل العيارية

تحضر المحاليل العيارية بإذابة المادة المرجعية في الأسيتونيتريل لتحقيق ٠,٠١ ملغم/مل.

ظروف العمل

العمود: أوكتاديسيل سيليكا، (Spherisorb ODS-1 أو ما يكافئه)، ٣ أو ٥ ميكرون، ١٢,٥سم × قطر داخلي ٤ ملم + عمود أولي

الطور المتحرك: أسيتونيتريل – ماء (٥٧:٩٤٣، وزن/وزن) + حمض الفوسفوريك (٨,٥ غم/لتر) + هيكسيل أمين (٠,٢٨ مل/لتر). ووفقا لنوع العمود المستعمل، يمكن تحقيق أفضل قيم K بتغيير نسبة الأسيتونيتريل – الماء

معدل التدفق: ٠,٨ مل/دقيقة

الكاشف: ضوء فوق بنفسجي بطول موجي ١٩٠ نانومتر

حجم الحقن: ١٠ ميكرولتر

الحساب الكمي: بحسب مجالات الذروة، باستعمال طريقة العيار الداخلي.

النتائج

أزمنة الاحتفاظ بالنسبة للفينترمين (عيار داخلي):

أمفيتامين	٠,٦٤
ميثامفيتامين	٠,٩٣
فينترمين	١,٠٠ (٨,١ دقيقة)

(ب) طريقة مع الاشتقاق [١٤١]

تحضير العينة

يجري استخلاص العينات كما ورد شرحه آنفا (الفصل الخامس– باء) باستعمال الفينترمين كعيار داخلي. وتحضر المحاليل العيارية بإذابة المواد المرجعية في بول غفل لتحقيق

الجفاف تحت تيار من النيتروجين، مع اتخاذ الاحتياطات المبينة في الفصل الخامس- باء-٢، ثم تعاد إذابتها في محلول بيكربونات الصوديوم (٢٪، وزن/حجم؛ ٢٠٠ ميكرولتر) ويضاف حجم مساو من بيتا- نافثوكينون-٤- سلفونات الصوديوم (sodium β-naphthoquinone-4-sulphonate). يسخن المحلول في الفرن بدرجة ٦٠°م لمدة ٣٠ دقيقة، ثم يستخلص المحلول المائي بواسطة هيكسان - ايثر ثنائي الاثيل (٢ : ١، حجم/حجم) باستعمال خلاط دوامة لمدة دقيقة واحدة. تنقل الطبقة العضوية إلى أنبوب نظيف وتبخر حتى الجفاف تحت تيار من النيتروجين. تذاب الفضالة في الأسيتونيتريل (١٠٠ ميكرولتر).

ظروف العمل

العمود:	أوكتاديسيل سيليكا، (μ-Bondapack C-18 أو ما يكافئه)، ٣ أو ٥ ميكرون، ١٥سم × قطر داخلي ٣,٩ ملم
الطور المتحرك:	أسيتونيتريل - ميثانول - حمض الكبريتيك ٠,٠١ مول (٢٠ : ٢٠ : ٦٠، حجم/حجم/حجم)
معدل التدفق:	٠,٨ مل/دقيقة
درجة الحرارة:	٤٠°م
الكاشف:	ضوء فوق بنفسجي بطول موجي ٢٤٨ نانومتر أو كاشف كهروكيميائي بمعدل ٠,٠ فولت مقابل الفضة/كلوريد الفضة
حجم الحقن:	٥-١٠ ميكرولتر
الحساب الكمي:	بحسب مجالات الذروة، باستعمال طريقة العيار الداخلي.

النتائج

أوقات الاحتفاظ بالنسبة للفينترمين (عيار داخلي):

أمفيتامين	٠,٥٧
ميثامفيتامين	٠,٧
فينترمين	١,٠٠ (٢٥,١٢ دقيقة)

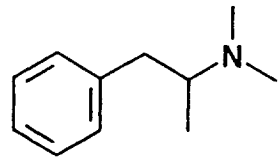
هاء - تفسير النتائج

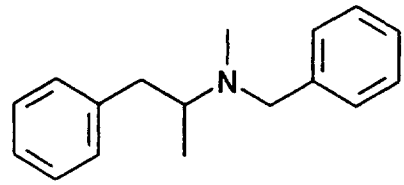
تم الكشف عن وجود أمفيتامين غير متحول في البول لغاية ٢٩ ساعة بعد جرعة فمية واحدة مقدارها ٥ ملغم من الأمفيتامين. كما تم الكشف أيضا عن وجود أمفيتامين غير متحول لغاية ٢٣ ساعة بعد تناول جرعة فمية واحدة. وتدل النتيجة الموجبة لتحليل الأمفيتامين عموما على تناول الأمفيتامين أو الميثامفيتامين في غضون الـ ٢٤-٤٨ ساعة الماضية.

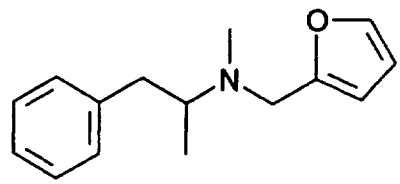
وهناك ثلاث نقاط إضافية ينبغي مراعاتها. أولا، هناك عدد من التحضيرات غير المسجلة المستعملة كمخففات للاحتقان أو مانعات للشهية التي تحتوي على الأفيدرين والفنيل بروبانول أمين، والتي يمكن أن تعطي نتائج موجبة مع اختباري EMIT و RIA في حالة وجودها في البول بتركيزات كبيرة. ثانيا، هناك عدد من الأدوية الموصوفة التي يمكن أن تعطي نتائج موجبة في التحليلات المناعية، منها البنزامفيتامين والفينفلورامين والميفنترمين والفينمترازين والفينترمين. وأخيرا، هناك بعض العقاقير التي تتأيض إلى أمفيتامين وميثامفيتامين، ويجري إبرازهما في البول (الشكل الخامس-٤). لذا فمن الأهمية بمكان، في حالة التشكك في مصدر الأمفيتامين والميثافيتامين في عينة بول، إعادة فحص البول للكشف عن وجود العقار الأصلي.

الشكل الخامس–٤ عقاقير تتأيض إلى أمفيتامين أو ميثامفيتامين

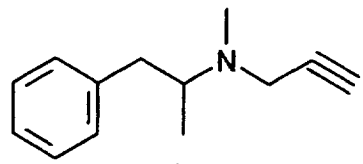
ılит الميثامفيتامين كايضة Mer. болит الامفيتامين كايضة A.



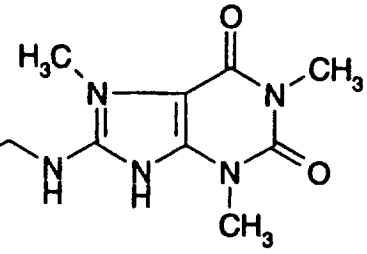




ثنائي مثيل أمفيتامين

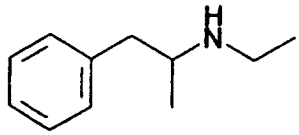


أثيل أمفيتامين



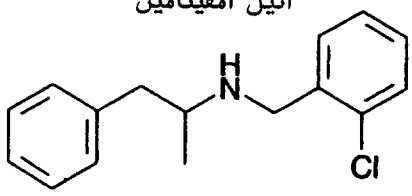
بنزأمفيتامين

كلوبنزوريكس

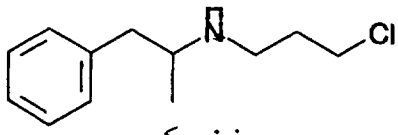


ميفينوريكس

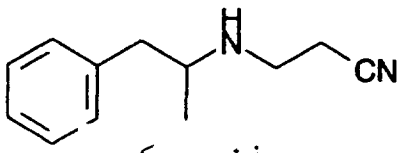
فيورفنوريكس



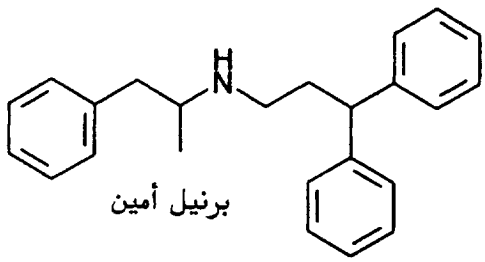
فينبروبوريكس



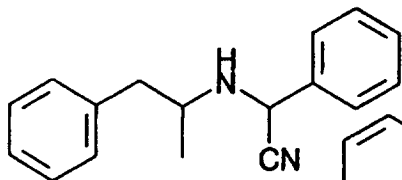
سيليجيلين



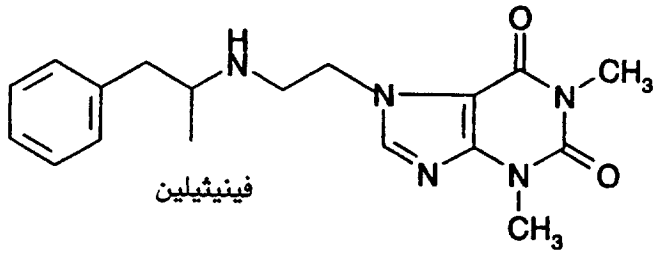
برنيل أمين



فينكامين



أمفيتامينيل



فينيثيلين

سادسا – الطرائق الموصى بها لكشف مشتقات الأمفيتامين ذات الحلقة البديلة وتحليلها في العينات البيولوجية

ألف – مقدمة

قلّما تصادف مشتقات الحلقة البديلة غير المشروعة بالمقارنة مع الأمفيتامين والميثامفيتامين، وهي تختلف عنهما أيضا من حيث الكيمياء وعلم العقاقير وطرائق التحليل. وفيما يلي المواد التي سيتناولها هذا الدليل:

