



ОРГАНИЗАЦИЯ ОБЪЕДИНЕННЫХ НАЦИЙ
Управление по наркотикам и преступности

РЕКОМЕНДУЕМЫЕ МЕТОДЫ ОБНАРУЖЕНИЯ И АНАЛИЗА

ЛИЗЕРГИДА (ЛСД), ФЕНЦИКЛИДИНА (ФЦП), ПСИЛОЦИБИНА И МЕТАКВАЛОНА

В БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОБАХ

РУКОВОДСТВО ДЛЯ НАЦИОНАЛЬНЫХ ЛАБОРАТОРИЙ

ПРОГРАММА ОРГАНИЗАЦИИ ОБЪЕДИНЕННЫХ НАЦИЙ
ПО МЕЖДУНАРОДНОМУ КОНТРОЛЮ НАД НАРКОТИКАМИ
Вена

Рекомендуемые методы
обнаружения и анализа

**лизергида (ЛСД), фенциклидина (ФЦП),
псилоцибина и метаквалона**

в биологических пробах

РУКОВОДСТВО
ДЛЯ НАЦИОНАЛЬНЫХ ЛАБОРАТОРИЙ

Секция научных исследований



ОРГАНИЗАЦИЯ ОБЪЕДИНЕННЫХ НАЦИЙ
Нью-Йорк, 2005 год

Упоминание названий фирм и коммерческих изделий не означает одобрения Организации Объединенных Наций. Настоящая публикация официально не редактировалась.

ST/NAR/31

ИЗДАНИЕ ОРГАНИЗАЦИИ
ОБЪЕДИНЕННЫХ НАЦИЙ
В продаже под №: R.99.XI.14

Настоящее Руководство первоначально было опубликовано на английском языке в 1999 году. Органы, упоминаемые в его тексте, сейчас называются “Управление Организации Объединенных Наций по наркотикам и преступности” и “Секция лабораторного и научного обеспечения”.

Адреса, по которым следует обращаться в настоящее время:

Laboratory and Scientific Section
United Nations Office on Drugs and Crime
Vienna International Centre, VIC
P.O. Box 500
1400 Vienna, Austria
Факс: (+43-1) 26060-5967
Эл. почта: lab@unodc.org

Выражение признательности

Секция научных исследований ЮНДКП выражает благодарность экспертам, принявшим участие в Консультативном совещании по рекомендуемым методам обнаружения и анализа лизергида (ЛСД), фенциклидина (ФЦП), псилоцибина и метаквалона в биологических пробах, проходившем в Барселоне, Испания, с 24 по 28 ноября 1997 года, за их вклад в подготовку настоящего Руководства. Совещание было организовано ЮНДКП в сотрудничестве с Муниципальным институтом медицинских исследований (Испания).

Д-ру Р.А. Андерсону, Отделение судебной медицины и науки, университет Глазго, G12 8QQ, Шотландия, Соединенное Королевство

Проф. д-ру Р. Бреннайсену, Отделение клинических исследований, Бернский университет, Мюртенштрассе 35, CH-3010 Берн, Швейцария

Г-ну С. Корсионе, Муниципальный институт медицинских исследований ИМИМ (IMIM), с/Доктор Аигуадор, 80, E-08003, Барселона, Испания

Д-ру О.Х. Драммеру, помощнику директора и адъюнкт-профессору отделения судебной медицины, Университет Монаш, Викторианский институт судебной медицины, Каванаг Стрит 57-83, 3006 Саутбэнк, Австралия

Д-ру Р.Л. Фолтцу, профессору-исследователю, Центр токсикологии человека, Университет Юты, офис 490, 84112-9457 Солт-Лейк-Сити, Юта, США

Д-ру П. Кинтцу, Институт судебной медицины, Рю Юманн 11, Страсбург 67000, Франция

Д-ру Й. Накахаре, Национальный институт медико-санитарных наук, 1-18-1, Камийога, Сетагайа, Токио, Япония

Д-ру Х.А. Паскуалю, Муниципальный институт медицинских исследований ИМИМ (IMIM), с/Доктор Аигуадор, 80, E-08003, Барселона, Испания

Д-ру Г. Саксу, Институт судебной медицины, Фрауэнлобштрассе 7а, 80337 Мюнхен, Германия

Д-ру Р. де ла Торре, Отдел исследования наркотиков, Муниципальный институт медицинских исследований ИМИМ (IMIM), с/Доктор Аигуадор, 80, E-08003, Барселона, Испания

Д-ру Ф. Тальяро, Институт судебной медицины, Веронский университет, поликлиника Борго Рома (Borgo Roma), 37134 Верона, Италия

Д-ру А. Ферстрате, Лаборатория клинической биологии и токсикологии, госпиталь при университете, Де Пентелаан 185, B-9000, Гент, Бельгия

Д-ру Р. Веннигу, профессору биоорганической химии Университетского центра Люксембурга, научный корпус, руководителю отдела токсикологии Национальной лаборатории здравоохранения, Р.О. Вох 1102, 162 А, Авеню де ля Фаленсери, 1011 Люксембург

Особая признательность выражается д-ру Р.А. Андерсону, д-ру Р. Бреннайсену, г-ну С. Корсионе, д-ру О.Х. Драммеру, д-ру Р.Л. Фолтцу, д-ру Х.А. Паскуалю, д-ру А. Ферстрате и д-ру Р. Веннигу за подготовку настоящего Руководства, а также д-ру де ла Торе, осуществлявшему редактирование.

СОДЕРЖАНИЕ

	<i>Стр.</i>
Введение	1
А. История вопроса	1
В. Назначение Руководства	3
С. Применение Руководства	3
 I. Общие вопросы анализа контролируемых наркотиков в биологических пробах	 5
А. Цели и стратегия	5
В. Принципы отбора и представления проб для обнаружения наркотиков	6
С. Конфиденциальность результатов	9
D. Безопасность сотрудников лаборатории	10
Е. Правила безопасности	10
F. Методология	10
G. Обеспечение качества	14
H. Интерпретация результатов	15
 II. ЛСД и другие галлюциногены	 16
А. Введение	16
В. Физические и химические характеристики незаконных продуктов ..	19
 III. Рекомендуемые методы обнаружения и анализа ЛСД	 22
А. Фармакология	22
В. Распределение в организме	22
С. Токсикология	24
D. Методы анализа	24
 IV. Рекомендуемые методы обнаружения и анализа псилоцибина	 35
А. Фармакология	35
В. Распределение в организме	35
С. Токсикология	38
D. Метод анализа	38

	<i>Стр.</i>
V. Рекомендуемые методы обнаружения и анализа фенциклидина	41
A. Фармакология	41
B. Распределение в организме	42
C. Токсикология	43
D. Методы анализа	44
VI. Рекомендуемые методы обнаружения и анализа метаквалона	47
A. Введение	47
B. Физические и химические характеристики незаконных продуктов . .	48
C. Фармакология	48
D. Распределение в организме	50
E. Токсикология	50
F. Методы анализа	51
Литература	56

Введение

А. История вопроса

В последнее десятилетие произошло значительное увеличение не только производства и предложения незаконных наркотиков, что отражается в изъятии национальными и международными органами крупных и постоянно увеличивающихся партий наркотиков, но и масштабов злоупотребления наркотиками, то есть незаконного спроса на них. Изъятые наркотики включают не только традиционные, уже находящиеся под национальным и международным контролем, но и новые, до сих пор не известные незаконные наркотические средства или их комбинации, разработанные в подпольных химических лабораториях. В то же время, по имеющимся сообщениям, расширяется употребление не по назначению или злоупотребление наркотиками, применяемыми в медицинских целях, такими как барбитураты и бензодиазепины.

То, что традиционно считалось проблемой развитых стран, уже вышло за их пределы. Злоупотребление наркотиками в настоящее время стало глобальной проблемой, в равной степени затрагивающей как развитые, так и развивающиеся страны, и сегодня это – угроза для всего человечества.

Масштабы и разнообразие форм злоупотребления наркотическими средствами во все большей степени требуют от государств активизации нормативно-правовой деятельности в этой области; в некоторых странах принято жесткое законодательство, которое может иметь серьезные последствия для лиц, обвиняемых в связанных с наркотиками преступлениях. В конечном счете исход любых судебных разбирательств зависит от результатов лабораторных испытаний. Это обстоятельство создает дополнительные трудности для национальных лабораторий судебной экспертизы, которые теперь должны не только идентифицировать изъятый материал, но и выявлять факт злоупотребления наркотиками. Кроме того, если в прошлом такие лаборатории должны были выполнять только качественный анализ, то в настоящее время требуется, чтобы они также представляли надежные результаты количественного анализа.

В области злоупотребления наркотиками лаборатории теперь должны работать с большим числом веществ и использовать более быстрые, но вместе с тем более точные и специфические методы обнаружения и анализа. Анализ биологических проб, например мочи и крови, представляет особую трудность, поскольку связан с необходимостью отделения “целевых” веществ от примесей, содержащихся в моче и крови, которые являются сложными биологическими матрицами.

Кроме того, международный характер проблемы злоупотребления наркотиками требует оперативного обмена аналитическими данными между лабораториями и между лабораториями и правоохранительными органами на национальном и международном уровнях. Разработка приемлемых в международном масштабе

методов обнаружения и анализа в значительной мере способствовала бы достижению этих целей.

В ходе работы над рекомендуемыми методами анализа изъятых каннабиса и амфетамина/метамфетамина Группа экспертов на совещании в Куала-Лумпуре в 1986 году¹ признала, что вопросом возрастающей важности для всех государств-участников является разработка методов анализа наркотиков, представляющих собой предмет злоупотребления, а также их метаболитов, содержащихся в биологических жидкостях. Организации Объединенных Наций было рекомендовано изучить наиболее эффективные способы решения этой проблемы.

На своей 32-й сессии в феврале 1987 года Комиссия по наркотическим средствам одобрила данное предложение и рекомендовала лаборатории Организации Объединенных Наций расширить масштабы помощи государствам-членам посредством разработки и распространения руководящих принципов в отношении методов анализа контролируемых веществ, содержащихся в биологических жидкостях организма.

Международная конференция по борьбе со злоупотреблением наркотическими средствами и их незаконным оборотом (ICDAIT) выдвинула аналогичное предложение, гласящее, что “Отделу по наркотическим средствам в сотрудничестве со Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) и Международной организацией труда (МОТ) следует поддерживать и согласовывать национальные усилия посредством разработки приемлемых в международном масштабе руководящих принципов, критериев и методологий для национальных программ анализа наркотических средств”. Конференция также предложила “создать центральную базу контрольных эталонов метаболитов основных наркотических средств для нужд национальных лабораторий”².

В ответ на предложения Комиссии по наркотическим средствам и Международной конференции по борьбе со злоупотреблением наркотическими средствами и их незаконным оборотом бывший Отдел по наркотическим средствам созвал в 1987 году совещание Группы экспертов по разработке принципов по созданию национальных программ анализа и лабораторий по выявлению в биологических жидкостях организма наркотиков, являющихся предметом злоупотребления. Группа рекомендовала а) “осуществлять публикацию последующих практических руководств по данной тематике в качестве руководящих принципов по созданию лабораторий и программ” и б) “учредить группу экспертов по обзору в целях осуществления периодического обзора методологии и процедур анализа наркотических средств”³.

На своей десятой специальной сессии Комиссия по наркотическим средствам одобрила рекомендации Группы и особо подчеркнула необходимость “разработки рекомендуемых лабораторных методов анализа и международных стандартных критериев для национальных программ анализа биологических жидкостей, включая аттестацию и утверждение методов/процедур”⁴.

В ответ на предложение Комиссии, а также по приглашению правительства Сингапура бывший Отдел по наркотическим средствам созвал в 1989 году совещание Группы экспертов по обнаружению и анализу контролируемых наркотиков в биологических пробах и по рекомендуемым методам обнаружения и анализа героина/морфина и каннабиноидов в биологических пробах. Следующее совещание, проходившее в Мадриде в 1990 году, было посвящено методам обнаружения и анализа кокаина, амфетамина, метамфетамина и замещенных по циклу производных амфетамина в биологических пробах. В 1995 году по приглашению правительства Гонконга в рамках ЮНДКП было созвано совещание Группы экспертов

по обнаружению и анализу барбитуратов и бензодиазепинов в биологических пробах. Данное Руководство отражает итоги Консультативного совещания в Барселоне в 1997 году, посвященного методам обнаружения и анализа ЛСД, других галлюциногенов и метаквалона в биологических пробах.

В. Назначение Руководства

Настоящее Руководство, подготовленное Секцией научных исследований Программы Организации Объединенных Наций по международному контролю над наркотиками, является одним из изданий серии, посвященной анализу наркотиков в биологических пробах. Оно отражает заключения Консультативного совещания в Барселоне в 1997 году и призвано служить практическим руководством для национальных органов и химиков-аналитиков, поскольку содержит описание рекомендуемых методов, предназначенных для использования в лабораториях судебной экспертизы и токсикологии с целью обнаружения и анализа ЛСД, других галлюциногенов и метаквалона в биологических пробах. Особое внимание было уделено надлежащему проведению отбора проб, их транспортировке и неукоснительному поддержанию порядка хранения, а также контролю за этими процессами. При проведении анализов биологических проб важно строго следовать принципам их представления в лабораторию. Это вызвано тем, что результаты могут иметь серьезные юридические последствия для отдельных лиц. В этой связи читателю рекомендуется обратиться к изданию Организации Объединенных Наций “Рекомендуемые принципы обеспечения качества и надлежащей лабораторной практики” (ST/NAR/25)⁵.

При отборе методов Группа экспертов знала, что многие существующие сегодня лаборатории используют методы, которые соответствуют требованиям законодательства или могут выходить за пределы этих требований. Однако было отмечено, что имеются существенные различия в структуре национальных программ и составе лабораторного оборудования, а также в методах обнаружения факта злоупотребления наркотиками. В целом настоящее Руководство представляет собой попытку оказать содействие в согласовании национальных усилий путем разработки приемлемых в международном масштабе руководящих принципов, а также отбора методов, которые могут быть применены в лабораториях. Еще более важным является то, что данное Руководство предназначено для оказания помощи лабораториям, которые, возможно, не имеют доступа к сложному оборудованию и современным методам. Каждый из предложенных методов является пригодным и надежным. При отборе таких методов Группа экспертов отдавала себе отчет в том, что существует и множество других полезных и приемлемых методов.