٣،٤– مثيلين ثنائي الأوكسي أمفيتامين	MDA
٣،٤– مثيلين ثنائي الأوكسي ميثامفيتامين	MDMA, Ecstasy
٣،٤– مثيلين ثنائي الأوكسي أثيل أمفيتامين	MDE, MDEA
٥– ميثوكسي–٣،٤ مثيلين ثنائي الأوكسي أمفيتامين	MMDA
٤– ميثوكسي أمفيتامين	PMA
٤– ميثوكسي ميثامفيتامين	PMMA
٢،٥– ثنائي الميثوكسي أمفيتامين	DMA
٢،٥– ثنائي الميثوكسي–٤– مثيل أمفيتامين	DOM, STP
٢،٥– ثنائي الميثوكسي–٤– أثيل أمفيتامين	DOET
٣،٤،٥– ثلاثي الميثوكسي أمفيتامين	TMA
٤– برومو–٢،٥– ثنائي الميثوكسي أمفيتامين	DOB, Bromo-STP

وهناك العديد من نظائر الأمفيتامين والميثامفيتامين الأخرى التي تم تركيبها وتوزيع بعض منها بصورة غير مشروعة في نطاق محدود في مناطق مختلفة، منها على سبيل المثال ٣،٤– مثيلين ثنائي الأوكسي أثيل أمفيتامين و *N,N*– ثنائي المثيل أمفيتامين. وباستثناء PMMA، ترد جميع هذه المواد في قائمة المواد المدرجة في جداول الاتفاقية المعنية بالمؤثرات العقلية (١٩٧١). وترد المعلومات الأساسية بشأن تاريخ هذه المشتقات وصفاتها الفيزيائية وخواصها الكيميائية في دليل الأمم المتحدة، *الطرائق الموصى بها لاختبار مشتقات الأمفيتامين ذات الحلقة البديلة غير المشروعة* [١٢٩]، لذا لن يكرر شرحها هنا. ويمكن الرجوع إلى المطبوعات الاستعراضية الحديثة [١٤٢–١٤٤] للحصول على معلومات إضافية بشأن علم العقاقير والسموم فيما يتعلق بهذه المشتقات.

١ – طرق التعاطي

تحتوي جميع المواد غير المشروعة على العقار بصورة ملح الهيدروكلوريد، وهي مساحيق بيضاء أو بيضاء مصفرّة، مكيفة كأقراص أو كبسولات وفي حالة DOB، يكون العقار مشرّبا على الورق (ورق نشاف) لتناوله عن طريق الفم. بيد أن هذه العقاقير يمكن أن تحقن وريديا أيضا أو تستنشق بالتدخين كما هي الحالة فيما يخص عقار « ice » (انظر الفصل الخامس– ألف–٢). وتتراوح الجرعة المعتادة لعقاري MDA و MDMA بين ٨٠ و ١٢٥ ملغم. بينما يجري تعاطي DOM و DOB عن طريق الفم عموما وبجرعات تتراوح بين ١٥ و ٢٥ ملغم.

١ - الأيض والإبراز

يجري امتصاص معظم مشتقات الأمفيتامين امتصاصا سريعا في القناة المعدية المعوية، وهي تقطع بسهولة حاجز الدم- الدماغ. كما تظهر آثار العقاقير العقلية بسرعة أيضا.

ولم تجر دراسة واسعة لأيض أمفيتامينات الحلقة البديلة في جسم الإنسان، بيد أنه يمكن استخلاص بعض الاستنتاجات العامة بالاستفادة من البيانات البشرية المتاحة ومن نتائج دراسات الأيض التي أجريت على الحيوانات المختبرية [١٤٤-١٥٣]. ويبرز حجم كبير من جرعة جميع هذه العقاقير كعقار غير متحول في البول. لذا فالمواد المستهدفة بالتحليل هي العقاقير الأصلية، وذلك عند الكشف عن تعاطيها بتحليل البول.

ويوجز الجدول السادس-١ المعلومات المعروفة عن أيض هذه المواد.

وبالمثل، ليست هناك سوى معرفة بسيطة فيما يخص أعمار النصف لهذه المشتقات في البلازما وإبرازها في البول. ومع ذلك، فالدراسات المنشورة عن عقاري DOM و DOET تشير إلى إبراز لغاية ٢٠٪ من العقار الأول و ١٠-٤٠٪ من الثاني دون تغيير في البول أثناء الـ ٢٤ ساعة الأولى. ويحدث أعلى مستوى للإبراز في البول بعد مرور ٣-٦ ساعات على تناول هذين العقارين [١٥٠-١٥١].

وتدل دراسة سريرية منظمة على أن مستويات البلازما القصوى لعقار MDMA الذي يجري تناوله بجرعة ١,٥ ملغم/ كيلوغرام من وزن الجسم تبلغ حوالي ٠,٣٣ ميكروغرام/مل عند فحصها بعد مرور ساعتين، ويبلغ عمر النصف في البلازما ٨ ساعات. وقد لوحظت كميات قليلة من MDA ، وهو أيضة *N*- ديمثيل لعقار MDMA في البلازما. وبلغ متوسط مستويات MDMA في البول ما يقارب ١,٤ و ١٤ و ٢٣ ميكروغرام/مل بعد مرور ١,٥ و ١٠ و ٢٢ ساعة على التوالي. وكانت أهم الأيضات المبرزة أيضا ٤- هيدروكسي-٣- ميثوكسي ميثامفيتامين و ٣،٤- ثنائي هيدروكسي ميثامفيتامين، اللتان تبرزان في شكل غلوكورونيدات [١٥٣].

الجدول السادس-١ أيض مشتقات الأمفيتامين ذات الحلقة البديلة

المركب	*النوع*	*المركب المستهدف*	*أيضات أخرى*	*المراجع*
MDA	فأر	MDA	٤- هيدروكسي-٣- ميثوكسي أمفيتامين	١٤٥
MDMA	إنسان	MDMA	٤- هيدروكسي-٣- ميثوكسي ميثامفيتامين	١٤٦، ١٥٣
			٣،٤- ثنائي هيدروكسي ميثامفيتامين (مترابط)	١٥٣
			٣،٤- مثيلين ثنائي أوكسي ميثامفيتامين	١٥٣
PMA	إنسان	PMA	٤- هيدروكسي أمفيتامين	١٤٧
DOM	إنسان	DOM	٤-كربوكسي-٢،٥- ثنائي ميثوكسي أمفيتامين	١٤٨-١٥٠
DOET	إنسان	DOET		١٥١
DOB	إنسان	DOB		١٥٢

باء - إجراءات أخذ العينات وتحضيرها لتحليل مشتقات الأمفيتامين ذات الحلقة البديلة

تنطبق الإجراءات والاحتياطات العامة المذكورة في الفصل الأول- جيم وزاي-٥ على العينات المستعملة لتحليل مشتقات الأمفيتامين ذات الحلقة البديلة.

الاحتياطات الواجب اتخاذها

ينبغي التقيد بالحذر عند تركيز الخلاصات التي تحتوي على مشتقات الأمفيتامين ذات الحلقة البديلة بالتبخير، حيث يمكن أن تتبدد بعض القواعد أثناء تبخير المذيب. ويمكن تجنب ذلك بإضافة حمض الهيدروكلوريك الميثانولي (ميثانول- حمض الهيدروكلوريك المركز (٩:١، حجم/حجم؛ ٥٠ ميكرولتر) إلى الخلاصة لتكوين الأملاح الهيدروكلوريدية للعقاقير قبل تبخير المذيب.

١ - تحضير العينة للتحليل المناعي

لا يلزم بصورة عامة، إلاّ تحضير بسيط لاختبارات التحليل المناعي الأولية. ولا يلزم تحليل عينات البول مائيا لأن التحليلات المناعية تقيس الشكلين الحرّ والمتحد على السواء من العقار و/أو الأيضات. ولربما يلزم تعديل الرقم الهيدروجيني أو تعريض العينات للطرد المركزي من أجل إزالة العكر. ولتحقيق أفضل النتائج ينبغي اتباع إرشادات الصانع.

٢ - تحضير العينة للكروماتوغرافيا

(أ) التحليل المائي

لا يلزم بصورة عامة إجراء التحليل المائي لقياس أمفيتامينات الحلقة البديلة، باستثناء الحالات التي يجب فيها تحليل تركيزات قليلة جدا من الأيضات الأحادية أو الثنائية الهيدروكسيل (مثال ذلك MDMA) [١٥٣].

(ج) الاستخلاص

المواد المستهدفة بالتحليل هي مشتقات الأمفيتامين ذات الحلقة البديلة غير المتحولة التي تستخلص من البول باتباع إجراءات مماثلة للإجراءات المتبعة في استخلاص الأمفيتامين والميثامفيتامين (الفصل الخامس- باء). ويلاحظ أن بعض أيضات مواد هذه الفئة من العقاقير قد تحتوي على فئات حمضية (كربوكسيلية وفينولية) وقاعدية أيضا (أمينات). وإن كان المقصود تحليل هذه الأيضات، ينبغي اختيار ظروف الاستخلاص بعناية، ولا سيما الرقم الهيدروجيني.