С. Применение Руководства

Рекомендуемые данным Руководством методы были отобраны на основе их доказанной надежности, что является важным условием, если учесть, что результаты анализов будут использоваться в юридических целях или при определении меры наказания. Окончательный выбор методологии и подхода к проведению анализа остается за химиком-аналитиком, работающим в условиях своей страны. Выбор будет неизбежно зависеть от наличия инструментария, справочных материалов и

квалифицированного персонала. Тем не менее для установления факта незаконного употребления наркотиков рекомендуется использовать два метода: сначала метод отборочного анализа (как правило, это иммунологический анализ), затем – метод подтверждающего анализа с использованием различных химических или физических параметров (как правило, метод хроматографии). В тех случаях, когда доступна только тонкослойная хроматография (ТСХ), рекомендуется также провести повторную процедуру тонкослойной хроматографии с использованием другой системы растворителей.

Независимо от того, какие именно методы отобраны, особое внимание, как было подчеркнуто, следует уделять надлежащему техническому обслуживанию оборудования и контролю за состоянием окружающей среды, в особенности при транспортировке и хранении проб и нестабильных реактивов, при этом следует привлекать к работе только надлежащим образом обученный и опытный персонал. Также обращено внимание на особую важность наличия учебной литературы по наркотикам, являющимся предметом злоупотребления, и методам анализа. Кроме того, химик-аналитик должен быть в курсе последних тенденций в области токсикологического анализа, постоянно изучая текущие публикации по данному вопросу. Полезным дополнением к настоящему Руководству могут стать выпущенные Организацией Объединенных Наций руководства по Рекомендуемым методам анализа ЛСД (ST/NAR/17)⁶, Рекомендуемым методам анализа псилоцибина (ST/NAR/19)⁷, а также Рекомендуемым методам анализа метаквалона (ST/NAR/15)⁸. Читатель может также обратиться к следующим руководствам Организации Объединенных Наций:

- ❑ Рекомендуемые методы обнаружения и анализа героина, каннабиноидов, кокаина, амфетамина, метамфетамина и замещенных по циклу производных амфетамина в биологических пробах (ST/NAR/27)⁹.
- ❑ Рекомендуемые методы обнаружения и анализа барбитуратов и бензодиазепинов в биологических пробах (ST/NAR/28)¹⁰.

Программа Организации Объединенных Наций по международному контролю над наркотиками (ЮНДКП) приветствует замечания, касающиеся содержания и практической полезности настоящего Руководства. Комментарии следует направлять по адресу:

United Nations International Drug Control Programme
Scientific Section
Vienna International Centre
P.O. Box 500
1400 Vienna
Austria

I. Общие вопросы анализа контролируемых наркотиков в биологических пробах

A. Цели и стратегия

Как правило, проведение анализа биологических жидкостей/проб преследует две цели:

- ❑ цели судебной экспертизы, то есть проведение анализа биологических проб на наличие в них контролируемых наркотиков. Положительный результат анализа пробы, взятой в этом случае, обычно приводит к уголовному разбирательству и наказанию лица, чья проба была подвергнута анализу;
- ❑ цели диагностики, лечения и реабилитации, то есть проведение анализа проб, поступивших из клиники, с целью выявления причины интоксикации или определения того, воздерживался ли донор пробы от употребления наркотиков в течение нескольких дней, предшествовавших взятию пробы. В этом случае положительный результат анализа не обязательно влечет за собой последующее судебное разбирательство, но может послужить надежным индикатором, которым следует руководствоваться при оказании в дальнейшем медицинской помощи лицу, у которого была взята проба.

Поскольку следствием положительных результатов анализа может явиться наказание обвиняемого, используемые процедуры и методы должны опираться на строгие стандарты, основанные на принципах судебной токсикологии. Обычно рекомендуемая в таких случаях стратегия состоит в проведении начального отборочного анализа с целью выявления потенциально положительных образцов, вслед за чем должен быть проведен подтверждающий анализ предположительно положительных образцов.

Для проведения начального отборочного анализа проб лабораториям следует рассмотреть возможность применения технологий иммунологического анализа, таких как радиоиммунологический анализ (РИА), иммуноферментный анализ (ИФА), флуоресцентный поляризационный иммуноанализ (ФПИА), и др. Это дает возможность методом экспресс-анализа исключить отрицательные пробы. Иммунологический анализ, давший положительный результат, должен быть дополнен подтверждающим анализом с использованием метода, основанного на сочетании хроматографических технологий с надлежащим детектором, предпочтительно масс-спектрометром (МС).

В. Принципы отбора и представления проб для обнаружения наркотиков

Данные принципы представляют собой описание процедур, отвечающих необходимым критериям для обеспечения оптимальной достоверности результатов. Брюссельская группа³ экспертов рекомендовала рассматривать анализ мочи в качестве основного метода выявления наркотиков, являющихся предметом злоупотребления. Помимо того, что пробу мочи легко получить с помощью неинвазивных методов, практически все метаболиты, образующиеся при употреблении наркотиков, выводятся из организма с мочой и могут быть обнаружены в моче в течение более продолжительного времени, чем в крови. Методы обнаружения наркотиков в крови были также включены в данную брошюру, так как Группа экспертов сочла их полезным дополнением к анализу мочи, проводимому с целью обнаружения ЛСД, других галлюциногенов и метаквалона. Использование другого биологического материала, например волос, пота или слюны, для данных целей, то есть установления факта незаконного употребления наркотиков, является предметом рассмотрения другого руководства (ST/NAR/30)¹¹.

Для обеспечения достоверности результатов анализа в контексте судебной экспертизы особое внимание следует уделять **контролю** за отбором, транспортировкой и хранением проб.

Такой контроль, представляющий собой непосредственное визуальное наблюдение, должен осуществляться квалифицированными сотрудниками, обладающими четким пониманием юридических последствий данной процедуры. Надлежащее наблюдение должно осуществляться постоянно, но при этом необходимо делать все возможное, чтобы обеспечить уважение достоинства личности и права на частную жизнь. Лицо, осуществляющее контроль, должно также не допустить попыток добавить в мочу загрязняющие или реакционноспособные вещества.

Если возникает необходимость транспортировать пробы в аналитическую лабораторию, должна быть организована охрана и обеспечено выполнение четко установленного порядка хранения проб.

Положения данных принципов применимы к ситуациям, когда отбор проб мочи проводится в местах, расположенных вне аналитических лабораторий. Подобная ситуация, возможно, не соответствует условиям всех стран или различных географических районов одной страны. Положения данных принципов, таким образом, следует изменить или скорректировать применительно к местным условиям.

Отбор проб

- Персонал на **месте отбора проб** отвечает за отбор, маркировку, упаковку и транспортировку проб, обеспечивая, чтобы процедуры отбора и хранения имели соответствующую документацию и были приняты необходимые меры безопасности (порядок хранения).
- Все сотрудники, работающие на месте отбора проб, должны пройти надлежащую подготовку, чтобы иметь представление о процессе отбора проб и осознать важность результатов лабораторных исследований.
- Место отбора проб должно находиться под контролем и визуальным наблюдением квалифицированных уполномоченных сотрудников.
- До решения вопроса об отборе проб мочи должны быть обеспечены соответствующие сантехнические помещения, предназначенные для этой цели.

Возможные способы подделки пробы мочи (фальсификация)

- ❑ Ложный результат может быть следствием фальсификации пробы, например, посредством добавления веществ, изменяющих pH (уксуса, аскорбиновой кислоты, лимонного сока, известкового растворителя и др.), окислителей (гипохлорита натрия, нитрита натрия), поверхностно-активных веществ (моющих средств, мыла и др.) и дезактиваторов ферментов (глутарового альдегида), а также лекарственных средств (например, глазных или интраназальных капель, содержащих тетрагидрозолин), подсластителей (сахарина) и хлорида натрия. Наиболее популярным способом подделки результатов является разбавление – эндогенное (выпивание больших объемов жидкости, прием диуретиков) и экзогенное (добавление воды в пробу), а также обмен пробами мочи или их замена.
- ❑ При определенных условиях положительный результат может дать добавление незаконных веществ в мочу.
- ❑ Прокол булавкой дна контейнера, в котором содержится проба мочи, в результате которого моча вытекает.
- ❑ Использование спрятанной подмышкой наполненной жидкостью резиновой груши с отведенной к генитальной области трубкой. При нажатии на грушу можно ввести в мочу воду или другие вещества и таким образом разбавить или загрязнить ее.
- ❑ Использование мочи друзей обследуемого лица, не употребляющих наркотики.
- ❑ Разбавление пробы мочи водой из унитаза.
- ❑ Прием внутрь большого объема жидкости для того, чтобы разбавить мочу.

- ❑ Помещение для отбора проб должно быть соответствующим образом осмотрено, с тем чтобы в нем не оказалось каких-либо веществ, которые могли бы быть использованы для фальсификации проб; в этом помещении не должно быть дозаторов мыла или моющих средств.
- ❑ Отбор проб мочи (50 мл) должен осуществляться в два соответствующих сосуда (аликвоты А и В). Сосуды не должны быть заполнены полностью.
- ❑ Сразу же после отбора пробы должна быть измерена и зарегистрирована температура (32–38°C в течение 4 минут). Если есть подозрение, что проба фальсифицирована, об этом следует поставить в известность персонал лаборатории.
- ❑ Пробирки с пробами должны быть надежно закупорены, запечатаны и снабжены этикетками. Должны быть приняты меры, обеспечивающие целостность пробы. Для этого, например, пробирки могут быть опечатаны сургучом с приложением печати учреждения или могут использоваться другие меры, позволяющие определить, что проба не подвергалась какому-либо воздействию. Важным условием является запечатывание контейнера в присутствии обследуемого лица, которое должно поставить свою подпись или инициалы на запечатанной пробке или на этикетке.
- ❑ Этикетки (которые могут быть удалены лишь с трудом) должны прикрепляться к контейнеру с пробами мочи, а не к крышкам. Это позволит избежать случайной или умышленной замены проб и/или идентифицирующих этикеток.

Этикетка должна содержать следующую информацию, которая гарантирует точную идентификацию обследуемого лица и пробы.

Фамилия и имя*:
Номер документа, удостоверяющего личность:
Дата и время отбора пробы:
Место отбора пробы:
Фамилия сотрудника, контролировавшего отбор пробы:
Наркотик (наркотики), на который проводится анализ:
Номер пробы:

* Некоторые лаборатории по соображениям конфиденциальности используют кодовый номер вместо фамилии обследуемого.

- ☐ Данные о каждом лице, у которого берется проба, вносятся в бланк заявки на анализ. Этот бланк доставляется в лабораторию вместе с пробой.
- ☐ Лицу, у которого берется проба, не позволяется участвовать в следующих после отбора операциях с пробой (заполнение этикетки, упаковка и транспортировка пробы в лабораторию).
- ☐ При хранении и уничтожении пустых емкостей, бланков заявок, этикеток и упаковочных материалов должны соблюдаться строгие меры безопасности.

Транспортировка и хранение

- ☐ После заполнения бланка заявки на анализ проба вместе с заявкой передается курьеру для доставки в лабораторию. В процессе транспортировки и хранения пробы должны быть защищены от прямого воздействия света и тепла, в связи с чем при транспортировке они должны находиться на холоде, предпочтительно в контейнере с теплоизоляцией, внутри которого находится лед или упаковка другого охлажденного вещества.

Важно, чтобы при хранении и транспортировке пробы были защищены от продолжительного воздействия света и тепла.

- ☐ Специально назначенный курьер несет ответственность за транспортировку проб в лабораторию и за ведение соответствующей документации о порядке хранения с целью гарантировать, что пробы не были повреждены во время перевозки.

Представление проб в лабораторию

- ☐ В лаборатории уполномоченное лицо должно принять и тщательно проверить все пробы и документы. Для каждой пробы мочи (или пробирки с кровью) один сосуд должен использоваться для анализа, а другой – хра-

ниться в замороженном состоянии на случай, если потребуется дополнительный анализ.

- ❑ Удостоверившись, что пробы и бланки заявок находятся в порядке, уполномоченный сотрудник должен составить письменное подтверждение получения проб, подписать его и вручить курьеру, доставившему пробы.
- ❑ Пробы, отбор, транспортировка и хранение которых проводились с нарушением соответствующих правил, не должны приниматься.
- ❑ Сотрудники лаборатории должны вести тщательно задокументированные записи и соблюдать строгие меры безопасности, с тем чтобы обеспечить целостность проб и конфиденциальность результатов.
- ❑ Если проведение анализа проб откладывается более чем на один-два дня, пробы должны храниться в замороженном состоянии в закрытом на замок холодильнике (Рекомендуемые методы обнаружения и анализа барбитуратов и бензодиазепинов в биологических пробах (ST/NAR/28), Организация Объединенных Наций, 1995 год). В замороженном состоянии пробы обычно сохраняют свои свойства в течение нескольких месяцев.

Бланк заявки на анализ пробы

- ❑ Бланк заявки на анализ пробы на содержание наркотиков, представляемый вместе с пробой, позволяет сотрудникам лаборатории сверить информацию, содержащуюся на этикетке конкретной пробы, с информацией на бланке заявке, с тем чтобы удостоверить личность обследуемого и подтвердить факт передачи в лабораторию всех отобранных проб.
- ❑ Бланк заявки должен содержать, по меньшей мере, информацию, удостоверяющую личность обследуемого, личность сотрудника, контролировавшего отбор проб, и специально назначенного курьера, доставившего пробы в лабораторию; должны быть указаны номер пробы, а также дата и время ее отбора.
- ❑ В бланк заявки может быть включена дополнительная информация, которая уточняет, какой именно наркотик является объектом анализа, а также примечания по поводу любых подозрений в отношении возможной фальсификации пробы.
- ❑ После заполнения бланк заявки должен быть подписан лицом, имеющим соответствующие полномочия, и должна быть поставлена официальная печать.

С. Конфиденциальность результатов

Важно обеспечивать полную безопасность и конфиденциальность на постоянной основе.

- ❑ Любая информация, касающаяся лица, у которого взята проба, и результатов анализа, должна храниться в запертом помещении и в условиях безопасности.
- ❑ Доступ к отчетам могут иметь только уполномоченные лица.

D. Безопасность сотрудников лаборатории

Работа с биологическим материалом подвергает сотрудников лаборатории опасности заражения, в числе прочего, гепатитом и СПИДом. В связи с этим все сотрудники должны соблюдать необходимые меры предосторожности и выполнять правила техники безопасности, например, надевать перчатки и другую защитную одежду.

E. Правила безопасности

- ☐ Строгие меры безопасности должны выполняться при хранении и уничтожении не только проб, но и пустых емкостей, бланков заявок, этикеток и упаковочных материалов.
- ☐ Лицу, у которого берется проба, не позволяется участвовать в следующих после отбора операциях (заполнение этикетки, упаковка и транспортировка пробы в лабораторию).
- ☐ Важным условием является запечатывание контейнера в присутствии обследуемого, который должен поставить свою подпись или инициалы на запечатанной пробке или на этикетке.
- ☐ Следует вести точные и исчерпывающие записи, касающиеся всех лиц, участвующих в процессах отбора, хранения и транспортировки проб мочи.
- ☐ Этикетки должны прикрепляться к контейнеру, содержащему пробу мочи (или крови), а не к крышке. Это позволит избежать случайной или умышленной замены проб и/или идентифицирующих этикеток.
- ☐ В отношении информации о лицах, у которых берется проба, и о результатах анализа должна соблюдаться строгая конфиденциальность, а доступ к ней должны иметь только уполномоченные лица.

F. Методология

Сначала проводится отборочный анализ. В случае положительного результата должен быть проведен подтверждающий анализ с использованием второй аликвоты пробы.

Отборочный анализ должен с высокой степенью надежности выявить потенциально положительные результаты и должен быть чувствительным, быстрым и недорогим. Этим критериям обычно отвечает иммунологический анализ. Однако используемые в иммунологическом анализе антитела обладают сравнительно низкой специфичностью и могут стать причиной перекрестных реакций.

Подтверждающий анализ должен обладать той же чувствительностью, но при этом более высокой специфичностью, чем отборочный анализ. Как правило, он предполагает применение хроматографических методов и может включать ТСХ, газовую хроматографию (ГХ), высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) и газовую хроматографию – масс-спектрометрию (ГХ-МС).

Методы иммунологического анализа

Методы иммунологического анализа являются основными методами в тех случаях, когда в течение ограниченного времени необходимо провести отборочный анализ большого числа проб. Для отборочного анализа проб наркотиков, являющихся предметом злоупотребления, в продаже имеются комплекты соответствующих химических веществ. Лаборатории должны использовать только утвержденные методы иммунологического анализа. Наиболее часто используемыми методами являются радиоиммунологический анализ (РИА), иммуноферментный анализ (ИФА), флуоресцентный поляризационный иммуноанализ (ФПИА) и др. РИА, ФПИА и ИФА требуют использования сравнительно дорогого оборудования.

Выбор метода в большинстве случаев зависит от объема выполняемой лабораторией работы (количество анализируемых проб в день) с использованием либо инструментальных, либо неинструментальных методов.

Для того чтобы свести к минимуму неточности в результатах анализов, должное внимание следует уделять техническому обслуживанию оборудования, контролю окружающей среды (поддержание постоянной температуры), а также наличию соответствующих запасов относительно нестабильных реактивов и хранению их в надлежащих условиях (на холоде).

При использовании некоторых методов иммунологического анализа требования к квалификации и опыту сотрудников могут быть менее строгими, что облегчает комплектацию лаборатории персоналом, однако контролировать процесс обязательно должны химики-аналитики, обладающие достаточным опытом в области применения данных методов.

Тонкослойная хроматография (ТСХ)

Методы ТСХ не требуют крупных капитальных затрат на оборудование и других первоначальных расходов на оснащение лаборатории. Однако они являются трудоемкими и, как правило, менее чувствительными, чем другие методы, а для их надлежащего применения требуется значительный опыт персонала, поскольку интерпретация результатов носит субъективный характер. Данные методы рекомендуются использовать для подтверждения результатов отборочного иммунологического анализа, а также в качестве первичного анализа в тех случаях, когда затраты труда являются менее важным фактором, чем капиталовложения, но при этом в наличии имеется квалифицированный персонал.

В тех ситуациях, когда ресурсы лаборатории ограничиваются применением только методологии ТСХ, результат такого анализа не должен использоваться в качестве единственного доказательства факта употребления наркотиков или их присутствия в пробе, если это может иметь тяжелые последствия для соответствующего лица. В случае отсутствия более сложного оборудования приемлемым решением может стать подтверждающий анализ с использованием по крайней мере одной альтернативной системы растворителей ТСХ и/или альтернативного реагента, используемого для обнаружения наркотика.

Газовая хроматография (ГХ) и высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ)

ГХ и ВЭЖХ обеспечивают высокий уровень чувствительности и специфичности для подтверждения предположительных положительных результатов, полученных

в результате отборочных анализов. Однако оборудование является относительно дорогостоящим, и решающее значение имеют квалификация и опыт персонала, необходимые для использования этих высокотехнологичных систем.

*Масс-спектрометрия в сочетании либо
с газовой хроматографией (ГХ-МС),
либо с жидкостной хроматографией (ЖХ-МС)*

ГХ-МС и ЖХ-МС являются наиболее чувствительными из всех имеющихся методов подтверждения наличия наркотика в пробе. Они требуют самых больших капиталовложений, а также затрат на подготовку персонала и техническое обслуживание оборудования. Результаты применения этих методов с наименьшей вероятностью будут оспорены в суде, и их следует рассматривать как обязательный и необходимый элемент программ, в которых контролирующая лаборатория является последней инстанцией, подтверждающей сомнительные результаты анализа.

Подготовка проб

Обычно для проведения начального иммунологического анализа не требуется сложной подготовки проб. Нет необходимости подвергать пробу мочи гидролизу, поскольку при проведении иммунологического анализа измеряются как свободные, так и связанные наркотики и/или метаболиты. Для получения оптимальных результатов необходимо следовать указаниям изготовителя.

Для проведения хроматографических процедур тщательное приготовление проб имеет весьма важное значение. Это обусловлено тем, что и моча и кровь представляют собой сложный комплекс, включающий в себя смесь большого числа органических и неорганических соединений, где конкретный целевой аналит содержится в очень малых количествах. Подготовка проб мочи, как правило, предусматривает гидролиз, а также экстракцию и очистку аналита.

Процедура должна быть одновременно эффективной, поскольку для экстракции того минимального количества вещества, которое содержится в пробе, необходимо хорошее извлечение, и избирательной, обеспечивающей удаление примесей из пробы.

Подготовка пробы к проведению ГХ и ГХ-МС нередко предполагает получение химических производных целевых аналитов. Несмотря на то, что этот дополнительный этап, возможно, потребует дополнительного времени и дополнительных затрат на используемые реагенты, получение производных все же нередко рекомендуется по следующим причинам:

- ☐ может быть обеспечена более высокая чувствительность анализа;
- ☐ производные, возможно, окажутся более стойкими к воздействию температуры;
- ☐ могут быть улучшены хроматографические свойства, то есть форма пиков, время удерживания и разделение;
- ☐ масс-спектры могут содержать ионы, более пригодные для проведения ГХ-МС при селективном мониторинге ионов (СМИ), чем ионы форм, не являющихся производными.

Для того чтобы установить факт незаконного употребления наркотиков, обязательно использовать количественные аналитические методы. Однако, когда существует установленная критическая концентрация, принципиально важно точно определить, является ли концентрация наркотика выше или ниже уровня критической. Есть также определенные преимущества в измерении количества наркотиков и их метаболитов, идентифицированных в ходе применения отборочного метода (методов), особенно когда возникают проблемы с интерпретацией результатов.

Хроматографические методы в основном обеспечивают надежные результаты определения количества аналитов. ТСХ может использоваться в качестве метода количественного анализа, но для этого потребуются планшетный сканнер и денситометр, при этом сама процедура может оказаться ненадежной и экономически неэффективной. Кроме того, в данном случае методы иммунологического анализа обычно не обеспечивают достоверное определение количества, поскольку всегда существует вероятность присутствия в пробе веществ с перекрестной реакционной способностью.

При проведении количественного анализа посредством ГХ, ВЭЖХ, ГХ-МС или ЖХ-МС перед экстракцией требуется добавка внутреннего эталона. Внутренний эталон также позволяет измерить относительное время удерживания. Внутренние эталоны должны быть подобны целевым аналитам в том, что их можно экстрагировать, создавать их производные и подвергать анализу в тех же условиях, что и целевые аналиты; при этом они должны быть легко отличимы от аналитов при проведении хроматографической процедуры. Тем не менее следует принять меры, чтобы избежать использования веществ, которые могут оказаться в составе пробы, например других наркотиков или эндогенных материалов.

Обычно при проведении количественного анализа с помощью ГХ-МС наилучшим внутренним эталоном является меченный дейтерием аналог аналита. Однако меченные дейтерием аналоги являются дорогостоящими и не всегда могут оказаться в наличии. Как правило, вполне удовлетворительные результаты дает использование в качестве внутренних эталонов других аналогов целевого соединения.

Обычно в отношении веществ, присутствие которых в биологических матрицах устанавливается, определяются значения критической концентрации. Выбор этих значений происходит с учетом ожидаемой концентрации в пробе наркотического вещества после его приема; вместе с тем учитывается возможность ошибочной интерпретации результатов в случаях, когда имел место непреднамеренный или пассивный прием наркотика.

Все аналитические методы, используемые для обнаружения веществ, для которых установлены значения критической концентрации, должны рассматриваться в качестве количественных методов, имеющих количественный предел обнаружения (КПО), не превышающий требуемое критическое значение концентрации.

В тех случаях, когда определение количества осуществляется с использованием одного калибровочного образца (или “эталона”), этот образец должен иметь концентрацию, равную критической.

Концентрация аналита может быть вычислена по общей формуле:

$$\text{Концентрация аналита } X = C_{\text{RS}} \times A_{\text{X}}/A_{\text{IS1}} \times A_{\text{IS2}}/A_{\text{RS}},$$

где:

A_x = пиковая область для аналита X, полученная из хроматограммы образца,

A_{IS1} = пиковая область внутреннего эталона, полученная из хроматограммы пробы,

A_{RS} = пиковая область контрольного эталона, полученная из хроматограммы эталона,

A_{IS2} = пиковая область внутреннего эталона, полученная из хроматограммы эталона,

C_{RS} = концентрация аналита X в растворе контрольного эталона.

Результат проведенных вычислений может быть использован только для определения того, является ли концентрация наркотического вещества “выше или ниже” критического значения.

Аналогичным образом может быть выполнен частичный количественный анализ образца, однако при этом отобранный калибровочный образец должен содержать концентрацию наркотического вещества, приближающуюся к ожидаемой концентрации в анализируемом образце.

G. Обеспечение качества

Главным условием надежности результатов является надлежащим образом подготовленный и квалифицированный персонал. Следование принципам надлежащей лабораторной практики (НЛП), использование стандартных рабочих инструкций (СРИ) и регулярно проводимая переподготовка персонала будут способствовать поддержанию качества и надежности работы лаборатории. Должны использоваться только утвержденные методы.

Внутренний контроль качества

Надлежащая программа обеспечения качества, предусматривающая тщательное ведение документации, должна быть неотъемлемым элементом организации лаборатории по обнаружению наркотиков и иметь в арсенале по крайней мере некоторые способы оценки точности и достоверности всех проводимых анализов. Точность применяемых методов должна оцениваться либо посредством проведения множественного анализа отдельных проб, либо использования достаточного количества проб для контроля качества (содержащих различные концентрации наркотического вещества или его метаболитов в соответствующей жидкости организма). Это позволит химику-аналитику проводить статистическую оценку точности анализов внутри партий проб в течение определенного периода времени.

Внешняя оценка качества

По мере возможности лаборатория должна участвовать во внешней программе аттестации. Такая программа проводится независимым внешним учреждением. Заинтересованные лаборатории могут принять участие в программе, осуществля-

емой под эгидой Организации Объединенных Наций (мероприятия по сотрудничеству в рамках ЮНДКП). Обращаться по следующим контактными адресам:

United Nations International Drug Control Programme
Scientific Section
Vienna International Centre
P.O. Box 500
1400 Vienna
Austria
Тел.: (+43-1) 26060-4303
Факс: (+43-1) 26060-5866

Н. Интерпретация результатов

Качественный и количественный анализы биологической пробы обеспечивают доказательство того, что обследуемый употреблял либо не употреблял контролируемое наркотическое средство. Наличие метаболитов также может свидетельствовать о введении наркотика.

Положительный результат означает, что наркотическое средство либо его метаболит содержится в пробе в концентрации, превышающей критическую или равной ей (если таковая установлена). Удаление наркотика из организма и его концентрация в моче и крови зависят от таких факторов, как способ введения наркотика в организм, частота и продолжительность его употребления, скорость метаболизма наркотика, физическое состояние обследуемого, время отбора пробы, принятие внутрь жидкости и др. Однако важно отметить, что концентрация наркотика в моче может быть никак не связана со степенью ухудшения состояния здоровья.

II. ЛСД и другие галлюциногены

А. Введение

В настоящем Руководстве рассматриваются следующие галлюциногенные вещества, находящиеся под контролем в соответствии с Конвенцией о психотропных веществах 1971 года Организации Объединенных Наций: (+)-лизергид (ЛСД), псилоцин и псилоцибин (Список I), а также фенциклидин (ФЦП, Список II). Другие контролируемые наркотические вещества, вызывающие галлюциногенный эффект, включают ТКГ (в больших дозах) и мескалин. Некоторые из этих веществ являются предметом рассмотрения других руководств (ST/NAR/27).

Галлюциногенами называются разнообразные природные и синтетические наркотические средства, которые делятся на три основные группы в соответствии с общими химическими свойствами, основу которых составляют триптамин (например, ЛСД и псилоцин), фенэтиламин (например, мескалин) и тропановые алкалоиды (например, атропин, скополамин и белладонна). ФЦП является синтетическим веществом, ЛСД – полусинтетическим, а псилоцин и псилоцибин имеют природное происхождение. Ни одно из этих веществ не утверждено для применения в медицинских целях, однако существует одно исключение из общего запрета, а именно использование некоторых галлюциногенов в традиционных религиозных или племенных ритуалах.

Злоупотребление галлюциногенами и их употребление не по назначению широко распространено на международном уровне, и это означает, что любая лаборатория судебной экспертизы может встретиться с данными соединениями. Все синтетические галлюциногены производятся в незаконных лабораториях, в то время как природные вещества обычно собираются на местах в соответствующий сезон. О наличии какого-либо значительного международного оборота этих природных наркотических веществ информации нет.

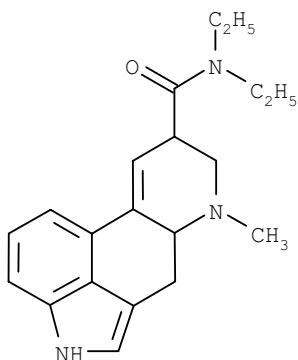
По статистике Международного комитета по контролю над наркотиками наиболее широко употребляемыми галлюциногенами в течение последнего десятилетия были ЛСД, каннабиноиды и некоторые замещенные по циклу амфетамины.

Химики-аналитики должны быть осведомлены о том, какие именно галлюциногены распространены в их регионе. За информацией, касающейся характеристик этих веществ и методологий их обнаружения и анализа, следует обращаться к опубликованным Организацией Объединенных Наций руководствам “Рекомендуемые методы анализа лизергида (ЛСД)” (ST/NAR/17) и “Рекомендуемые методы анализа кактуса пейоте (мескалиновых пуговиц)/мескалина и грибов *Psilocybe*/псилоцибина” (ST/NAR/19). Многоязычный словарь по наркотическим средствам и психотропным веществам, находящимся под международным контролем (ST/NAR/1/REV.1), изданный ЮНДКП, включает перечень синонимических названий галлюциногенов.