وتم اقتراح العديد من إجراءات استخلاص الطور الصلب لـ MDMA، باستعمال مواد مازة بالتبادل الأيوني [١٣٨، ١٥٣]. ويوصى باتباع طريقة استخلاص الطور الصلب الآتية:

يمزج البول (٢ مل) وعيار داخلي (٠,٢٥ مل من محلول بتركيز ٨ ميكروغرام/مل من العيار الداخلي المختار) مع منظم فوسفاتي (٠,١ مول، ٦ pH؛ ٢ مل) [١٥٤]. يعدل الرقم الهيدروجيني إلى ٥-٧ pH باستعمال هيدروكسيد الصوديوم (٠,١ مول) أو حمض الهيدروكلوريك (٠,١ مول) إن استلزم الأمر. تكيّف خراطيش استخلاص الطور الصلب (سعة ٥ مل، معبأة

بالسيليكا المعدلة التي تحتوي على مزيج من فئة غير مستقطبة وفئة تبادل الكاتيون، على سبيل المثال ®Bond Elut Certify) باستعمال الميثانول (٢ مل) ومنظم فوسفاتي (٠,١ مول، ٦ pH؛ ٢ مل). تسحب عينات البول ببطء عبر الخراطيش في غضون فترة دقيقتين على الأقل. تغسل الخراطيش بحمض الخليك (١ مول؛ ملليلتر واحد) ثم تجفف بسحب الهواء في الفراغ التام لمدة ٥ دقائق. تغسل الخراطيش مرة ثانية بالميثانول (٦ مل) ثم تجفف من جديد لمدة دقيقتين. تشطف المواد المحللة بخلات الأثيل التي تحتوي على ٢٪ أمونيا مركزة (حديثة التحضير؛ ٢ مل). يبخر سائل الشطف بعناية تحت تيار من النيتروجين بدرجة حرارة لا تتجاوز ٤٠°م. ويلاحظ أنه ليس من المناسب إضافة حمض الهيدروكلوريك الميثانولي إلى هذه الخلاصات بغية تجنب تبدد المادة المحللة (انظر الفصل السادس- باء أعلاه) لأن ذلك سيؤدي إلى ترسب كلوريد الأمونيوم. ويمكن تنقية هذه الخلاصة إن لزم الأمر، وذلك وفقا لطريقة التحليل اللاحقة، بتجزئة الفضالة بين هيدروكسيد الصوديوم المائي (١ مول؛ ملليلتر واحد) والكلورو بوتان (٢,٥ مل). ثم تنقل الطبقة العضوية العليا إلى أنبوب زجاجي نظيف وتبخر بعناية حتى الجفاف. ويمكن في هذه الحالة إضافة حمض الهيدروكلوريك الميثانولي قبل تبخير المذيب.

(ج) العيارات الداخلية

ينبغي كلما أمكن التقيّد بالمعايير العامة الموضحة في الفصل الأول- زاي عند اختيار عيار داخلي مناسب. والعيارات الداخلية المقترحة لتحليل أمفيتامينات الحلقة البديلة في البول بطريقتي كروماتوغرافيا الغاز وكروماتوغرافيا السائل العالية الأداء هي الفينترمين والبروبيل أمفيتامين والمثيلين ثنائي أوكسي بروبيل أمفيتامين ونظائر أمفيتامينية أخرى. والعيارات الداخلية المفضلة لطريقة كروماتوغرافيا الغاز/القياس الطيفي الكتلي هي نظائر المواد المحللة المعلّمة بالديوتريوم، وإن لم تتوافر، ينبغي استعمال أحد العيارات الداخلية المحددة أعلاه لكروماتوغرافيا الغاز.

(د) عيارات التدريج

يحضر محلول أصلي من كل مادة مستهدفة بالتحليل ومن عيار داخلي في الميثانول بتركيز ١ ملغم/مل. وتحضر من هذه المحاليل الأصلية عيارات البول التي تحتوي على المركب (المركبات) المستهدف بتدرج صفر-٥ ميكروغرام/مل وعيار داخلي بتركيز ٥ ميكروغرام/مل. وينبغي معالجة مجموعة من عيارات تدريج البول بالتزامن مع عينات الاختبار.

جيم- طرائق التحليل الأولي

١ - طرائق التحليل المناعي

ترد في الفصل الأول- زاي-١ التعليقات العامة بشأن اختيار واستعمال طرائق التحليل المناعي. ومعظم التحليلات المناعية للعقاقير المشابهة للأمفيتامين مصممة للشكف عن الأمفيتامين و/أو الميثامفيتامين. بيد أن بعض التحليلات المناعية تظهر تفاعلية تبادلية هامة مع أعضاء أسرة مشتقات الأمفيتامين ذات الحلقة البديلة. وبما أن التحليلات المناعية ليست خصوصية، فإنه يجب دائما تثبيت النتائج الموجبة بطريقة ثانية أكثر خصوصية.

ولم تحدد بعد تركيزات الفصل وحدود الكشف لأمفيتامينات الحلقة البديلة. مع ذلك تم تسجيل بيانات بشأن التفاعلية التبادلية ويمكن مقارنتها مع التفاعليات التبادلية وتركيزات الفصل الخاصة بالأمفيتامين والميثامفيتامين لتقدير مستويات الفصل لمشتقات الحلقة البديلة (انظر الجدول السادس-٢).

الجدول السادس-٢ التفاعليات التبادلية لطرائق التحليل المناعي المتوافرة تجاريا لمشتقات الأمفيتامين ذات الحلقة البديلة

التحليل	التفاعلية التبادلية (٪)						
	MDA	*MDMA*	*MDE*	*DMA*	*TMA*	*DOB*	*DOM*
EMIT-d.a.u. monoclonal	١٤٧ (١ ٠٠٠)[أ،ب]	٧٤ (١ ٠٠٠)	–	–	–	–	–
FPIA-TDx amphetamine	١٥ (١ ٠٠٠)[ب،ج]	٢٥ (١ ٠٠٠)	٣٢ (١ ٠٠٠)	٠,٦ (٥ ٠٠٠)	٠,٤ (٥ ٠٠٠)	٠,٥ (٥ ٠٠٠)	٠,٦ (٥ ٠٠٠)
FPIA-TDx amphetamine methamphetamine II	١٤٨ (١ ٠٠٠)[ب،ج]	٩٧ (١ ٠٠٠)	٤٣ (١ ٠٠٠)	٧ (٥ ٠٠٠)	٣ (٥ ٠٠٠)	٥ (٥ ٠٠٠)	٤ (٥ ٠٠٠)
Abuscreen-Online	٤١ (١ ٠٠٠)[أ،ب]	٠,٢ (١ ٠٠٠)	٦٦ (١ ٥١٧)	٠,٥ (٢١٩ ٢٩٨)	–	–	–

[أ] التفاعلية التبادلية محسوبة بقسمة التركيز المستهدف (١ ٠٠٠ نانوغرام/مل) على التركيز المكافئ لـ ١ ٠٠٠ نانوغرام/مل من (d-أمفيتامين) وضرب الحاصل في ١٠٠ (المكافئات بين القوسين، نانوغرام/مل).

[ب] معلومات مصدرها الصانع.

[ج] التفاعلية التبادلية محسوبة بقسمة التركيز الظاهر (المقاس) على التركيز الفعلي وضرب الحاصل في ١٠٠ (الرقم بين القوسين هو التركيز الذي حددت فيه التفاعلية التبادلية، نانوغرام/مل).

[د] انظر J. T. Cody [١٢٨].

٢ - *كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة*

تقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة القياسية

ترد في الفصل الأول- زاي-٢ التعليقات العامة بشأن تطبيق كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة كتقنية للفحص الأولي. وترد في موضع آخر التفاصيل بشأن المواد والإجراءات اللازمة لكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة [١٠] وهي قابلة للتطبيق على تحليل الخلاصات البيولوجية.

صفائح كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة

الطلاء: جلّ السيليكا المنشط G، يحتوي مادة مضافة تتفلور عند إشعاعها بضوء فوق بنفسجي، الطول الموجي ٢٥٤ نانومتر.

سمك الطبقة: ٠,٢٥ ملم

حجم الصفائح: صفائح زجاجية ٢٠ × ٢٠سم، أو ٢٠ × ١٠سم، أو ١٠ × ٥سم؛ ويبلغ الجريان الأقصى ١٠سم تقريبا.

المحاليل العيارية

تحضر جميع المحاليل العيارية بتركيز ١ ملغم/مل في الميثانول ويضاف ٥ ميكرولتر من كل محلول إلى الصفيحة.

الإجراء

تبخر خلاصات البول حتى الجفاف في أنبوب اختبار، مع الالتزام بالاحتياط المذكور في الفصل السادس- باء، وتذاب الفضالة من جديد في الميثانول (٥٠ ميكرولتر). تبقع الخلاصة على الصفيحة بواسطة أنبوب شعري زجاجي.

مذيبات التظهير [١٢٩]

النظام ألف:	ميثانول	١٠٠
	نشادر مركزة	١,٥
النظام باء:	خلات الأثيل	٨٥
	ميثانول	١٠
	نشادر مركزة	٥

الفحص البصري

يجب تجفيف الصفائح قبل فحصها بصريا. ويمكن القيام بذلك في درجة الحرارة الاعتيادية، أو في فرن بدرجة حرارة ١٢٠°م لمدة ١٠ دقائق، أو لغرض السرعة، باستخدام مروحة هواء ساخن. ومن أجل إجراء التظهير اللوني الصحيح، لا بد من إزالة جميع آثار النشادر من الصفيحة.

كاشف K الأسود الثابت [١٢٩-١٣٢]. (للتحضير انظر الفصل الخامس- جيم-٢)
كاشف نينهيدرين. (للتحضير انظر الفصل الخامس- جيم-٢)
كاشف فلورسكامين (فلورام). (للتحضير انظر الفصل الخامس- جيم-٢)

ويوصى باستخدام كاشف فلورسكامين (فلورام) للكشف عن التركيزات الصغيرة من الأمينات الأولية (انظر الفصل الخامس- جيم-٢)

النتائج

الجدول السادس-٣ قيم $R_f \times ١٠٠$ [٨]

المركب	نظام التظهير	
	ألف	باء
MDA	٤١	٦٢
MDMA	٣١	٦٢
PMA	٤١	٦٢
DMA	٣٧	٦٥
DOM	٣٥	٦٣
DOET	٣٦	٦١
DOB	٣٧	٦٢

دال – طرائق التثبت الكروماتوغرافية

١ – كروماتوغرافيا الغاز

(أ) اشتقاق العينة

أندريد سباعي فلوروبوتيريك (Heptafluorobutyric anhydride) (HFBA) [١٣٤]

يضاف HFBA (٥٠ ميكرولتر) إلى الفضالة الجافة. يغلق الأنبوب بسدادة، يعرّض لدوامة ثم يحضن بدرجة ٧٥°م لمدة ٢٠ دقيقة. تزال السدادة ويجفف الأنبوب تحت تيار الهواء أو النيتروجين بدرجة ٣٠°م. تذاب المحتويات في ٥٠ ميكرولتر من خلات الأثيل ويحقن ١–٢ ميكرولتر في عمود كروماتوغرافيا الغاز.

طريقة بديلة [١٣٥]

يضاف هيدروكسيد البوتاسيوم (٠,٥ مول؛ ٥٠ ميكرولتر) إلى الفضالة الجافة يعقبه ٥٠٠ ميكرولتر من التوليوين. يمزج ويعرّض المزيج للطرد المركزي، ثم تنقل الطبقة العضوية إلى أنبوب اختبار نظيف ويضاف إليها ٥ ميكرولتر من MFBA. يمزج المحلول جيدا وتضاف بيكربونات الصوديوم (١٠٪، وزن/حجم؛ ٥٠٠ ميكرولتر) فورا مع مواصلة المزج. يعرّض الأنبوب للطرد المركزي ويحقن ميكرولتر واحد من طبقة التوليوين (العليا) في عمود كروماتوغرافيا الغاز.

أندريد ثلاثي فلورو أستيك (Trifluoroacetic anhydride) (TFAA) [١٢٥، ١٣٦]

تضاف خلات الأثيل (١٠٠ ميكرولتر) و TFAA (٥٠ ميكرولتر) إلى الفضالة الجافة. يرج الأنبوب ويحضن في درجة ٦٠°م لمدة ٢٠ دقيقة. يبخر المزيج بعناية حتى بلوغ حجم نهائي مقداره ٥٠ ميكرولتر تحت تيار خفيف من الهواء أو النيتروجين بدرجة الحرارة الاعتيادية ويحقن ١–٢ ميكرولتر في عمود كروماتوغرافيا الغاز.

(ب) طريقة دون اشتقاق: تقنية العمود المعبأ

ظروف العمل

الكاشف:	FID أو NPD
الأعمدة:	أعمدة زجاجية معبأة (٢م × قطر داخلي ٣–٤ ملم) مع أطوار سائلة ثابتة من ثنائي مثيل سيليكون (مثال ذلك OV-1، SE-30) أو مثيل فنيل سيليكون (مثال ذلك DB-1، OV-17)
الغاز الحامل:	نيتروجين بمعدل ٣٠ مل/دقيقة

ومن البدائل المفيدة للأعمدة المعبأة المبينة أعلاه استخدام أعمدة السيليكا المنصهرة الشعرية مع أطوار ثابتة مترابطة كيميائيا وغير مستقطبة (مثال ذلك SE-54). ويستخدم الهيليوم كغاز حامل بمعدل ملليلتر واحد/دقيقة.

درجات حرارة العمل: الحاقن:	٢٥٠°م–٢٨٠°م
الفرن:	٩٠°م –٢٨٠°م (تبرمج وفقا للعمود المستعمل)
الكاشف:	٢٨٠°م–٣٠٠°م

(ج) طريقة مع الاشتقاق

ظروف العمل

الكاشف: FID أو NPD أو MS أو ECD مع تأين بالصدم الالكتروني (EI)، يشغل بنمط الرصد الأيوني المختار (SIM).

الأعمدة ودرجات الحرارة: انظر الطريقة دون اشتقاق أعلاه

النتائج

الجدول السادس–٤ بيانات الاحتفاظ لأمفيتامينات الحلقة البديلة ومشتقاتها

المركب	العمود		
	OV-1 أو SE-30 دون اشتقاق[أ]	DB-1 دون اشتقاق[أ]	SE-54 دون اشتقاق[ب]
MDA	١ ٤٧٧	١ ٤٤٤	٥,٧٧
MDMA	١ ٥٨٥	١ ٥٠١	٦,٨٧
PMA	١ ٤١٢	١ ٣٤٦	٤,٧٧
DMA	١ ٥٥٨	١ ٥٢٧	٦,٢٤
DOM	١ ٦١٨	١ ٥٩٣	٦,٦٥
DOET	١ ٦٥٤	١ ٦٥٤	٧,٢٣
DOB	١ ٨٠٩	١ ٧٨٦	٨,٧٠

[أ] مؤشرات الاحتفاظ

[ب] زمن الاحتفاظ (دقيقة) على عمود شعري ، ٢٥م × قطر داخلي ٠,٣ ملم، سمك الطبقة ٠,١٧ ميكرون، درجة الحرارة مبرمجة من ١٢٠°م (دقيقة واحدة) إلى ٢٨٠°م بمعدل ١٠°/دقيقة. ويبلغ زمن الاحتفاظ للأمفيتامين بهذا النظام ٢,٧٤ دقيقة.

٢ – كروماتوغرافيا الغاز/القياس الطيفي الكتلي

يوضع الجدول السادس–٥ عند استعمال مقياس طيف الكتلة ككاشف، أهم الأيونات (m/z) في أطياف EI^+.

الجدول السادس–٥ الأيونات الرئيسية في أطياف كتلة مشتقات الأمفيتامين ذات الحلقة البديلة

المركب	الأيونات الشظوية الرئيسية (m/z)	
	دون اشتقاق	اشتقاق HFBA
MDA	٤٤، ١٣٥، ١٣٦	١٣٥، ١٦٢، ٢٤٠
MDMA	٥٨، ٧٧، ١٣٥، ١٣٦	١٣٥، ١٦٢، ٢٥٤
PMA	٤٤، ٧٨، ١٢٢	١٢١، ١٤٨، ٢٤٠
PMMA	٥٨، ٧٧، ٧٨، ١٢١	—
DMA	٤٤، ٧٢، ٩١	١٥١، ١٧٨، ٢٤٠
DOM	٤٤، ١٥١، ١٦٦	٩١، ١٣٥، ١٦٥، ١٩٣، ٤٠٥
DOET	٤٤، ١٦٥، ١٨٠	١٧٩، ٢٠٦، ٢٤٠
DOB	٤٤، ٢١٥، ٢١٧، ٢٣٠، ٢٣٢	٢٢٩، ٢٣١، ٢٥٦، ٢٥٨، ٢٤٠

٣ - كروماتوغرافيا السائل العالية الأداء

ترد أدناه طريقتان لتحليل مشتقات الأمفيتامين ذات الحلقة البديلة في البول بطريقة كروماتوغرافيا السائل العالية الأداء [١٣٨-١٤١].

(أ) طريقة دون اشتقاق [١٣٨]

تحضير العينة

يجري استخلاص العينات كما ورد شرحه آنفا (الفصل السادس- باء) باستعمال الفينترمين كعيار داخلي. تبخر الخلاصات حتى الجفاف تحت تيار من النيتروجين، مع اتخاذ الاحتياطات المبينة في الفصل السادس- باء-٢، ثم تعاد إذابتها في ١٠٠ ميكرولتر من الأسيتونيتريل أو الطور المتحرك.

المحاليل العيارية

تحضر المحاليل العيارية بإذابة المادة المرجعية في الأسيتونيتريل لتحقيق ٠,٠١ ملغم/مل.

ظروف العمل

العمود:	أوكتاديسيل سيليكا، (Spherisorb ODS-1 أو ما يكافئه)، ٣ أو ٥ ميكرون، ١٢,٥سم × قطر داخلي ٤ ملم + عمود أولي
الطور المتحرك:	أسيتونيتريل- ماء (٥٧:٩٤٣، وزن/وزن) + حمض الفوسفوريك (٨,٥ غم/لتر) + هيكسيل أمين (٠,٢٨ مل/لتر). ووفقا لنوع العمود المستعمل، يمكن تحقيق أفضل قيم 'K بتغيير نسبة الأسيتونيتريل - الماء
معدل التدفق:	٠,٨ مل/دقيقة
الكاشف:	ضوء فوق بنفسجي بطول موجي ١٩٠ نانومتر
حجم الحقن:	١٠ ميكرولتر
الحساب الكمي:	بحسب مجالات الذروة، باستعمال طريقة العيار الداخلي.

(ب) طريقة مع الاشتقاق [١٤١]

تحضير العينة

يجري استخلاص العينات كما ورد شرحه آنفا (الفصل السادس- باء) باستعمال الفينترمين كعيار داخلي. تبخر الخلاصات حتى الجفاف في أنبوب زجاجي تحت تيار من النيتروجين، وتعاد إذابتها في محلول بيكربونات الصوديوم المائي (٢٪، وزن/حجم؛ ٢٠٠ ميكرولتر) ثم يضاف المحلول المائي لصوديوم بيتا- نافثوكينون-٤- سلفونات (sodium β-naphthoquinone-4-sulphonate) (٠,٥٪، وزن/حجم؛ ٢٠٠ ميكرولتر). تغلق الأنابيب وتسخن بدرجة ٦٠°م لمدة ٣٠ دقيقة. وبعد أن تبرد يستخلص المحلول المائي بالهيكسان- ايثر ثنائي الاثيل (٢:١، حجم/حجم) باستعمال

خلاط بدوامة لمدة دقيقة واحدة. تنقل الطبقة العضوية وتبخر حتى الجفاف تحت تيار من النيتروجين. تعاد إذابة الفضالة في الأسيتونيتريل (١٠٠ ميكرولتر).