Незаконный синтез ЛСД

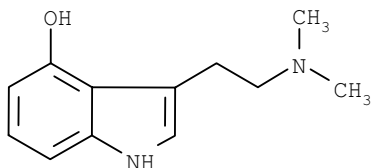
ЛСД является одним из наиболее сильнодействующих из всех известных галлюциногенных веществ. Свойства данного вещества были обнаружены в 1930-е годы, и в течение многих лет его периодически использовали в психиатрии в экспериментальных целях. На протяжении более 20 лет законное использование ЛСД не практиковалось, и продукты ЛСД, встречающиеся в настоящее время на нелегальном рынке, являются результатом деятельности исключительно подпольных лабораторий.

Рисунок 1. ЛСД и другие галлюциногены, находящиеся под международным контролем

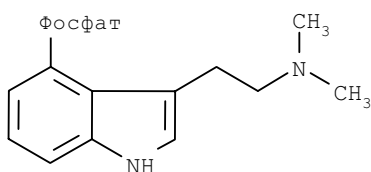


(+)-лизергид (ЛСД),
Диэтилаид d-лизергиновой кислоты
 $C_{20}H_{25}N_{3}O$
Молекулярная масса = 323,4
 pK_a : 7,8

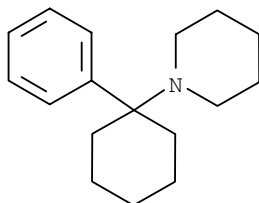
Тартрат ЛСД
 $(C_{20}H_{25}N_3O)_2 \cdot C_4H_6O_6 \cdot 2CH_3OH$
Молекулярная масса = 860,9



Псилоцин
4-гидрокси-N, N-диметилтриптамин
 $C_{12}H_{16}N_2O$
Молекулярная масса = 204,3
 pK_a : 8,47



Псилоцибин
4-фосфорил-N,N-диметил-триптамин
 $C_{12}H_{17}N_2O_4P$
Молекулярная масса = 284,3
 pK_a : на момент публикации неизвестен



Фенциклидин
1-(1-фенилциклогексил) пиперидин
 $C_{17}H_{25}N$
Молекулярная масса = 243,4
 pK_a : 8,5

Фенциклидин гидрохлорид
 $C_{17}H_{25}N \cdot HCl$
Молекулярная масса = 279,9

Существует несколько различных методов производства ЛСД, большинство из которых предполагает использование лизергиновой кислоты в качестве исходного материала. Лизергиновая кислота также производится в подпольных лабораториях с использованием, в большинстве случаев, эргометрина или тартрата эргометрина в качестве исходного сырья. Другие алкалоиды спорыньи могут также быть использованы для этих целей, хотя их применение не является широкой практикой. Неизвестно, какой именно метод синтеза чаще всего используется в подпольных лабораториях.

Синтез ЛСД из лизергиновой кислоты

По имеющимся сообщениям, существуют три метода производства ЛСД с использованием лизергиновой кислоты в качестве прекурсора. Первый метод предусматривает обработку лизергиновой кислоты гидроксидом лития для получения лизергата лития, который далее вступает в химическую реакцию с комплексным соединением серного ангидрида диметилформамида и диэтиламинном для получения неочищенного продукта ЛСД.

Второй метод представляет собой химическую реакцию между лизергиновой кислотой и N,N-карбонилдиимидазолом с последующей обработкой диэтиламином. Третий метод включает химическую реакцию между лизергиновой кислотой и трифторуксусным ангидридом, после чего полученные в результате реакции смешанные ангидриды проходят обработку диэтиламином.

Синтез ЛСД из алкалоидов спорыньи

Этот метод предполагает использование в качестве исходного сырья одного из алкалоидов спорыньи или смеси алкалоидов спорыньи. Алкалоид (алкалоиды) обрабатывается гидратом гидразина для получения гидразида лизергиновой кислоты. С помощью нитрита натрия гидразид превращают в азид, после чего его вводят в химическую реакцию с диэтиламином, чтобы получить готовый продукт.

Все описанные выше методы синтеза ЛСД приводят к получению неочищенного продукта, содержащего в больших количествах изо-ЛСД и другие побочные продукты. Удаление этих примесей обычно осуществляется посредством хроматографирования неочищенного продукта на колонне из оксида алюминия или посредством серии разделений слабых кислот и слабых оснований с помощью соответствующего органического растворителя. Примерами химикатов, которые применяются для этой цели, являются винная кислота, бикарбонат натрия и метиленхлориды. Кроме того, из-за нестабильности основания ЛСД обычно в результате получают соль винной кислоты.

Это осуществляется посредством осаждения соли из метанольного раствора основания ЛСД с использованием растворенной в метаноле винной кислоты в качестве осаждающего реагента. Более подробное описание синтеза ЛСД содержится в ST/NAR/10 (Подпольное изготовление веществ, находящихся под международным контролем).

Синтез лизергиновой кислоты

Наиболее распространенным методом производства лизергиновой кислоты в подпольных лабораториях является ее получение из эргометрина или тартрата эрготамина. Это достигается посредством кипячения с обратным холодильником алкало-

ида спорыньи, едкого калия и гидразина в спиртовой или водной среде. Альтернативным методом получения лизергиновой кислоты является экстракция лизергамида из семян ипомеи или гавайской малой древовидной розы и обработка очищенного экстракта лизергамида тем же способом, что и описанный способ обработки эрготамина.

Лизергиновую кислоту можно получить брожением культур *Claviceps paspali* или *Aspergillus clavatus*, либо посредством многостадийного процесса, исходным сырьем для которого является метил-6-метилникотиноат.

Незаконный синтез фенциклидина (ФЦП)

Наиболее распространенный в подпольных лабораториях процесс производства начинается с конденсации 1-фенилциклопентиламина и пентаметилендибромидом. Этиловый эфир и другие летучие растворители, используемые в процессе производства, имеют характерный запах, который нередко выдает местоположение лаборатории.

В. Физические и химические характеристики незаконных продуктов

Лизергид (ЛСД)

Когда в 1960-е годы ЛСД впервые поступил на нелегальный рынок, было обычной практикой наносить это вещество на разнообразные субстраты, добавляя каплю раствора ЛСД в адсорбирующий материал. В числе широко используемых субстратов были кусковой сахар, промокательная или другая адсорбирующая бумага, а также фармакологически инертные порошки, которые затем использовались для заполнения пустых желатиновых капсул. Другая распространенная дозировочная форма, имевшая название “оконные стекла” или “пирамиды”, представляла собой желатиновую матрицу, в состав которой входил ЛСД. Затем затвердевший желатин разрезался на небольшие квадратики. Однако самыми распространенными дозировочными формами были таблетки разного размера, формы и цвета.

Состав таблеток был весьма разнообразен, с содержанием ЛСД от 20 до 500 мкг, что было обусловлено трудностями приобретения однородного порошка для таблетирования. Таким образом, несмотря на то, что и в 1970-е годы таблетки по-прежнему оставались основной дозировочной формой, количество разновидностей таблеток сократилось, так как их производство было ограничено теми лабораториями, которые были способны изготовить более однородный продукт. Одной из разновидностей таблеток, получивших широкое распространение, стали, в частности, “микротаблетки”; они представляли собой круглые пилюли диаметром приблизительно 1,6 мм и содержали достаточно однородные дозы ЛСД – приблизительно 100 мкг на одну таблетку.

В 1980-е годы бумажные дозировочные формы получили гораздо более широкое распространение. Однако в отличие от более ранних бумажных форм, когда ЛСД капали на бумажную поверхность (они все еще нередко встречаются в ряде стран), новые бумажные дозировочные формы изготавливаются путем пропитывания бумаги с заранее нанесенным рисунком раствором ЛСД, обеспечивая таким

образом получение более однородного продукта. Как правило, эти листы бумаги перфорированы на квадраты размером 5 мм × 5 мм; каждый из таких квадратов содержит типичную дозу 30–50 мкг ЛСД. На таких листах встречаются разнообразные рисунки – от абстрактных изображений до персонажей мультфильмов.

В настоящее время подавляющее большинство разновидностей дозировочных форм ЛСД, имеющих в обороте на нелегальном рынке, представляют собой либо бумажные дозировочные формы, либо небольшие таблетки, аналогичные “микротаблеткам”, либо желатиновые формы. Обычно эти формы содержат приблизительно 50 мкг ЛСД. Тем не менее не следует игнорировать и другие формы, принимая во внимание то, с какой легкостью раствор ЛСД может наноситься на разнообразные субстраты.

Грибы Psilocybe/псилоцибин

Грибы *Psilocybe* играли основную роль в обрядах прорицания и магических обрядах древних жителей империи ацтеков. В основе многих религиозных культов лежит таинство употребления этих “священных” грибов, называвшихся “теонанакатль” (“божественная плоть”). И сегодня культ галлюциногенных грибов, то есть употребление *Psilocybe Mexicana*, глубоко укоренен в национальных традициях мексиканских индейцев.

Все известные на сегодняшний день галлюциногенные грибы (за исключением *Amanita Muscaria*) относятся к одной группе базидиальных грибов (*Basidiomycotina*), называемых пластинчатыми (*Agaricales*). Термин “пластинчатый гриб” является общим названием, применяемым к тем грибам, которые, как правило, имеют форму зонтика и состоят из шляпки (*pileus*) на расположенной по центру ножке (или пеньке). На нижней стороне шляпки из центра расходятся пластинчатые структуры, называемые гимениальными пластинками (*lamellae*). На поверхности гимениальных пластинок находится ткань, которая вырабатывает базидий, представляющий собой репродуктивные клетки, на которых развиваются споры. Следует заметить, что некоторые пластинчатые грибы, которые могут быть ошибочно приняты за грибы вида *Psilocybe*, содержат токсичные вещества, например раздражители желудочно-кишечного тракта, цитолитические и/или гемолитические соединения.

Вид грибов *Psilocybe*, принадлежащих к семейству строфариевых, несомненно, является важнейшим, почти космополитическим видом галлюциногенных грибов. Известны более 140 разновидностей этого гриба, 80 из которых содержат психотропные вещества. Эти грибы встречаются повсюду, от Арктики до тропиков, хотя основной зоной их распространения является зона умеренного климата. Эти грибы произрастают на почве и на других видах органического субстрата, таких как гумус, навоз, гниющая древесина, торф, а также слежавшийся мох. Другие грибы, содержащие псилоцибин, относятся, например, к виду *Panaeolus* (*Coprinaceae*), *Copocybe* (*Bolbitiaceae*), *Inocybe* (*Cortinariaceae*) и *Pluteus* (*Pluteaceae*). С точки зрения злоупотребления наркотиками наиболее важными из этих видов грибов являются *Psilocybe semilanceata* и *Psilocybe cubensis*. В течение последних несколько лет наблюдаются значительное увеличение масштабов злоупотребления этим сильнодействующим наркотическим веществом посредством приема внутрь свежего или высушенного тела гриба, вследствие чего во многих странах этот вид наркотиков признан незаконным.

Psilocybe Seminalceata (FR.) QUEL., или “фригийский колпак” (“Liberty Cap”), является наиболее распространенным грибом, содержащим псилоцибин, и произ-

растает, в том числе в северной и центральной Европе, Северной Америке, России и Австралии. Он растет отдельными экземплярами или скученно на плодородной почве, в траве на полях вблизи ферм, а также на хорошо удобренных навозом пастбищах и лугах.

Гриб *Psilocybe cubensis* (EARLE) SINGER (синоним: *Stropharia Cubensis* EARLE) получил распространение из южной Мексики, Центральной Америки, островов Вест-Индии, Флориды, Южной Америки и Юго-Восточной Азии. Он растет отдельными экземплярами или небольшими группами, обычно на навозе или плодородной пахотной почве.

Основными алкалоидами, содержащимися в этой разновидности грибов, являются фосфорилированный индоламиноый псилоцибин (4-фосфорилокси-N,N-диметилтриптамин) и беоцистин (4-фосфорилокси-N-метилтриптамин, норпсилоцибин), который, возможно, является прямым биохимическим прекурсором псилоцибина. Псилоцин (4-гидрокси-N,N-диметилтриптамин), являющийся продуктом дефосфорилирования и психотропным метаболитом псилоцибина, как правило, содержится в грибе в следовых количествах. Он образуется в результате процесса ферментации или, что бывает чаще, в результате неправильного высушивания и хранения гриба. До сих пор неизвестно, обладает ли беоцистин психотропным действием, аналогичным эффекту, вызываемому псилоцибином. Содержание псилоцибина и беоцистина варьируется в диапазонах 0,2–2% и 0,05–0,7%, соответственно.

Фенциклидин

Фенциклидин существует в большом многообразии форм, например в таблетках, капсулах, порошках и в жидком виде. Им пропитывают бумагу, смеси из листьев (например, петрушки, базилика, перца, мяты, чая или марихуаны) или сигареты (например, обмакивают их в жидкий фенциклидин). Ряд аналогов или прекурсоров фенциклидина появились в составе распространяемых на улице наркотиков, например, 1-(1-(2-тиенил)циклогексил)пиперидин (ТЦП), N-этилфенилциклогексилламин (ФЦЭ), 1-(1-фенилциклогексил)пирролидин (ФГП или ФЦД), 1-пиперидиноциклогексанкарбонитрил (ПЦК), 1-фенилциклогексилламин и фенилциклопентилпиперидин (ФЦПП)¹². Смеси из листьев обычно содержат приблизительно 1 мг фенциклидина на 150 мг растительного материала (от 0,25% до 8,0% ФЦП)¹³.

III. Рекомендуемые методы обнаружения и анализа ЛСД

А. Фармакология

Современные формы употребления

ЛСД по-прежнему широко распространен как предмет злоупотребления, в особенности среди подростков, проживающих в различных регионах мира, включая Европу и Соединенные Штаты^{14, 15}. Популярность ЛСД частично является следствием легкой доступности вещества и его сравнительно низкой стоимости. “Уличная” доза обычно содержит от 20 до 80 мкг ЛСД и принимается перорально.

Развитие толерантности и зависимости

После введения ЛСД его действие, как правило, продолжается в течение 6–12 часов¹⁶. Толерантность развивается через 3 или 4 дня непрерывного употребления, но исчезает после короткого периода абстиненции. Прекращение употребления ЛСД не вызывает синдрома отмены.