المحاليل العيارية

تحضر المحاليل العيارية بإذابة مواد مرجعية في بول غفل للحصول على تركيز ٥ ميكروغرام/مل.

ظروف العمل

العمود:	أوكتاديسيل سيليكا، (µ-Bondapack C-18 أو ما يكافئه)، ٣ أو ٥ ميكرون، ١٥سم × قطر داخلي ٣,٩ ملم
الطور المتحرك:	أسيتونيتريل – ميثانول – حمض الكبريتيك ٠,٠١ مول (٢٠ : ٢٠ : ٦٠، حجم/حجم/حجم)
معدل التدفق:	٠,٨ مل/دقيقة
درجة الحرارة:	٤٠°م
الكاشف:	ضوء فوق بنفسجي بطول موجي ٢٤٨ نانومتر أو كاشف كهروكيميائي بمعدل ٠,٠ فولت
حجم الحقن:	٥–١٠ ميكرولتر
الحساب الكمي:	بحسب مجالات الذروة، باستعمال طريقة العيار الداخلي.

النتائج

الجدول السادس–٦ أزمنة الاحتفاظ لمشتقات الأمفيتامين ذات الحلقة البديلة بالنسبة للفينترمين (عيار داخلي)

طريقة مع الاشتقاق	*طريقة دون اشتقاق*	*المركب*
MDA	٠,٨٣	٠,٤٩
MDMA	١,١٩	—
PMA	٠,٩٠[1]	٠,٥٧
PMMA	—	٠,٧٦
Phentermine	١,٠٠ (٨,١ دقيقة؛ ٣,٤ دقيقة[1])	١,٠٠ (٢٥,١٢ دقيقة)
DMA	١,٨٨	—
DOM	٢,١٥[1]	١,٤٤
DOET	٤,٠٦[1]	—

[1] محسوبا باستعمال طور متحرك يحتوي على أسيتونيتريل– ماء (١٨٢ : ٨١٦، وزن/وزن) + حمض الفوسفوريك (٨,٥ غم/لتر) + هيكسيل أمين (٠,٢٨ مل/لتر).

هاء – تفسير النتائج

لم يصدر في المؤلفات العلمية سوى حجم ضئيل من المعلومات بشأن مجال التركيزات التي يمكن توقعها لدى متعاطي أمفيتامينات الحلقة البديلة بصورة عارضة أو بالتعاطي المزمن.

والتركيزات المسجلة للعقار غير المتحول في البلازما والبول بعد تعاطي جرعة واحدة من MDA تقل عن ٠,٤ و ١٠ ميكروغرام/مل، على التوالي. وفيما يخص PMA، تقل تركيزات العقار غير المتحول في البلازما والبول عن ٠,٢ و ٥ ميكروغرام/مل، على التوالي [٨٤].

وفي حالات إساءة الاستعمال تراوحت تركيزات MDA المسجلة في البلازما والبول بين ٥–٢٥ و ٥٠–١٥٠ ميكروغرام/مل، على التوالي. وفيما يخص PMA بلغت هذه التركيزات ٠,٣–٢ ميكروغرام/مل في البلازما و ٥–٢٠٠ ميكروغرام/مل في البول [٨٤].

وبعد تناول جرعة من MDMA مقدارها ١,٥ ملغم/كيلوغرام من وزن الجسم، لوحظت مستويات قصوى من العقار في البلازما مقدارها ٠,٣٣ ميكروغرام/مل، بينما أمكن تسجيل تركيزات في البول بلغت نحو ١,٤ و ١٤ و ٢٣ ميكروغرام/مل بعد مرور ١,٥ ساعة و ١٠ ساعات و ٢٢ ساعة على التوالي بعد تناول العقار [١٥٣].

وسجلت وفيات نتيجة لتعاطي هذه العقاقير. وفي هذه الحالات تراوحت تركيزات MDA في الدم والبول بين ٢,٣ و ٢٦ ميكروغرام/مل من الدم و ٤٦ إلى ١٧٥ ميكروغرام/مل من البول على التوالي [١٥٤–١٥٦]. وفي خمس وفيات نتيجة لتعاطي MDMA و MDEA سجلت مستويات في الدم بين ٠,٩ و ٢ ميكروغرام/مل [١٥٧]. وفي تسع وفيات نتيجة لتعاطي PMA تراوحت تركيزات العقار في الدم والبول بين ٠,٣–١,٩ و ٦–١٧٥ ميكروغرام/مل، على التوالي [١٥٨].

المراجع

1 Report of the Expert Group on Recommended Methods for Testing Cannabis and Amphetamine/Methamphetamine Analysis, E/CN.7/1987/8.

2 Report of the Expert Group on Guidelines for the Establishment of National Testing Programmmes and Laboratories for Drugs of Abuse in Body Fluids, E/CN.7/1988/CRP.5, para 42.

3 Commission on Narcotic Drugs, Report of the Tenth Special Session, E/1988/13-E/CN.7/1988/14, para. 236 (b).

4 Report of the International Conference on Drug Abuse and Illicit Trafficking (United Nations Publication, Sales No. E.87.1.18), para 84.

5 Recommended Methods for the Detection and Assay of Heroin and Cannabinoids in Biological Specimens, Manual for Use by National Laboratories, ST/NAR/23, United Nations, 1993.

6 Recommended Methods for the Detection and Assay of Cocaine, Amphetamine, Methamphetamine and Ring-Substituted Amphetamine Derivatives in Biological Specimens, Manual for Use by National Laboratories, ST/NAR/24, United Nations, 1993.

7 Recommended Methods for Testing Heroin, Manual for Use by National Narcotics Laboratories, ST/NAR/6, United Nations, 1986.

8 Recommended Methods for Testing Opium/Crude Morphine, Manual for Use by National Narcotics Laboratories, ST/NAR/11, United Nations, 1987.

9 Recommended Methods for Testing Cannabis, Manual for Use by National Narcotics Laboratories, ST/NAR/8, United Nations, 1987.

10 Recommended Methods for Testing Cocaine, Manual for Use by National Narcotics Laboratories, ST/NAR/7, United Nations, 1986.

11 Recommended Methods for Testing Amphetamine and Methamphetamine, Manual for Use by National Narcotics Laboratories, ST/NAR/9, United Nations, 1987.

12 Recommended Methods for Testing Illicit Ring-Substituted Amphetamine Derivatives, Manual for Use by National Narcotics Laboratories, ST/NAR/12, United Nations, 1987.

13 B. Needleman, M. Porvaznik and D. Ander, Creatinine analysis in single collection urine specimens, J. Forens. Sci. 37, 1125-1133 (1992).

14 C. Edwards, M. J. Fyfe, R. H. Liu and A. S. Walia, Evaluation of common urine specimen adulteration indicators, J. Anal. Toxicol. 17, 251-252 (1993).

15 R. C. Baselt, Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man, Vol.1, Biomedical Publications, Canton, Connecticut 06019, 1978, p. 10.

16 J. G. Umans, T. S. K Chiu, R. A Lipman, M. F. Schultz, S-U. Shin and C. E Inturrisi, Determination of heroin and its metabolites by high-performance liquid chromatography, J. Chromatogr. 233, 213-225 (1982).

17 S. Y. Yeh, C. W. Gorodetzky and R. L. McQuinn, Urinary excretion of heroin and its metabolites in man, J. Pharmacol. Exp. Ther. 196, 249-256 (1976).

18 Opiatnachweis im Harn, DFG/TIAFT Mitt. XXI. Verlag Chemie, Weinheim, 1993.

19 E. J. Cone and W. D. Darwin, Rapid assay of cocaine, opiates and metabolites by gas chromatography-mass spectrometry, J. Chromatogr. 580, 43-61 (1992).

20 K. Bjerver, J. Jonsson, A. Nilsson, J. Schuberth and J. Schuberth, Morphine intake from poppy seed food, J. Pharm. Pharmacol. 34, 798-801 (1982).

21 R. H. Drost, R. D. Van Ooijen, T. Ioescu and R. A. A. Maes, Determination of morphine in serum and cerebrospinal fluid by gas chromatography and selected ion monitoring after reversed phase column extraction, J. Chromatogr. 310, 193-198 (1984).

22 E. J. Cone, S. Dickerson, B. D. Paul and J. M. Mitchell, Forensic drug testing for opiates. IV. Analytical sensitivity, specificity, and accuracy of commercial urine opiate immunoassays, J. Anal. Toxicol. 16, 72-78 (1992).

23 Thin-Layer Chromatography R_f Values of Toxicologically-Relevant Substances in Standardised Systems, DFG/TIAFT Mitt. XVII. Verlag Chemie, Weinheim, 1992.

24 L. R. Goldbaum, P. Santinga and A. M. Dominguez, A procedure for the rapid analysis of large numbers of urine samples for drugs, Clin. Toxicol. 5, 369-379 (1972).

25 D. C. Fuller and W. H. Anderson, A simplified procedure for the determination of free codeine, free morphine, and 6-acetylmorphine in urine, J. Anal. Toxicol. 16, 315-318 (1992).