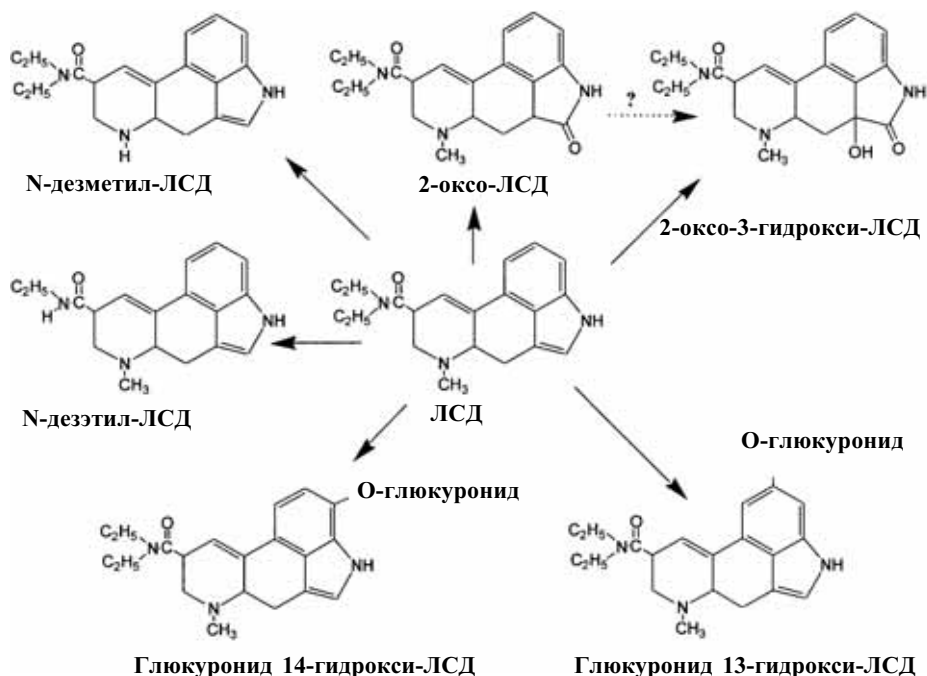
В. Распределение в организме

Метаболизм и распределение в организме

ЛСД быстро преобразуется в ходе обмена веществ. Только приблизительно от 1 до 3% вводимой перорально дозы ЛСД выделяется с мочой в виде неизмененного ЛСД¹⁷. Изучение метаболизма ЛСД в человеческом организме жестко ограничено запретом клинических исследований, связанных с введением наркотика. Однако N-дезметил-ЛСД (“нор-ЛСД”) и 2-оксо-3-гидрокси-ЛСД однозначно идентифицируются в моче лиц, употребляющих ЛСД^{17, 18}. Кроме того, сопряженные глюкурониды 13- и 14-гидрокси-ЛСД предположительно идентифицируются в ЛСД-положительных пробах мочи¹⁷, а этиламид лизергиновой кислоты идентифицируется *in vitro* в микросомах печени человека¹⁹. Известные и предположительно идентифицируемые в организме человека метаболиты ЛСД представлены на рис. 2.

Опровергая имеющиеся в литературе по данной проблеме утверждения о том, что 2-оксо-ЛСД является основным метаболитом ЛСД в человеческом организме, недавние исследования показали, что это всего лишь второстепенный метаболит. О метаболитах ЛСД имеется слишком мало количественных данных. Однако неопубликованные данные ЖХ/МС/МС свидетельствуют о том, что 2-оксо-3-гидрокси-ЛСД и

Рисунок 2. Известные и предполагаемые метаболиты ЛСД в организме человека



сопряженные глюкурониды 13-гидрокси-ЛСД могут быть обнаружены в моче в течение более длительного времени, чем ЛСД. Относительное количество дозы ЛСД, выделяемое с мочой и фекалиями, не было точно определено, несмотря на то, что это наркотическое средство, меченное радиоизотопами, вводилось марьяшкам²⁰ и бабуинам [неопубликованные данные].

Изо-ЛСД, представляющий собой инертный диастереоизомер ЛСД, нередко содержится в пробах мочи, полученных от употребляющих ЛСД лиц, иногда в концентрациях, превышающих концентрации самого ЛСД. Однако изо-ЛСД не является продуктом метаболизма ЛСД и поэтому присутствие этого вещества в пробе мочи объясняется его наличием в качестве примеси в дозе ЛСД, принятой обследуемым.

Концентрации в крови

После введения ЛСД его концентрация в крови, как правило, не превышает 10 нг/мл. Пиковая концентрация после приема дозы, равной 1 мкг/кг (0,70 мкг), составляла 1,9 нг/мл по истечении 3 часов²¹. В двух независимых исследованиях доза ЛСД, равная 2 мкг/кг, дала пиковую концентрацию, равную 5 нг/мл по истечении 1 часа²² [9] и 9 нг/мл по истечении 5 часов²³. После приема каждым из двух добровольцев дозы, равной 4 мкг/кг, пиковые концентрации в плазме крови составили 9,7 и 7,4 нг/мл¹⁸.

По имеющимся сообщениям, период полувыведения вещества из плазмы крови варьируется от 2,4 до 5,0 часов^{18, 21}. Объем распределения равен 0,3 л/кг, связывание белка составляет 90%.

Концентрации в моче

По имеющимся сообщениям, концентрации ЛСД в моче достигают 26 нг/мл²⁴. Однако пиковые концентрации в моче после перорального приема обычной “уличной” дозы ЛСД (от 20 до 80 мкг), как правило, не превышают 10 нг/мл и снижаются до уровня менее 1 нг/мл в течение периода времени от 12 до 24 часов. Поэтому для обнаружения факта употребления ЛСД через один день и более после приема наркотика требуются исключительно чувствительные аналитические методы.

С. Токсикология

С точки зрения фармакологии ЛСД не является высокотоксичным веществом. Тем не менее ЛСД считается опасным наркотиком, так как его употребление может вызвать состояние паники, бреда и неадекватного поведения, что иногда приводит к совершению иррациональных и наносящих ущерб здоровью поступков. Такие поступки может совершить после приема обычной дозы даже лицо, имеющее большой опыт употребления ЛСД¹⁴.

Одним из хорошо известных побочных эффектов ЛСД является рецидивирующий психоз (“флэшбэк”). Он проявляется в повторном возникновении галлюцинаций и других подобных ощущений после того, как уменьшилась интенсивность первоначального воздействия ЛСД. Это состояние может продолжаться в течение нескольких минут или часов и рецидивировать спустя несколько лет после последнего приема ЛСД. Механизм рецидивирующего психоза неизвестен, но есть предположение, что он является результатом долговременного повреждения нервных клеток, что и проявляется впоследствии в виде повторяющихся галлюцинаций при определенной стимуляции серотонинергической системы. Рецидивирующий психоз возникает приблизительно у половины лиц, употребляющих ЛСД, независимо от того, принимали они наркотик от случая к случаю или сотни раз.

D. Методы анализа

Стабильность ЛСД

ЛСД чувствителен к ультрафиолетовому излучению, повышенным температурам и крайним значениям pH. Однако нестабильность вещества не является главной проблемой для аналитика, при условии что принимаются соответствующие меры предосторожности при работе с эталонами и пробами, содержащими данный наркотик, а также при их хранении.

Что касается фоточувствительности, то ЛСД быстро разрушается только под воздействием света, содержащего ультрафиолетовые лучи (то есть солнечного света). Например, после того как раствор ЛСД был помещен в прозрачную стеклянную пробирку и подвергнут воздействию солнечных лучей в течение 13 часов, концентрация ЛСД сократилась на 90%²⁵. В то же время концентрация ЛСД в пробе мочи, которая хранилась в течение одного месяца в полиэтиленовых бутылках при комнатной температуре и подвергалась воздействию обыкновенного комнатного освещения, сократилась менее чем на 10%²⁶.

ЛСД частично эпимеризуется в изо-ЛСД в щелочной среде. При pH, равном 7,0 или выше, в течение одной недели при 45°C или двух недель при 37°C достигается соотношение ЛСД/изо-ЛСД, равное 9:1²⁷. ЛСД также нестабилен при pH < 4²⁸.

Наличие эталонов. Эталоны имеются в наличии; за подробной информацией следует обращаться в ЮНДКП.

Методы отборочного анализа

Иммунологический анализ

Для проведения отборочного анализа с целью обнаружения присутствия ЛСД в пробе мочи имеется ряд различных методов иммунологического анализа. Большая их часть предусматривает критическую концентрацию, равную 500 пг/мл, хотя концентрации, равные 100 и 250 пг/мл, также используются, главным образом при проведении радиоиммунологического анализа (РИА). В таблице 1 приведены доступные методы иммунологического анализа и даны некоторые их характеристики. Методы могут быть подразделены на методы гомогенного (то есть не требующего разделения между свободными и связанными фракциями) и гетерогенного анализа.

Примеси. Высокий процент ложных положительных результатов был отмечен при применении аналитического метода ИФУ²⁹. Причиной этого, по имеющимся сообщениям, стало присутствие в пробах сертралина, метоклопрамида, пипамперона или галоперидола³⁰. Ложные положительные результаты также наблюдались при использовании аналитического метода CEDIA³¹.

Анализ проб мочи, проводившийся в ходе контролируемых исследований, показал, что наибольшее число совпадений метод DPC РИА имел с ГХ-МС/МС,

Таблица 1. Доступные методы иммунологического анализа для проведения отборочного анализа проб мочи с целью обнаружения ЛСД

Метод анализа	Гомогенный или гетерогенный	Принцип	Объем образца (мкл, включая мертвый объем)	Обычная продолжительность анализа	Примечания
РИА DPC	Гетерогенный	РИА	100	2 часа	
ИФА Cozart	Гетерогенный	Твердофазный иммуноферментный анализ	25	2,5–3 часа	
ИФУ	Гомогенный	Иммуноанализ с ферментативным усилением	< 100	12 мин*	
CEDIA	Гомогенный	Ферментный (донор клонированного фермента)	< 100	12 мин*	Используются 3 реагента
Анализ в оперативном режиме/KIMS	Гомогенный	Агглютинация частиц	< 100	< 20 мин	Анализ в оперативном режиме, используются 2 реагента

* На анализаторе Hitachi (917 или 911).
Примечание. Перекрестная реакционная способность метаболитов ЛСД и их аналогов представлена в таблице 2.

Таблица 2. Перекрестная реакционная способность (ПРС, %) метаболитов ЛСД и их аналогов в различных иммунологических анализах в указанных концентрациях (нг/мл): методы анализа

Анализируемое соединение	РИА DPC		ИФА		ИФУ		CEDIA		KIMS	
	Конц.	ПРС	Конц.	ПРС	Конц.	ПРС	Конц.	ПРС	Конц.	ПРС
нор-ЛСД		1	1	25	20	1,7	100	0,57	1,8	28
изо-ЛСД	НП	НП	НП	НП	280	0,18	2500	0,037	11	4,5
МПАЛК	100	5,6	НП	НП	НП	НП	1	44	16	3,1
2-оксо-3-ОН-ЛСД	НП	НП	НП	НП	29,36	1,7	30	1,82	4,4	11
Лизергиновая кислота	100000	0	10000	<0,05	100000	0	100000	0,01	86000	0,0006
2-оксо-ЛСД		11	НП	НП	НП	НП	НП	НП	НП	НП

Примечание. НП – не проводился.

затем с Roche РИА, ИФУ, анализом Roche в оперативном режиме и STC. Объяснением этих несоответствий может быть присутствие метаболитов ЛСД, которые вступают в перекрестные реакции с используемыми при проведении иммунологического анализа антителами³².

Тонкослойная хроматография (ТСХ)²⁴

Методы анализа, основанные на тонкослойной хроматографии, недостаточно чувствительны для обнаружения ЛСД при концентрациях ниже 1 нг/мл. Инструментальный метод высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ) обладает пределом обнаружения, равным 0,4 нг/мл.

Подготовка образцов

- К 8 мл мочи, содержащейся в пробирке с завинчивающейся крышкой (16 × 125 мм), прибавить 100 мкл метизергида в концентрации 1 мкг/л (внутренний эталон), 100 мкл гидроксида натрия 6 N и 100 мкл насыщенного раствора карбоната аммония.
- Взбалтывать в течение 15 секунд, затем добавить 5 мл экстрагирующего раствора (петролейный эфир-дихлорметан-изоамиловый спирт (70:30:0,5)).
- Завинтить крышки пробирок и перемешивать на роторном смесителе в течение 15–20 минут со скоростью, равной приблизительно 15 оборотов в минуту.
- Центрифугировать пробирки в течение 10–15 минут со скоростью 4000 оборотов в минуту.
- Перенести верхний органический слой в соответствующим образом маркированные пробирки с завинчивающимися крышками 16 × 125 мм и в каждую пробирку добавить 5 мл раствора гидроксида аммония 0,1 M.
- Завинтить крышки пробирок, перемешивать на роторном смесителе в течение 15–20 минут со скоростью, равной приблизительно 15 оборотов в минуту, а затем центрифугировать в течение 5 минут со скоростью 4000 оборотов в минуту.

- ❑ Перенести верхние органические слои в соответствующим образом маркированные пробирки 13 × 100 мм, стараясь не захватить часть нижнего водного слоя.
- ❑ Добавить в каждую пробирку сульфат натрия на кончике шпателя (приблизительно 0,2 г) и взбалтывать в течение приблизительно 15 секунд.
- ❑ После выдерживания при комнатной температуре в течение 2–3 минут перелить раствор в соответствующим образом маркированные пробирки 12 × 75 мм и досуха выпарить в токе азота при 50°C.
- ❑ Повторно растворить все остатки, добавив 25 мкл дихлорометана-изоприлового спирта (19:1).

Анализ с помощью ВЭТСХ

- ❑ Нанести повторно растворенный остаток на преадсорбционную область пластинки для ВЭТСХ (Whatman 10 × 10 см LHP-K К-линейный высокоэффективный силикагель с толщиной слоя 200 мкм и преадсорбционная область пластинки) в виде вертикальной полоски в 1 см с помощью шприца Гамильтона на 25 мкл. На каждую пластинку следует нанести пятно чистого ЛСД и по крайней мере один экстрагированный эталон с добавками и/или контрольный образец.
- ❑ Поместить пластинки с нанесенными образцами в высланную бумагой хроматографическую камеру и оставить на 10–15 минут для выдерживания с этилацетатом – растворителем для предварительного проявления.
- ❑ После того как хроматографирование в этилацетате с целью удаления примесей достигло приблизительно 95% высоты пластинки, удалить пластинки из камеры и дать им высохнуть при комнатной температуре в защищенных от света условиях.
- ❑ Поместить пластинки в другую высланную бумагой хроматографическую камеру и выдерживать в течение 10–15 минут со смесью хлороформ–метиловый спирт (90:10) с последующим проявлением до 60% высоты пластинки.
- ❑ Просканировать пластинки с помощью флуориметрического сканнера (длина волны возбуждения ртутной лампы = 313 нм, светофильтр длин волн излучения 320–400 нм).
- ❑ Распылить реагент диметиламинобензальдегид на поверхность пластинок (2,5 г п-диметиламинобензальдегида, растворенного в смеси 225 мл этилового спирта и 25 мл концентрированной соляной кислоты) для хромогенной визуализации пятен. ЛСД и метизергид проявятся в виде пятен синего цвета на желтом фоне при R_f 0,53 и 0,51, соответственно.