26 P. M. Kabra and L. J. Marton, Clinical Liquid Chromatography, Vol. 1, Analysis of Exogenous Compounds, CRC Press, 1984, pp. 153-157.

27 C. Kim and T. Kats, Rapid and sensitive analysis of morphine in serum by reversed-phase high performance liquid chromatography with electrochemical detection, J. Anal. Toxicol. 8, 135-137 (1984).

28 J.-O. Svensson, Determination of morphine, morphine-6-glucuronide and normorphine in plasma and urine with high-performance liquid chromatography and electrochemical detection, J. Chromatogr. 375, 174-178 (1986).

29 J. Gerostamoulos, K. Crump, I. M. McIntyre and O. H. Drummer, Simultaneous determination of 6-monoacetylmorphine, morphine and codeine in urine using high-performance liquid chromatography with combined ultraviolet and electrochemical detection, J. Chromatogr. 617, 152-156 (1993).

30 J. Fehn and G. Megges, Detection of O^6-monoacetylmorphine in urine samples by GC/MS as evidence for heroin use, J. Anal. Toxicol., 9, 134-138 (1985).

31 R. W. Romberg and V. E. Brown, Extraction of 6-monoacetylmorphine from urine, J. Anal. Toxicol. 14, 58-59 (1990).

32 E. J. Cone, P. Welch, J.M. Mitchell and B. D. Paul, Forensic drug testing for opiates: I. Detection of 6-acetylmorphine in urine as an indicator of recent heroin exposure; drug and assay considerations and detection times, J. Anal. Toxicol. 15, 1-7 (1991).

33 M. C. Dutt, D. S.-T. Lo, D. L. K. Ng and S. Woo, Gas chromatographic study of the urinary codeine-to-morphine ratios in controlled codeine consumption and in mass screening for opiate drugs, J. Chromatogr. 267, 117-124 (1983).

34 M. A. ElSohly and A. B. Jones, Morphine and codeine in biological fluids: Approaches to source differentiation, Forens. Sci. Rev. 1, 13-21 (1989).

35 R. Mechoulam, Marijuana Chemistry, Science, 168, 1159-1166 (1970).

36 R. Mechoulam, Marijuana, Academic Press, New York and London, 1973.

37 C. E. Turner, Constituents of Cannabis sativa L., XVII: A Review of the natural constituents, J. Nat. Prod. 43, 169-234 (1980).

38 M. M. Halldin, S. Carisson, S. L. Kanter, M. Widman and S. Agurell, Urinary metabolites of *delta*-9-tetrahydrocannabinol in man, Arzneim.-Forsch. 32, 764-768 (1982).

39 T. S. Baker, J. V. Harry, J. W. Russell and R. L. Myers, Rapid method for the GC/MS confirmation of 11-nor-9-carboxy-*delta*-9-tetrahydrocannabinol in urine, J. Anal. Toxicol. 8, 255-259 (1984).

40 A. S. Christophersen, Tetrahydrocannabinol stability in whole blood: Plastic versus glass containers, J. Anal. Toxicol. 10, 129-131 (1986).

41 J. R. Johnson, T. A. Jennison, M. A. Peat and R. L. Foltz, Stability of Δ^9-tetrahydrocannabinol (THC), 11-hydroxy-THC, and 11-nor-9-carboxy-THC in blood and plasma, J. Anal. Toxicol. 8, 202-204 (1984).

42 P. L. Williams, A. C. Moffat and L. J. King, Combined high-performance liquid chromatography and radioimmunoassay method for the analysis of Δ^9-tetrahydrocannabinol metabolites in human urine, J. Chromatogr. 186, 595 (1979).

43 E. J. Cone, R. E. Johnson, W. D. Darwin, D. Yousefnejad, L. D. Mell, B. D. Paul and J. Mitchell, Passive inhalation of marijuana smoke: Urinalysis and room levels of *delta*-9-tetrahydrocannabinol, J. Anal. Toxicol. 11, 89-96 (1987).

44 K. Verebey, D. Jukofsky and S. J. Mule, Evaluation of a new TLC confirmation technique for positive EMIT cannabinoid urine samples. Res. Comm. Subst. Abuse 6, 1-9 (1985).

45 R. C. Parry, L. Nolan, R. E. Shirey, G. D. Wachob and D. J. Gisch, Pretreatment of urine samples for the analysis of 11-nor-Δ^9-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid using solid-phase extraction, J. Anal. Toxicol. 14, 39-44 (1990).

46 A. H. B. Wu, N. Liu, Y.-J. Cho, K. G. Johnson and S. S. Wong, Extraction and simultaneous elution and derivatization of 11-nor-9-carboxy-Δ^9-tetrahydrocannabinol using Toxi-Lab SPEC® prior to GC/MS analysis of urine, J. Anal. Toxicol. 17, 215-217 (1993).

47 J. Irving, B. Leeb, R. L. Foltz, C. E. Cook, J. T. Bursey and R. E. Willette, Evaluation of immunoassays for cannabinoids in urine, J. Anal. Toxicol. 8, 192-196 (1984).

48 D. L. Black, B. A. Goldberger, D. S. Isenschmid, S. M. White and Y. H. Caplan, Urine cannabinoid analysis: An integrated multi-method approach, J. Anal. Toxicol., 8, 224-227 (1984).

49 A. B. Jones, H. N. ElSohly and M. A. ElSohly, Analysis of the major metabolite of *delta*-9-tetrahydrocannabinol in urine. V. Cross-reactivity of selected compounds in a radioimmunoassay, J. Anal. Toxicol., 8, 252-254 (1984).

50 M. A. ElSohly, A. B. Jones and H. N. ElSohly, Cross-reactivity of selected compounds in the Abbott TDx® cannabinoid assay, J. Anal. Toxicol. 14, 277-279 (1990).

51 M. J. Kogan, E. Newman and N. J. Wilson, Detection of the marijuana metabolite 11-nor-*delta*-9-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid in human urine by bonded-phase adsorption and thin-layer chromatography, J. Chromatogr. 306, 441-443 (1984).

52 K. K. Kaistha and R. Tadrus, Semi-quantitative thin-layer mass screening detection of 11-nor-*delta*-9-tetrahydrocannabinol-9-carboxy acid in human urine, J. Chromatogr. 237, 528-533 (1982).

53 R. B. Hughes and R. R. Kessler, Increased safety and specificity in the thin-layer chromatographic identification of marihuana, J. Forens. Sci. 24, 842-846 (1979).

54 M. Congest, R. de la Torre and J. Segura, Optimization of the quantitative analysis of the major Cannabis metabolite (ll-nor-9-COOH-Δ^9-tetrahydrocannabinol) in urine by gas chromatography/mass spectrometry, Biomed. Environ. Mass Spectrom. 16, 367-372 (1988).

55 D. Bourquin and R. Brenneisen, Confirmation of Cannabis abuse by the determination of 11-nor-*delta*-9-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid with high-performance liquid chromatography and electrochemical detection, J. Chromatogr. 414, 187-191 (1987).

56 R. Clouette, M. Jacob, P. Koteel and M. Spain, Confirmation of 11-nor-Δ^9-tetrahydrocannabinol in urine as its *t*-butyldimethylsilyl derivative using GC/MS, J. Anal. Toxicol. 17, 1-4 (1993).

57 J. D. Whiting and W. W. Manders, Confirmation of a tetrahydrocannabinol metabolite in urine by GC, J. Anal. Toxicol. 6, 49-52 (1982).

58 M. Hanke and G. Megges, Routine-Nachweis des THC-Metaboliten 11-Nor-*delta*-9-THC-9-Carbonsäure in der forensischen Praxis, Z. Rechtsmed. 90, 105-108 (1983).

59 R. C. Parry and D. J. Gisch, Confirmation of 11-nor-Δ^9-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid in urine using solid-phase extraction pretreatment, LC-GC Int. 3, 29-35 (1990).

60 G. R. Nakamura, R. D. Meeks and W. J. Stall, Solid-phase extraction, identification, and quantitation of 11-nor-*delta*-9-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid, J. Forens. Sci. 35, 792- 796 (1990).

61 D. Bourquin and R. Brenneisen, Determination of the major *delta*-9-tetrahydrocannabinol metabolite in urine by high-performance liquid chromatography and photodiode array detection, Anal. Chim. Acta 198, 183-189 (1987).

62 Y. Nakahara, H. Sekine and SE. Cook, Confirmation of Cannabis use II. Determination of tetrahydrocannabinol metabolites in urine and plasma by HPLC with ECD, J. Anal. Toxicol. 13, 22-24 (1989).

63 V. Dixit and V. M. Dixit, A unique solid phase extraction column for isolation of 11-nor-Δ-9-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid in human urine, J. Liq. Chromatogr. 13, 3313-3325 (1990).

64 P. Kelly and R. T. Jones, Metabolism of tetrahydrocannabinol in frequent and infrequent marijuana users, J. Anal. Toxicol. 16, 228-235 (1992).

65 A.C. Moffat, Monitoring urine for inhaled cannabinoids, Arch. Toxicol., Suppl. 9, 103-110(1986).

66 B. Law, P. A. Mason, A. C. Moffat, R. I. Gleadle and L. J. King, Forensic aspects of the metabolism and excretion of cannabinoids following oral ingestion of Cannabis resin, J. Pharm. Pharmacol. 36, 289-294 (1984).

67 B. Law, P. A. Mason, A. C. Moffat, L. J. King and V. Marks, Passive inhalation of cannabis smoke, J. Pharm. Pharmacol. 36, 578-581 (1984).

68 R. H. Liu, Important considerations in the interpretation of forensic urine drug test results, Forens. Sci. Rev. 4, 51-65 (1992).