Методы подтверждения

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) с флуориметрическим детектором (ВЭЖХ-ФЛ)

Для обнаружения ЛСД используется природная флуоресценция этого вещества. Описаны методики с использованием различных колонн и подвижных фаз^{25,33,34,35,36,37}.

В качестве внутренних эталонов используются лизергол, метизергид и МПАЛК. Предел обнаружения методов ВЭЖХ-ФЛ составляет приблизительно 0,5 нг/мл.

Подготовка образцов³⁶

- Разбавить образец крови, сыворотки крови или мочи (1–3 мл) до 20 мл боратым буферным раствором с pH 9,5 (5 г $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$ на 1 л). Определение величин производится с помощью внешней стандартизации.
- Внести разбавленную пробу в колонку Extrelut (или аналогичную).
- Элюировать колонку с использованием дихлорметана-изопропанола (85:15).
- Выпарить досуха.
- Повторно растворить остаток в 200 мкл метанола.
- Инжектировать 10 мкл в систему ВЭЖХ.

Рабочие условия

Анализ выполняется с использованием системы ВЭЖХ с флуориметрическим детектором при длине волны возбуждения, равной 325 нм, и светофильтром длины волны испускания при 430 нм.

Специфичность метода повышается, если проводить анализ с использованием двух подвижных фаз (А и В) на колонке с обращенной фазой (колонка 1) либо если использовать систему переключения колонок, при которой колонки последовательно соединены друг с другом.

Колонка 1: стальная колонка Merck Hibar EC 250 × 4 мм с материалом обращенной фазы C_8 LiChrosorb (7 мкм).

Колонка 2: стальная колонка Merck Hibar EC 125 × 4 мм с материалом обращенной фазы Kieselgel Merck LiChrosorb Si 60 (5 мкм).

Скорость потока: 1,5 мл/мин.

Температура печи: 60°C.

Подвижная фаза А: метанол-вода с 3 г/л KH_2PO_4 (с pH 3, установленным с помощью H_3PO_4 (50:50)).

Подвижная фаза В: метанол-вода с 1% $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ (60:40).

Режим одной колонки А: использовать колонку 1 и подвижную фазу А.

Режим одной колонки В: использовать колонку 1 и подвижную фазу В.

Режим переключения колонок: сначала колонка 1 с подвижной фазой А; через 3,2 минуты переключиться на колонку 2. Примеси изо-ЛСД, лизергиновой кислоты и эрготамина отсутствуют.

Газовая хроматография – масс-спектрометрия (ГХ-МС)

Метод ГХ-МС чаще, нежели другие методы, применяют для количественного определения и подтверждения содержания ЛСД в биологических пробах, поскольку требуется высокая степень чувствительности и специфичности ввиду очень низких концентраций этого вещества, обнаруживаемых в пробах крови и мочи лиц, употребляющих ЛСД. Все опубликованные методы ГХ-МС, предназначенные

для обнаружения ЛСД и/или его метаболитов в физиологических пробах, предусматривают один или более этапов экстракции, получение производных с целью улучшения поведения аналитов в процессе хроматографии, в также анализ с использованием метода газовой хроматографии в сочетании с одноэтапным или тандемным масс-спектрометрическим методом обнаружения. Методы ионизации включают электронную ионизацию (ЭИ), химическую ионизацию отрицательно заряженными ионами (ИОИ) и химическую ионизацию положительно заряженными ионами (ИПИ).

Подготовка образцов

При $\text{pH} > 8,0$ ЛСД может быть эффективно экстрагирован из образцов мочи или сыворотки крови при помощи относительно неполярного раствора, например, *n*-бутилхлорида^{15, 26}. Дополнительная очистка может быть обеспечена посредством обратной экстракции основания ЛСД в фосфатный буферный раствор ($\text{pH} 4,5$) и повторной экстракции в *n*-бутилхлорид после добавления гидроксида аммония в водный слой²⁸.

Для выделения ЛСД из биологических матриц используются те же твердофазные методы экстракции^{25,38,39,40}. В большинстве случаев при применении твердофазных методов экстракции используется адсорбент, являющийся как гидрофобным, так и катионогенным. После того как pH биологической пробы доведен до уровня 5 или 6, образец инжестируют в экстракционную колонну, а затем промывают колонну разбавленной кислотой и метанолом, после чего ЛСД элюируют с помощью органического растворителя, например этилацетата, содержащего от 2 до 4% гидроксида аммония.

Использование иммуноаффинных смол может обеспечить высокий уровень избирательности при экстрагировании ЛСД и некоторых его метаболитов из биологических проб^{25, 41, 42}.

Получение производных

Для получения производных с целью проведения анализа ЛСД методом ГХ-МС чаще всего используется триметилсилилирование индольного атома азота. Анализ ЛСД без получения производных может быть проведен посредством газовой хроматографии, но чувствительность при этом, как правило, резко снижается из-за адсорбционных потерь в ходе хроматографического процесса. В числе специфических реагентов для триметилсилилирования используются бис(триметилсил)трифторацетамид (БСТФА)^{26,28} и *N*-метил(триметилсил)трифторацетамид (МСТФА) в пирдине (1:1 объем/объем)¹⁵.

Обработка содержащих ЛСД экстрактов с помощью трифторацетилимидазола в среде, состоящей из 10% 1,4-диметилпиперазина в толуоле, превращает ЛСД и *N*-дезметилловые метаболиты ЛСД в соответствующие трифторацетиловые производные, которые легко ионизируются посредством химической ионизации отрицательно заряженными ионами¹⁷.

Газовая хроматография

При анализе ЛСД используются как диметилсиликоновые, так и метилфенилсиликоновые капиллярные колонки для газовой хроматографии. Однако для обеспечения оптимального уровня чувствительности принципиально важным условием является тщательная дезактивация колонок. Даже производные ЛСД имеют тенденцию к значительным потерям вследствие адсорбции в активных зонах колонки для хроматографирования.

Большинство опубликованных методов анализа ЛСД с помощью ГХ-МС основано на электронной ионизации (ЭИ-МС) триметилсилильных (ТМС) производных, а также селективном мониторинге ионов из числа молекулярных ионов при m/z , равном 395, и двух из наиболее часто встречающихся фрагментарных ионов. Отбор фрагментарных ионов для мониторинга зависит от выбора внутреннего эталона. Если внутренним эталоном является $N-CD_3$ -ЛСД, то основной фрагментарный ион при m/z , равном 253, непригоден для мониторинга, поскольку он является типичным для масс-спектров, получаемых при электронной ионизации триметилсилильных производных ЛСД и $N-CD_3$ -ЛСД. По этой причине в качестве внутреннего эталона часто используют структурный аналог – метилпропиламид лизергиновой кислоты (МПАЛК). Триметилсилильные (ТМС) производные ЛСД и метилпропиламида лизергиновой кислоты (МПАЛК) легко разделяются при хроматографировании и дают очень похожие масс-спектры. Таким образом, молекулярный ион (m/z 395) и два наиболее часто встречающихся фрагментарных иона (m/z 253 и 293) могут быть подвергнуты мониторингу с целью обнаружения как ЛСД, так и метилпропиламида лизергиновой кислоты (МПАЛК).

Рекомендуемые методы

Рекомендуемый метод ГХ-МС для обнаружения ЛСД в пробах мочи²⁶

Для измерения концентраций ЛСД в пробах мочи в диапазоне от 0,5 до 10 нг/мл успешно используется следующая процедура. Она предусматривает применение относительно несложного метода жидкостно-жидкостной экстракции, получение производных с помощью БСТФА и проведение анализа с использованием газовой хроматографии на капиллярной колонне, а также масс-спектрометрии с ионизацией электронным ударом и селективным мониторингом ионов. Чувствительность данного метода в основном ограничена мешающим влиянием фоновых пиков. Более низкого предела обнаружения можно достичь проведением более избирательной процедуры экстракции, предусматривающей этап очистки посредством обратной экстракции и/или дополнительную очистку посредством твердофазной экстракции²⁸.

Подготовка образцов

- ❑ Добавить к 5 мл образца мочи, содержащегося в силинизированной пробирке с завинчивающейся крышкой (16 × 100 мм), 25 нг метилпропиламида лизергиновой кислоты (МПАЛК) в метаноле, являющегося внутренним эталоном.
- ❑ Подщелочить образец мочи ($pH > 8$), добавив приблизительно 0,5 г $NaHCO_3$ и 0,25 мл концентрированного NH_4OH .
- ❑ После добавления 5 мл n -бутилхлорида перемешивать образец в течение 10 минут, а затем центрифугировать в течение 5 минут при скорости 2000 оборотов в минуту.
- ❑ Перенести верхний органический слой в конический флакон емкостью 5 мл с завинчивающейся крышкой и выпарить досуха в потоке воздуха при 60°C.
- ❑ Получить производные экстрагированного вещества путем добавления 20 мкл БСТФА и нагревания флакона с закрытой крышкой при 70°C в течение 10 минут.
- ❑ Инжектировать в колонку для ГХ-МС приблизительно 2 мкл полученных производных.

Рабочие условия

Температура инжектора и автоматической линии: 250°C

Режим инжестирования: без разделения

Газ-носитель: гелий, скорость потока 1 мл/мин

Колонка ГХ: капиллярная колонка из тщательно дезактивированного метилсиликона или 5%-ного фенилметилсиликона плавленного диоксида кремния, 12 × 0,20 мм (внутренний диаметр), толщина пленки 0,33 мкм

Температуры печи:

Начальная температура: 190°C

Температурная программа: 20°C/мин

Конечная температура: 300°C

Конечное время: 6 минут

Масс-спектрометр:

Электронная ионизация (ЭИ)

Энергия электронов: 70 эВ

Напряжение электронного умножителя установлено для получения оптимального соотношения сигнал-шум.

Селективный мониторинг ионов при следующих значениях m/z :

m/z 395 (молекулярный ион ЛСД-ТМС и МПАЛК-ТМС)

m/z 253 (фрагментарный ион для ЛСД-ТМС и МПАЛК-ТМС)

m/z 293 (фрагментарный ион для ЛСД-ТМС и МПАЛК-ТМС)

Время запаздывания при каждом m/z : 100 мс

Диапазон для селективного мониторинга ионов: 0,3 атомной единицы массы

Обычное время удерживания:

ЛСД-ТМС, 7,0 мин

МПАЛК-ТМС, 7,3 мин

Рекомендуемый метод ГХ-МС для обнаружения ЛСД в сыворотке крови¹⁵

Описанная ниже процедура аналогична рекомендуемому методу ГХ-МС для обнаружения ЛСД в моче; главное различие состоит в добавлении этапа очистки посредством обратной экстракции. По имеющимся сообщениям, эффективность экстракции ЛСД составляет 76%, а нижний количественный предел обнаружения составляет 0,1 нг/мл. Кроме того, эта процедура требует получения производных ЛСД с помощью МСТФА в пиридине (1:1 объем/объем).

Подготовка образцов

- ☐ Добавить к 1 мл сыворотки крови 10 мкл раствора метанола, содержащего 2 нг CD_3 -ЛСД, используемого в качестве внутреннего эталона.
- ☐ Добавить 0,1 мл насыщенного водного раствора Na_2CO_3 и 0,2 мл NH_4OH .
- ☐ Добавить 5 мл n -бутилхлорида, перемешивать в течение 5 минут и центрифугировать в течение 5 минут со скоростью 2000 оборотов в минуту.
- ☐ Переместить слой n -бутилхлорида в силанизированный стеклянный флакон и выпаривать досуха в потоке воздуха при 60°C.

- ❑ Растворить остаток в 5 мл фосфатного буферного раствора (рН 4,5) и добавить 5 мл смеси н-бутилхлорида и циклогексана (1:1 объем/объем). Перемешивать в течение 10 минут и центрифугировать в течение 5 минут со скоростью 2000 оборотов в минуту.
- ❑ Снять верхний органический слой. Добавить 0,1 мл насыщенного раствора Na_2CO_3 и 0,5 мл NH_4OH . Добавить 5 мл н-бутилхлорида. Перемешивать в течение 5 минут и центрифугировать в течение 5 минут со скоростью 2000 оборотов в минуту.
- ❑ Переместить органический слой в силанизированный стеклянный флакон и выпаривать досуха в потоке воздуха при 60°C.
- ❑ Добавить 20 мкл МСТФА в пиридине (1:1 объем/объем) и нагревать в закрытом крышкой флаконе при 80°C в течение 15 минут.
- ❑ Добавить в полученное производное экстракта 50 мкл гексана. Взболтать и инжектировать приблизительно 2 мкл в колонну для ГХ-МС.

Рабочие условия

Могут быть использованы такие же рабочие условия, как и для рекомендуемого метода обнаружения ЛСД в моче с помощью ГХ-МС.

Рекомендуемый метод ГХ-МС/МС для обнаружения ЛСД в крови, плазме крови или моче³⁹

Из-за чрезвычайно низких концентраций ЛСД, которые нередко присутствуют в крови и моче лиц, употребляющих ЛСД, иногда требуются значительно более чувствительные методы анализа, чем описанные выше. Из всех опубликованных на сегодняшний день методов наивысшую чувствительность обеспечивает сочетание газовой хроматографии и тандемной масс-спектрометрии (ГХ-МС/МС), при этом, по имеющимся сообщениям, нижний количественный предел определения составляет 20 пг/мл, а предел обнаружения – 5 пг/мл.

Рекомендуемый метод ГХ-МС/МС включает твердофазную экстракцию, получение производных с помощью БСТФА, анализ с помощью капиллярной хроматографии и химической ионизации положительно заряженными ионами, а также обнаружение искомого вещества посредством мониторинга селективных реакций при тандемной масс-спектрометрии. Подготовка образцов мочи и крови различается только первоначальными процедурами.

Подготовка образцов мочи

- ❑ Добавить в 4 мл образца мочи, содержащейся в пробирке 16 × 100 мм с завинчивающейся крышкой, 75 мкл раствора метанола, содержащего 16 пг/мкл МПАЛК с получением концентрации внутреннего эталона, равной 300 пг/мл. Взболтать.
- ❑ Добавить 2 мл 0,1 М фосфатного буферного раствора (рН 6). Взболтать.
- ❑ Проверить уровень рН и убедиться, что он равен $6,0 \pm 0,5$. В ином случае установить необходимый уровень рН.

Подготовка образцов крови и плазмы крови

- ❑ Добавить к 2 мл цельной крови или плазмы, содержащейся в пробирке 16 × 100 мм с завинчивающейся крышкой, 50 мкл раствора метанола, содержащего 16 пг/мкл МПАЛК с получением концентрации внутреннего эталона, равной 400 пг/мл. Взболтать.

- ☐ Добавить в каждую пробирку по 2 мл 0,1 М фосфатного буферного раствора (рН 6). Взболтать.
- ☐ Добавить в каждый образец по 5 мл чистой мочи. Взболтать.
- ☐ Центрифугировать в течение 15 минут со скоростью 3000 оборотов в минуту.
- ☐ Перелить надосадочную жидкость в чистую пробирку с завинчивающейся крышкой 16 × 100 мм.
- ☐ Проверить уровень рН каждого образца и убедиться, что он равен $6,0 \pm 0,5$. В ином случае установить необходимый уровень рН.

Твердофазная экстракция

- ☐ Поместить культуральную пробирку 24 × 100 мм с каждым образцом в центрифугу.
- ☐ Для каждого образца прикрепить к колонне для экстракции Varian BondElute Certify I (или аналогичной) пластмассовый переходник и поместить культуральные пробирки 24 × 100 мм.
- ☐ Подготовить экстракционные колонки с каждым образцом следующим образом:
- ☐ Добавить 2 мл метанола и центрифугировать в течение 1 минуты со скоростью 400 оборотов в минуту.
- ☐ Добавить 2 мл 0,1 М фосфатного буферного раствора (рН 6) и центрифугировать в течение 1 минуты со скоростью 400 оборотов в минуту.
- ☐ Добавить каждый разбавленный образец мочи в экстракционную колонку и центрифугировать в течение 5 минут со скоростью 400 оборотов в минуту.
- ☐ Добавить 1 мл 1,0 М уксусной кислоты в каждую экстракционную колонку и центрифугировать в течение 2 минут со скоростью 400 оборотов в минуту (ежедневно готовить свежую 1,0 М уксусную кислоту).
- ☐ Добавить 5 мл метанола в каждую экстракционную колонку и центрифугировать в течение 5 минут со скоростью 1800 оборотов в минуту.
- ☐ Перенести содержимое каждой колонки в чистую пробирку 13 × 100 мм. Поместить отходы в культуральные пробирки 24 × 100 мм.
- ☐ Элюировать аналит и внутренний эталон с помощью 2 мл этилацетата, содержащего 4%-ный гидроксид аммония (96:4, EtOAc:NH₄OH). Центрифугировать в течение 5 минут со скоростью 200 оборотов в минуту.
- ☐ Выпарить до объема, равного приблизительно 400 мкл, в Savant Speed Vac.
- ☐ Перенести экстракт во флакон ALS 0,7 мл и выпарить досуха в Speed Vac.
- ☐ Добавить 10 мкл БСТФА, закрыть крышкой и выдерживать в течение 30 минут при 85°C.

Рабочие условия

Температура инжектора и автоматической линии: 298°C

Режим инжектирования: без разделения

Газ-носитель: водород

Колонка ГХ: капиллярная колонка из тщательно дезактивированного 5% фенилметилсилоном плавленного диоксида кремния, 15 × 0,25 мм (внутренний диаметр), толщина пленки 0,25 мкм.

Температуры печи:

Начальная температура: 175°C; выдерживать в течение 0,8 минут

Температурная программа: 20°C/мин

Конечная температура: 300°C; выдерживать в течение 0,6 минут

Время, всего: 7,6 минут

Тандемный масс-спектрометр:

Ионизация: химическая ионизация положительно заряженными ионами

Газ-реагент: аммиак, давление источника приблизительно 3000 мторр

Температура источника ионов: 200°C

Газ для удара: аргон, давление приблизительно 2,0 мторр

Энергия удара: 35 эВ

Ионы, контролируемые посредством мониторинга селективных реакций (MCP):

m/z 396 (MH⁺) 6353,

m/z 396 6295,

m/z 396 6280.

IV. Рекомендуемые методы обнаружения и анализа псилоцибина

А. Фармакология

Современные формы употребления

Наиболее распространенным способом употребления псилоцибина является прием внутрь свежих или высушенных грибов *Psilocybe*, встречающихся в природе или выращиваемых *in vitro*⁴³. Содержание псилоцибина в грибах *Psilocybe* варьируется от 0,2 до 2% (максимальное содержание может составлять до 3%, однако это встречается редко). Толерантность развивается очень быстро, что ограничивает возможность хронического употребления.

Фармакодинамика

Причиной галлюциногенного эффекта и соматических побочных воздействий псилоцибина и содержащих псилоцибин грибов является псилоцин – основной метаболит псилоцибина. Псилоцин взаимодействует с серотонинергическими (5-НТ_{1А}, 5-НТ_{2С} и т. д.) и норадренергическими рецепторами. Для возникновения таких психотропных эффектов, как дереализация и деперсонализация, в том числе виртуальные галлюцинации, нарушения мышления, эмоциональных реакций и настроения, достаточно принятой перорально дозы псилоцибина, составляющей 12–25 мг (что эквивалентно 0,6–12,5 г высушенных грибов)⁴⁴.

В. Распределение в организме

Метаболизм

Щелочная фосфатаза и неспецифические сложные эфиры слизистой оболочки кишечника быстро и повсеместно расщепляют фосфорную кислотную группу псилоцибина до того, как она попадает в большой круг кровообращения. Это свидетельствует о том, что псилоцибин действует в качестве предшественника наркотического средства, а реальным фармакологически активным агентом является его метаболит 4-гидроксипсилоцин. Псилоцин подвергается процессу деметилирования с последующим дезаминированием и окислением, превращаясь в 4-гидроксииндолуксусную кислоту, вероятно под воздействием ферментов печени, таких как моноаминоксидаза и альдегиддегидрогеназа. К числу прочих обнаруженных мета-

болитов относятся 4-гидроксииндолуксусный альдегид и 4-гидроситриптамиин. Вероятно, псилоцин выделяется из организма в виде глюкуронида^{44, 45}.

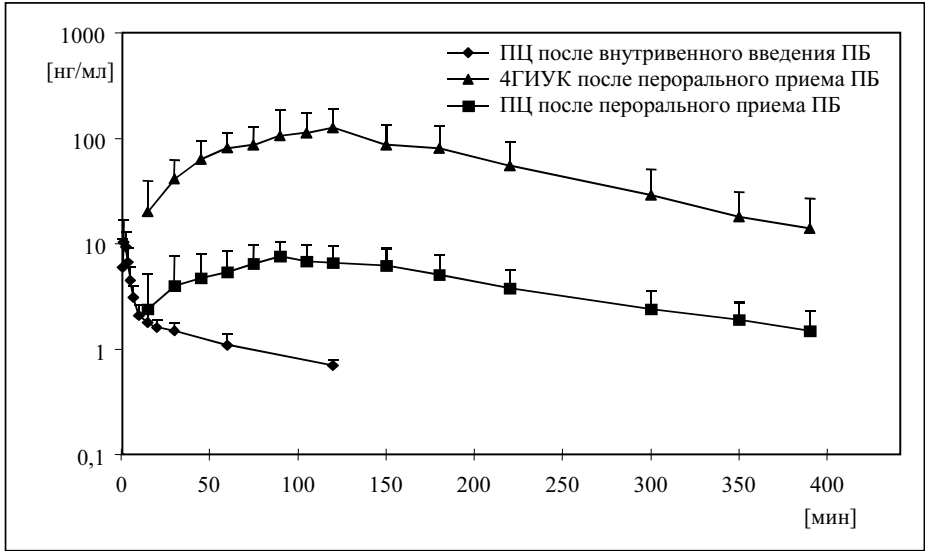
Фармакокинетика, выделение с мочой

Приведенные в таблице 3 данные получены в результате проведения контролируемого клинического исследования с участием 5 добровольцев, получавших дозы для перорального приема, равные 16,8 мг на 75 кг массы тела^{44, 45}.

Таблица 3. Фармакокинетика псилоцина (ПЦ) и 4-гидроксииндолуксусной кислоты (4ГИУК) при приеме пероральной дозы псилоцина (среднее значение ± стандартное отклонение (CO), n = 5)

ПЦ				4ГИУК		
C _{max} [нг/мл]	t _{max} [min]	t _{1/2β} [min]	F _{abs} [%]	C _{max} [нг/мл]	t _{max} [min]	t _{1/2β} [min]
8,2 ± 2,8	105 ± 37	163 ± 64	53 ± 20	150 ± 61	113 ± 41	145 ± 97

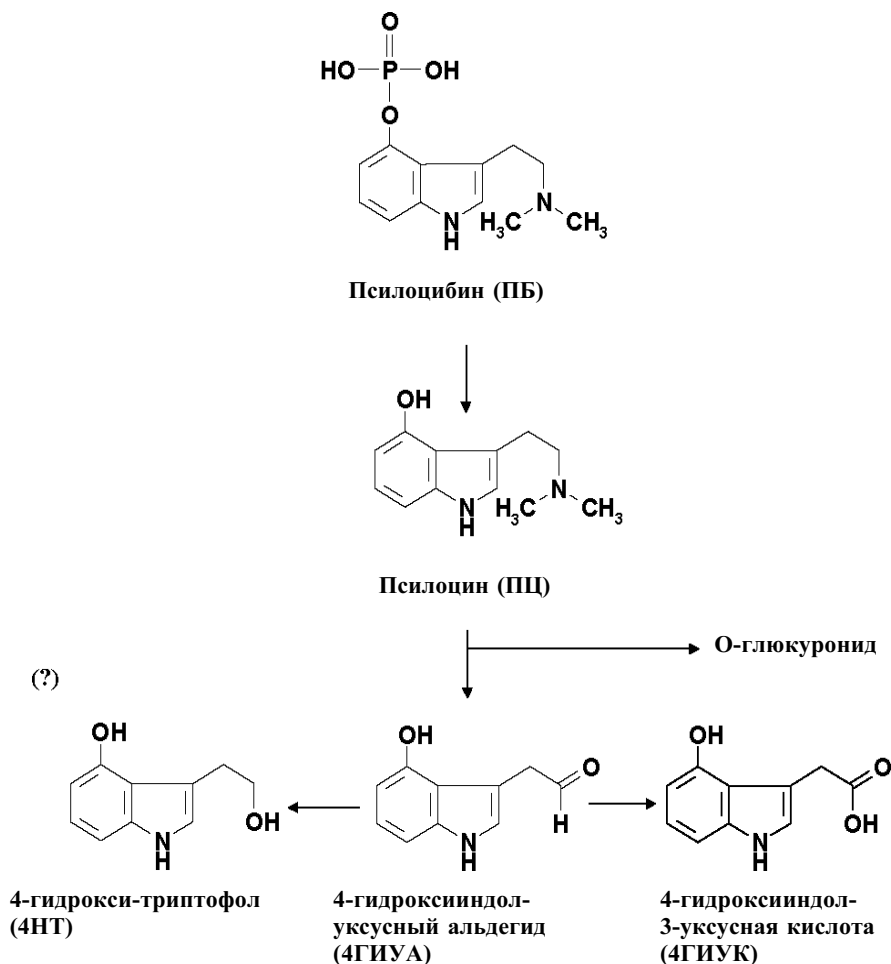
Рисунок 3. Профили поврежденной концентрации в плазме крови (среднее значение + CO) псилоцина и 4-гидроксииндолуксусной кислоты после перорального приема псилоцибина (ПБ) из расчета 16,8 мг на 75 кг массы тела и концентрации в плазме (среднее значение + CO) после внутривенного введения 1 мг псилоцибина



Время обнаружения в пробах мочи

После приема пероральной дозы, равной 16,8 мг на 75 кг массы тела³, концентрации в пробах мочи имеют значения, представленные в таблице 4. Концентрация в пробах мочи первого отбора (от 0 до 2 часов после приема дозы вещества) составляла от 0

Рисунок 4. Метаболизм псилоцибина^{44, 45}



Примечание. Данные о фармакокинетике в отношении приема внутрь содержащих псилоцибин грибов отсутствуют, однако есть предположение, что после адсорбции фармакокинетика аналогична той, которая имеет место в случае перорального приема псилоцибина.

Таблица 4. Концентрации в пробах мочи после перорального приема дозы псилоцибина (среднее значение $\pm$ CO, n = 5)⁴⁵

Участник	Концентрация неконъюгированного псилоцина (нг/мл) в моче через различные промежутки времени после перорального приема дозы (часы)				
	0–2	2–4	4–6	6–12	12–24
1	964	746	438	173	236
2	17	251	255	469	266
3	919	741	475	316	187
4	21	254	179	311	100
5	0	871	1 163	286	162
6	0	416	432	939	199
7	32	224	402	358	113
8	0	86	370	624	117

до 964 нг/мл. В течение второго временного интервала (2–4 часа после приема дозы вещества) было обнаружено наличие псилоцина (ПЦ) в концентрации от 86 до 871 нг/мл. В течение третьего временного интервала (4–6 часов) минимальная концентрация составляла 179 нг/мл, а максимальная – 1163 нг/мл. В течение следующего интервала времени (6–12 часов) минимальная концентрация составляла от 173 нг/мл до 939 нг/мл. В течение последнего временного интервала (12–24 часа) концентрация была в пределах от 100 до 266 нг/мл. После ферментативного гидролиза концентрация псилоцина (ПЦ) в целом могла увеличиться двукратно.

С. Токсикология

Неконтролируемые галлюцинации и тяжелые соматические побочные эффекты (тошнота, симптомы сердечно-сосудистых заболеваний и др.) возникают в результате перорального приема доз псилоцибина, равных 40–50 мг. Уровень вызываемой псилоцибином острой токсичности очень низок. По данным исследований на животных, для развития токсичности требуются дозировки, исчисляемые граммами.

Информация, касающаяся концентраций псилоцибина в пробах крови и мочи после приема больших доз грибов, содержащих это вещество, отсутствует.

Интерпретация результатов

Обнаружение псилоцина в пробах крови и мочи указывает на факт употребления псилоцибина или содержащих псилоцибин грибов, однако нельзя исключать возможность того, что в организм был введен псилоцин.

D. Метод анализа

(Целевым аналитом является псилоцин)

Подготовка образцов

При выборе системы растворителей для проведения процедур экстракции следует принимать во внимание проблемы техники безопасности и гигиены труда сотрудников лаборатории и по возможности избегать факторов риска, связанных с токсичностью и воспламеняемостью веществ. Эти вопросы рассматриваются в Руководстве Организации Объединенных Наций по рекомендуемым принципам обеспечения качества и надлежащей лабораторной практики (ST/NAR/25)⁵.