69 L. D. Baugh and R. H. Liu, Sample differentiation: Cocaine example, Forens. Sci. Rev. 3, 101-115 (1991).

70 J. F. Casale and R. P. X. Klein, Illicit production of cocaine, Forens. Sci. Rev. 5, 95-107 (1993).

71 J. M. Moore, R. P. Meyers, M. D. Jimenez, The anatomy of a cocaine comparison case: A prosecutorial and chemistry perspective, J. Forens. Sci. 38, 1305-1325 (1993).

72 J. F. Casale and J. M. Moore, 3',4',5'-Trimethoxy-substituted analogues of cocaine, cis-/transcinnamoylcocaine and tropacocaine: Characterization and quantitation of new alkaloids in coca leaf, coca paste and refined illicit cocaine, J. Forens. Sci. 39, 462-472 (1994).

73 K. Verebey and M. S. Gold, From coca leaves to crack: The effects of dose and routes of administration in abuse liability, Psychiatr. Ann. 18, 513-520 (1988).

74 T. Inaba, Cocaine: Pharmacokinetics and biotransformation in man, Can. J. Physiol. Pharmacol. 67, 1154-1157 (1989).

75 J. Jue Zhang and R. L. Foltz, Cocaine metabolism in man: Identification of four previously unreported cocaine metabolites in human urine, J. Anal. Toxicol. 14, 201-205 (1990).

76 R. C. Baselt (Ed.) Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man: Cocaine, Biomed. Public., Davis, California (1982), pp. 193-198.

77 D. S. Isenschmid, M.W. Fischman, R. W. Foltin and Y. H. Caplan, Concentration of cocaine and metabolites in plasma of humans following intravenous administration and smoking of cocaine, J. Anal. Toxicol. 16, 311-314 (1992).

78 R. C. Baselt, Stability of cocaine in biological fluids, J. Chromatogr. 268, 502-505 (1983).

79 D. S. Isenschmid, B. S. Levine and Y. H. Caplan, A comprehensive study of the stability of cocaine and its metabolites, J. Anal. Toxicol. 13, 250-256 (1989).

80 J. Vasiliades, Long-term stability of ecgonine methyl ester in urine, J. Anal. Toxicol. 17, 253 (1993).

81 J. Ambre, T. I. Ruo, J. Nelson and S. Belknap, Urinary excretion of cocaine, benzoylecgonine and ecgonine methyl ester in humans, J. Anal. Toxicol. 12 301-306 (1988).

82 J. Ortuno, R. de la Torre, J. Segura and J. Cami, Simultaneous detection in urine of cocaine and its main metabolites. J. Pharm. Biomed. Anal. 8, 911-914 (1990).

83 K. Verebey and A. DePace, Rapid confirmation of enzyme multiplied immunoassay technique (EMIT®) cocaine positive samples by capillary gas-liquid chromatography/ nitrogen phosphorus detection (GLC/NPD), J. Forensic Sci. 34, 46-52 (1989).

84 R. C. Baselt, Analytical Procedures for Therapeutic Drug Monitoring and Emergency Toxicology, 2nd Ed., PSG Publishing, Mass. (1987).

85 L. K. Thompson, D. Yousefnejad, K. Kumor, M. Sherer and E. J. Cone, Confirmation of cocaine in human saliva after intravenous use, J. Anal. Toxicol. 11, 36-38 (1987).

86 J. E. Wallace, H. E. Hamilton, J. G. Christenson, E. L. Shimek, P. Land and S. C. Hams, An evaluation of selected methods for determining cocaine and benzoylecgonine in urine, J. Anal. Toxicol. 1, 20-26 (1977).

87 J. A. Sandberg and G. D. Olsen, Microassay for the simultaneous determination of cocaine, norcocaine, benzoylecgonine and benzoylnorecgonine by high-performance liquid chromatography, J. Chromatogr. 525, 113-121 (1990).

88 D. Bourquin and R. Brenneisen, Determination of cocaine and cocaine metabolites in urine using HPLC and photodiode array detection, Proceed. Ann. Meeting Am. Acad. Forens. Sci. (AAFS), Las Vegas (1989).

89 A. C. Moffat, J.V. Jackson, M.S. Moss and B. Widdop (Eds.), Clarke's Isolation and Identification of Drugs, 2nd Ed., Pharmaceutical Press, London (1986).

90 J. Breiter, R. Helger and H. Lang, Evaluation of column extraction: A new procedure for the analysis of drugs, Forens. Sci. 7, 131-140 (1976).

91 D. Gübitz and R. Wintersteiger, Identification of drugs of abuse by high performance thin-layer chromatography, J. Anal. Toxicol. 4, 141-144 (1980).

92 K. Matsubara, C. Maeda and Y. Fukui, Quantitation of cocaine, benzoylecgonine and ecgonine methyl ester by GC-CI-SIM after Extrelut extraction, Forens. Sci. Int. 26, 181-192 (1994).

93 J. Sherma, J.E. Bernard and M.H. Higgs, Screening of benzoylecgonine in urine with Cyclobond solid phase extraction and high performance TLC, J. Liq. Chromatogr. 11, 3135- 3143 (1988).

94 B.K. Logan, D. T. Stafford, I. R. Tebbett and C. M. Moore, Rapid screening for 100 basic drugs and metabolites in urine using cation exchange solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography with diode array detection, J. Anal. Toxicol. 14, 154-159 (1990).

95 R. E. Anderson and G. L. Nixon, Isolation of benzoylecgonine from urine using solid-phase extraction, J. Anal. Toxicol. 17, 432-433 (1993).

96 Toxi-Lab Inc., Manufacturer's documentation: Toxi-Lab SPEC-VC-MP1 Extraction of Benzoylecgonine from Urine Using On-Disc Derivatization (1992)

97 E. J. Cone and J Mitchell, Validity testing of commercial urine cocaine metabolite assays: II. Sensitivity, specificity, accuracy and confirmation by gas chromatography/ mass spectrometry, J. Forens. Sci. 34, 32-45 (1989).

98 M. J. Kogan, D. J. Pierson, M. M. Durkin, and N. J. Wilson, Thin layer chromatography of benzoylecgonine: A rapid qualitative method for confirming the EMIT urine cocaine metabolite assays, J. Chromatogr. 490, 236-242 (1989).

99 F.K. Rafla and R. L. Epstein, Identification of cocaine and its metabolites in human urine in the presence of ethyl alcohol, J. Anal. Toxicol. 3, 59-63 (1979).

100 S. Goenechea and M. Franke, Kokain, Mitteilung der Senatskommission für Klinische Toxikologische Analytik, DFG (1993).

101 J. Gerlits, GC/MS quantitation of benzoylecgonine following liquid-liquid extraction of urine, J. Forens. Sci. 38, 1210-1214 (1993).

102 R. L. Hawks and C. N. Chiang (Eds.) Urine Testing for Drugs of Abuse, NIDA Res. Monogr. 73, 93 (1986).

103 J. Ambre, M. Fischman and Tsuen-Ih Ruo, Urinary excretion of ecgonine methyl ester, a major metabolite of cocaine in humans, J. Anal. Toxicol. 8, 23-25 (1984).

104 J. Ambre, The urinary excretion of cocaine and metabolites in humans: A kinetic analysis of published data, J. Anal. Toxicol. 8, 241-245 (1985).

105 E. J. Cone and W. W. Washington, Prolonged occurrence of cocaine in human saliva and urine after chronic use., J. Anal. Toxicol. 13, 56-68 (1989).

106 Am. Assoc. for Clin. Chem. Special Report, Critical issues in urinalysis of abused substances: Report of the substance-abuse testing committee, Clin. Chem. 34, 605-632 (1988).

107 C. Cook, R. Jeffcoat and M. Perez Reyes, Pharmacokinetic Studies of Cocaine and Phencyclidine in Man, in G. Barnett and C. N. Chiang (Eds.) Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Psychoactive Drugs, Biomed. Publ., (1985) pp. 48-74.

108 P. Jatlow, P. Barash, C. Van Dike, J. Roddnig and R. Byck, Cocaine and succinylcholine: A new caution, Anesth. Anal. 58, 235-238 (1979).

109 R. M. Smith, Ethyl esters of arylhydroxymethoxy cocaines in the urines of simultaneous cocaine and ethanol users, J. Anal. Toxicol. 8, 38-42 (1984).

110 G.F. Jackson, J. J. Saady and A. Poklis, Urinary excretion of benzoylecgonine following ingestion of Health Inca Tea, Forens. Sci. Int. 49, 57-64 (1991).

111 J. Osterloh, Testing for drugs of abuse—Pharmakokinetic considerations for cocaine in urine, Clin. Pharmacokin. 24, 355-361 (1993).

112 K. K. Redda, in A. Walker and G. Barnett (Eds.) Cocaine, Marihuana and Designer Drugs: Chemistry, Pharmacology and Behaviour, CRC Press (1989) p. 72.

113 Y. Liu, R. D. Budd and E. C. Griesemer, Study of the stability of cocaine and benzoylecgonine, its major metabolite, in blood samples, J. Chromatogr. 248, 318-320 (1982).

114 M. R. Harkey and G. L. Henderson, Hair analysis for drugs of abuse, in R.C. Baselt (Ed.) Adv. Anal. Toxicol., Vol. II, Year Book Medical Publishers (1989) pp. 298-329.

115 E. J. Cone, K. Kumor, L. K. Thompson and M. Sherer, Correlation of saliva cocaine levels with plasma levels and with pharmacologic effects after intravenous cocaine administration in human subjects, J. Anal. Toxicol. 12, 200-206 (1988).

116 L. K. Thompson, D. Yousefnejad, K. Kumor, M. Sherer and E. J. Cone, Confirmation of cocaine in human saliva after intravenous use, J. Anal. Toxicol. 11, 36-38 (1987).

117 M. R. Harkey, G. L. Henderson and C. Zhou, Simultaneous quantitation of cocaine and its major metabolites in human hair by gas chromatography/chemical ionization mass spectrometry, J. Anal. Toxicol. 15, 260-265 (1991).

118 W. Schramm, P. A. Craig, R.H. Smith and G.E. Berger, Cocaine and benzoylecgonine in saliva, serum, and urine, Clin. Chem. 39, 481-487 (1993).

119 Recommended Methods for Testing Amphetamine and Methamphetamine, Manual for Use by National Narcotics Laboratories, ST/NAR/9, United Nations, 1987.

120 K. Cho, Ice: A new dosage form of an old drug, Science 249, 631-634 (1990).

121 R. De Cresce, A. Mazura, M. Lifshitz and J. Tilson, Drug Testing in the Workplace, American Society of Clinical Pathology Press, Chicago (1989), p. 108.

122 L. G. Dring, R. L. Smith and R. T. Williams, The fate of amphetamine in man and other mammals, J. Pharm. Pharmacol. 18, 402-405 (1966).

123 J. Caldwell, L. G. Dring and R. T. Williams, Metabolism of [14C] methamphetamine in man, the guinea pig and the rat, Biochem. J. 129, 11-22 (1972).

124 A. H. Beckett and M. Rowland, Urinary excretion kinetics of methamphetamine in man, J. Pharm. Pharmacol. 17/SuppL, 109s-114s (1965).

125 C. L. Hombeck and R. J. Czarny, Quantitation of methamphetamine and amphetamine in urine by capillary GC/MS. Part I. Advantages of trichloroacetyl derivatisation, J. Anal. Toxicol. 13, 251-262 (1989).

126 K. Shimosato, M. Tomita and I. Ijiri, Urinary excretion of p-hydroxylated methamphetamine metabolites in man. I. A method for determination by high-performance liquid chromatography-electrochemistry, Arch. Toxicol. 59, 135-140 (1986).

127 X. Chen, J. Wijsbeek, J. Van Veen, J. P. Franke and R. A. de Zeeuw, Solid-phase extraction for the screening of acidic, neutral and basic drugs in plasma using a single-column procedure on Bond Elut Certify, J. Chromatogr. 529, 161-166 (1990).

128 J. T. Cody and R. Schwarzhoff, Fluorescence polarization immunoassay detection of amphetamine, methamphetamine, and illicit amphetamine analogues, J. Anal. Toxicol. 17, 26-30 (1993).

129 Recommended Methods for Testing Illicit Ring-Substituted Amphetamine Derivatives: Manual for Use by National Narcotic Laboratories, ST/NAR/12, United Nations, 1987.

130 I. Ojanperä, K Wähäläa and T.A. Hase, Fast Black K salt: A versatile thin-layer chromatographic visualisation reagent for the differentiation of aliphatic amines, Analyst 115, 263-267 (1990).

131 P. Lillsunde and T. Korte, Comprehensive drug screening in urine using solid-phase extraction and combined TLC and GC/MS identification, J. Anal. Toxicol. 15, 71-81 (1991).

132 I. Ojanperä, P. Lillsunde and T. Korte, Detection of amphetamine analogues by thin layer chromatography and gas chromatography-mass spectrometry, Proceed. Int. Congress on Clin. Toxicol., Poison Control and Analytical Toxicology, LUX TOX'90, 1990, Luxembourg, Bull. Soc. Sci. Med. Luxembourg 127, 88-92 (1990).

133 Y. Nakahara and H. Sekine, A high selective screening test for methamphetamine in human urine, Forensic Sci. Int. 26, 277-282 (1984).

134 R. W. Taylor, S. D. Le, S. Philip and N. C. Jain, Simultaneous identification of amphetamine and methamphetamine using solid phase extraction and gas chromatography/nitrogen phosphorus detection or gas chromatography/mass spectrometry, J. Anal. Toxicol. 13, 293-295 (1989).

135 P. Lillsunde and T. Korte, Determination of ring- and N-substituted amphetamines as heptafluorobutyryl derivatives, Forens. Sci. Int. 49, 205-213 (1991).

136 K. Hara, T. Nagata and K. Kimura, Forensic lexicological analysis of methamphetamine and amphetamine in body materials by gas chromatography/mass spectrometry, Z. Rechtsmed. 96, 93-104 (1986).

137 R. Melgar and R.C. Kelly, A novel GC/MS derivatization method for amphetamines, J. Anal. Toxicol. 17, 399-402 (1993).

138 H.-J. Helmlin and R. Brenneisen, Determination of psychotropic phenylalkylamine derivatives in biological matrices by high-performance liquid chromatography with photodiodearray detection, J. Chromatogr. 593, 87-94 (1992).

139 B. M. Farrell and T. M. Jefferies, An investigation of HPLC methods for the analysis of amphetamines, J. Chromatogr. 272, 111-128 (1983).

140 Y. Nakahara and Y. Takeda, β-Naphthaquinone sulfonate as electrochemical labelling reagent for high-sensitivity LC analysis of drugs in biological fluids, Chromatographia 26, 363-368 (1988).

141 Y. Nakahara, A. Ishigami and Y. Takeda, Electrochemical label for high-performance liquid chromatography. I. β-Naphthoquinone-4-sulphonate as an electrochemical detection labelling reagent of amines, J. Chromatogr. 489, 371-376 (1989).

142 K. Asghar and E. De Souza (Eds.), Pharmacology and Toxicology of Amphetamine and Related Designer Drugs, NIDA Res. Monogr. 94, 1989.

143 K. K. Redda, C. A. Walker and G. Barnett (Eds.), Cocaine, Marijuana, Designer Drugs: Chemistry, Pharmacology, and Behaviour, CRC Press, Florida (1989).

144 Manual on Designer Drugs, An Information Booklet on New Types of Drugs of Abuse-Analogues of Controlled Substances, WHO/PSA/90.5 (1991).

145 G. M. Marquardt, V. DiStefano and L. L. Ling, Metabolism of β-3,4-methylene-dioxyamphetamine in the rat, Biochem. Pharmacol. 27, 1503-1505 (1978).

146 H. K. Lim and R. L. Foltz, Identification of metabolites of 3,4-(methylenedioxy)-methamphetamine in human urine, Chem. Res. Toxicol. 2,142-143 (1989).

147 I. Kitchen, J. Trembley, J. Andre, L. G. Dring, J. R. Idle, R. L. Smith and R. T. Williams, Interindividual and interspecies variation in the metabolism of the hallucinogen 4-methoxyamphetamine, Xenobiotica 9, 397-404 (1979).

148 S. H. Snyder, L. A. Faillace and H. Weingartner, DOM (STP), a new hallucinogenic drug, and DOET: Effects in normal subjects, Am. J. Psychiat. 125, 357-364 (1968).

149 B.-T. Ho, V. Estevez, L. W. Tansey, L. F. Englert, P. J. Creaven and W. M. McIsaac, Analogs of amphetamine. 5. Excretory metabolites of 1-(2,5-dimethoxy-4-methyl-phenyl)-2-aminopropane (DOM) in rats, J. Med. Chem. 14, 158-160 (1971).

150 S. H. Snyder, L. A. Faillace and L. E. Hollister, 2,5-Dimethoxy-4-methylamphetamine (STP): A new hallucinogenic drug science, Science 158, 669-670 (1967).

151 S. H. Snyder, L. A. Faillace and H. Weingartner, A new psychtropic agent. Psychological and physiological effects of 2,5-dimethoxy-4-ethylamphetamine (DOET) in man, Arch. J. Gen. Psychiat. 21, 95-101 (1969).

152 T. Sargent, D. A. Kalbhen, A. T. Shulgin, G. Braun, H. Stauffer and N. Kusubor, In vivo human pharmacodynamics of the psychodysleptic 4-bromo-2,5-dimethoxyphenyl-isopropylamine labeled with bromine-82 or bromine-77, Neuropharmacol. 14, 165-174 (1975).

153 H. J. Helmlin, K. Bracher, S. J. Salamone and R. Brenneisen, Analysis of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) and its metabolites in human plasma and urine by HPLC-DAD, GC/MS and Abuscreen-Online, Proceed. SOFT/CAT Meeting, Phoenix (1993).

154 B. K. Gan, D. Baugh, R. H. Liu and A. S. Walia, Simultaneous analysis of amphetamine, methamphetamine, and 3,4-methylenedioxymethamphetamine in urine samples by solid-phase extraction, derivatisation, and gas chromatography/mass spectrometry, J. Forens. Sci. 36, 1331- 1341 (1991).

155 G. Cimbura, 3,4-Methylenedioxyamphetamine (MDA): Analytical and forensic aspects of fatal poisoning, J.Forens. Sci. 23, 329-323 (1972).

156 A. Poklis, M. A. MacKell and W. K. Drake, Fatal intoxication from 3,4-methylene-dioxyamphetamine, J. Forens. Sci. 79, 70-75 (1978).

157 G. P. Dowling, E. T. McDonough II and R.0. Bost, "Eve" and "Ecstasy": A report of five deaths associated with the use of MDEA and MDMA, J. Am. Med. Assoc. 257, 1615-1617 (1987).

158 G. Cimbura, PMA deaths in Ontario, Can. Med. Assoc. J. 110, 1263-1267 (1974).

ST/NAR/27

Printed in Austria
V.00-56238—August 2000—500