Псилоцин очень быстро распадается в результате окисления фенольной гидроксильной группы в положении С-4. В связи с этим рекомендуется добавлять в образцы мочи и плазмы крови аскорбиновую кислоту в качестве антиоксиданта.

Моча

Заморозить (например, с помощью твердой углекислоты) и лиофилизировать 6 мл мочи, 350 мкл раствора аскорбиновой кислоты (0,5 М) и 1 мл абсолютного этанола и остаток повторно растворить в 1 мл метанола. После обработки ультразвуком в течение 5 минут отфильтровать раствор через мембранный фильтр (5 мкм) и инжектировать 10 мкл в систему ВЭЖХ.

Для повышения концентрации псилоцина может быть проведен ферментативный гидролиз.

Плазма крови

Отбор крови производится без добавления антикоагулянта (который оказывает мешающее воздействие), и плазма отделяется посредством центрифугирования (15 минут со скоростью 3000 оборотов в минуту) немедленно после взятия образца. 3,0 мл прозрачной надосадочной жидкости перемещают в полипропиленовые пробирки (чтобы исключить вероятность адсорбции вещества на стеклянной посуде). Добавляют 150 мкл концентрированного раствора аскорбиновой кислоты (900 мг/10 мл воды) для обеспечения конечной концентрации аскорбиновой кислоты, равной 25 мМ, что является достаточно высокой концентрацией для стабилизации аналита. После взбалтывания в течение 30 секунд образец замораживают (с помощью твердой углекислоты) и лиофилизируют. После разбавления остатка с помощью 700 мкл воды аналиты отделяют от белков плазмы крови посредством микродиализа *in vitro* с использованием двух зондов с мембраной из поликарбоната для каждого образца (диаметр мембраны 0,5 мм, длина 16 мм, критическая молекулярная масса равна 20 000 Да). В качестве перфузионной жидкости используется бидистиллированная вода, скорость потока составляет 2 мкл в минуту. Полное время перфузии составляет 2,5 часа. Весь объем перфузата (600 мкл) помещают в светонепроницаемые флаконы для ВЭЖХ и концентрируют посредством сушки вымораживанием. Перед проведением анализа ВЭЖХ остаток повторно растворяют в 60 мкл подвижной фазы.

Следует отметить, что при использовании микродиализа выход аналитов, включая псилоцин, как правило, составляет приблизительно 15%. Вместо микродиализа можно использовать альтернативную процедуру экстракции, не предусматривающую нескольких стадий, которые могут привести к разложению искомым аналитов.

Методы отборочного анализа

Коммерчески доступные методы иммунологического анализа псилоцина отсутствуют. Кроме того, ТСХ является недостаточно чувствительным методом и не обладает достаточной разделительной способностью, чтобы ее можно было применять для анализа псилоцина в биологических пробах.

Методы подтверждения

Газовая хроматография и ГХ-МС

Для обнаружения псилоцина в плазме крови или моче необходимо получить производные с помощью БСТФА, содержащего 1% триметилхлорсилана. Следует отметить, что даже после получения производных вероятны потери содержания псилоцина в триметилсилильных производных из-за адсорбции и/или разложения. В качестве альтернативного метода может быть использовано ацетилирование⁴⁶. Использование азотного детектора может увеличить одновременно и чувствительность, и специфичность.

Высокоэффективная жидкостная хроматография

Обнаружение псилоцина в моче

Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии – электрохимического детектирования (ВЭЖХ-ЭХД) предусматривает применение системы переключения с использованием двух колонок:

Колонка I: Spherisorb RP-8, 3 микрона, 50 × 4,6 мм (внутренний диаметр).
Колонка II: Spherisorb RP-8, 3 микрона, 150 × 4,6 мм (внутренний диаметр).

Переключение колонок начинают через 2,2 минуты. Подвижная фаза содержит 0,3 М водного раствора ацетата аммония и 0,3 М метанольного раствора ацетата аммония в соотношении 46 : 54 объем/объем с рН, равным 8,3, установленным с помощью 10%-ного гидроксида аммония. Скорость потока равна 0,5 мл в минуту. Электрохимическое детектирование (ЭХД) в режиме окисления осуществляется при +150 мВ, в диапазоне 5 мкА, кювета подвергается термостатированию при 34°C.

Обнаружение псилоцина в плазме крови

Метод ВЭЖХ-ЭХД предусматривает применение системы переключения с использованием двух колонок:

Колонка I: Spherisorb RP-8, 3 микрона, 50 × 4,6 мм (внутренний диаметр).
Колонка II: Spherisorb RP-8, 3 микрона, 150 × 4,6 мм (внутренний диаметр).

Переключение колонок начинают через 2,2 минуты. Подвижная фаза на 47% (объем/объем) состоит из воды с содержанием 0,3 М водного ацетата аммония с уровнем рН, равным 8,3, установленным с помощью 25%-ного гидроксида аммония и 53%-ного метанола. Скорость потока равна 0,45 мл в минуту. Электрохимическое детектирование (ЭХД) в режиме окисления осуществляется при +150 мВ, в диапазоне 1 мкА, кювета подвергается термостатированию при 34°C.

При количественном определении используется метод внешнего эталона с калибровкой по пиковой области.

V. Рекомендуемые методы обнаружения и анализа фенциклидина

A. Фармакология

Фенциклидин был впервые синтезирован в 1956 году в качестве анестезирующего средства. Из-за наличия побочных эффектов, влияющих на поведение, в 1965 году все клинические испытания были прекращены, и фенциклидин более не поступал на рынок в качестве препарата, предназначенного для употребления человеком. В дальнейшем он вновь появился в продаже под торговой маркой Sernylan в качестве анестезирующего средства для животных.

Фенциклидин является диссоциированным анестезирующим средством, обладающим симпатомиметическими и галлюциногенными свойствами. Это вещество, как полагают, стимулирует альфа-адренергические рецепторы, усиливая эффекты норэпинефрина (норадреналина), эпинефрина (адреналина) и серотонина^{12, 13, 47, 48, 49}.

Современные формы употребления фенциклидина

Самовведение фенциклидина осуществляется посредством вдыхания (курение), интраназального употребления ("нюханье"), внутривенного введения ("mainlining"), а также пероральным, ректальным или вагинальным способом; кроме того, фенциклидин вводят в виде глазных капель или путем непосредственного впитывания через кожу.

Обычная "уличная" доза составляет 3–5 мг ФЦП, как правило, в виде хлоридоводородной соли.

Действие фенциклидина

Фенциклидин может вызвать психоз, который клинически неотличим от шизофрении. По сообщениям, в число негативных побочных эффектов входят неадекватное и агрессивное поведение, галлюцинации, эйфория, ажитация, кататоническая ригидность, дезориентация, потеря координации, нистагм, гиперсаливация, рвота, конвульсии, онемение, гипертензия, тахикардия, острый некроз скелетных мышц, приводящий к почечной недостаточности, ацидозу, а иногда – к злокачественной гиперпирексии. Продолжительность состояния эйфории составляет 2–4 часа. Психоз может длиться в течение нескольких недель.

Развитие толерантности и зависимости

По отдельным наблюдениям, при приеме фенциклидина возникает физиологическая зависимость и толерантность (четырёхкратная). О перекрестной толерантности при одновременном приеме других наркотических средств или синдроме отмены

не сообщалось. В противоположность этому, у лиц, употребляющих данный наркотик, относительно часто развивалась психологическая зависимость.

Наркоманический потенциал

Несмотря на отсутствие данных о развитии физиологической зависимости, необходимо принимать во внимание очевидный наркоманический потенциал фенциклидина, обусловленный наличием у данного вещества свойств, вызывающих психологическую зависимость.

В. Распределение в организме

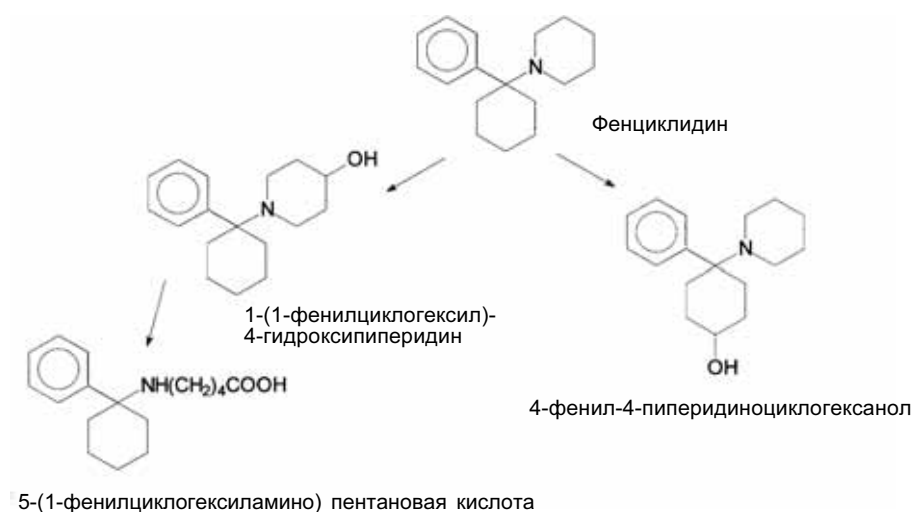
Пути метаболизма

ФЦП подвергается в печени активному окислению с введением гидроксильной группы, в результате чего образуются по крайней мере 2 инертных метаболита: 4-фенил-4-пиперидиноциклогексанол (ППС) и 1-(фенилциклогексил)-4-гидроксипиперидин (ФЦГП). Оба вещества выделяются из организма с сопряженными связями в виде глюкуронидов. Основным продуктом, выделяемым с мочой у беременных женщин, является 5-(N-(1'-фенилциклогексиламино) пентановая кислота (ФПА)^{12, 13, 47, 48, 50}.

Период полувыведения с мочой и полувыведения из плазмы

Схема выделения ФЦП из организма показывает, что 4–19% вещества выводится из организма с мочой в неизменном состоянии, а 25–30% – в виде метаболитов

Рисунок 5. Метаболизм ФЦП



с сопряженными связями. Концентрации в моче неизмененного ФЦП варьируются от 0,04 до 3,4 мг/л после принятия рекреационных доз вещества.

Уровень выделения с мочой повышается (в 100 раз) при подкислении мочи до pH 5,5 или ниже.

Почечный клиренс: 33 ± 8 мл/мин.

Общий клиренс: 380 ± 80 мл/мин.

Объем распределения: 5,3–7,5 л/кг.

Период полувыведения из плазмы зависит от дозы и варьируется в пределах от 1 часа при введении небольших доз вещества до 18 часов (диапазон от 7 до > 50 часов) в случае передозировки.

С. Токсикология

Концентрации в крови

После введения рекреационных доз вещества (1–6 мг ФЦП.HCl) соответствующие концентрации, обнаруженные в крови лиц, задержанных за вождение автомобиля под воздействием наркотика или за пребывание в общественном месте в состоянии опьянения, составляли 7–250 нг/мл (средний показатель составил 75 нг/мл)^{12, 48, 51}.

После введения пороговой дозы, вызывающей токсичность (10–20 мг), были количественно определены соответствующие концентрации в крови, равные 1 мкг/мл. После введения летальной дозы были обнаружены концентрации в крови, составляющие от 0,3 до 25 мг/л.

Содержание фракций, связанных с белками плазмы, варьируется от 65 до 80%.

Временные режимы обнаружения в моче

Фенциклидин может быть обнаружен в моче в течение 7–8 дней с момента введения наркотика. У лиц, хронически злоупотребляющих этим наркотиком, ФЦП может быть обнаружен в период времени до 2–4 недель⁵².

Интерпретация результатов

Интерпретация результатов должна осуществляться в соответствии с ожидаемыми значениями концентрации наркотика в крови, приведенными в разделе “Токсикология” настоящего Руководства.

Уровень вреда, причиняемого данным наркотиком здоровью, нельзя соотносить с его концентрацией в плазме крови, поскольку контролируемые фармакокинетические исследования на человеке с применением психоактивных доз вещества не проводились. Концентрации, обнаруженные у 124 человек (водителей автомобилей, подвергшихся проверке в местах остановки транспорта), варьировались в диапазоне от 12 до 118 нг/мл. Тем не менее при таких низких концентрациях, как, например, 12 нг/мл, было возможно выявить отклонения в поведении при помощи экспертного метода распознавания наркотиков DRE (Drug Recognition Expert Evaluation)⁵³.

Д. Методы анализа

Методы отборочного анализа

В продаже имеется ряд комплектов для проведения иммунологических тестов. В основе некоторых инструментальных методов лежит флуоресцентный поляризационный иммуноанализ (ФПИА), иммуноферментный анализ (ИФА), радиоиммунологический анализ (РИА) и др. Существуют комплекты для проведения неинструментального анализа на месте отбора проб. Некоторые методы представлены в таблице 5 вместе со значениями предусмотренных ими уровней критической концентрации.

Таблица 5. Иммунологический анализ

<i>Метод анализа</i>	<i>Принцип иммунологического анализа</i>	<i>Критическая концентрация, нг/мл</i>	<i>Литература</i>
ИФУ II d.a.u.	Ферментный	25	54, 55, 56
Adx/TDx	Флуоресцентный поляризационный		57, 58
РИА (Coat-a-Count)	Радиоиммунологический	10	59
РИА (Abuscreen)	Радиоиммунологический		60
CEDIA	Ферментный		61
Сортировка	Конкурентное связывание		62

Содержащиеся в пробах мочи примеси могут повлиять на результаты ФПИА и РИА⁵⁷. Известно, что дифенилрамин обладает перекрестной реакционной способностью при проведении ФПИА с целью обнаружения ФЦП, что не наблюдалось при проведении анализа на присутствие ФЦП II⁶³.

Если методы иммунологического анализа являются недоступными, проводить отборочный анализ можно с помощью хроматографических методов, описанных в разделе “Методы подтверждения”. В литературе можно найти обзор новых хроматографических методов анализа фенциклидина⁶⁴.

Методы подтверждения^{65, 66}

Газовая хроматография, метод А

основан на методике Drummer et al., 1994⁶⁵

Данная процедура была проверена только на пробах крови, хотя потенциально она может быть также применена для анализа проб мочи и жидкой части стекловидного тела.

Подготовка образцов

- ☐ 1 мл образца крови (либо контрольного образца или эталона) поместить в силанизированные стеклянные экстракционные пробирки.
- ☐ Добавить в каждую пробирку по 1 мкг циклизина (100 мкл метанольного раствора в концентрации 10 мкг/мл) в качестве внутреннего эталона и перемешать.

- Добавить в каждую пробирку 1 мл 1 М трис-аминометана в качестве буферного раствора и перемешать.
- Добавить 8 мл бутилхлорида и экстрагировать в течение 30 минут на горизонтальном шюттль-аппарате.
- Центрифугировать в течение 5 минут со скоростью 2000 оборотов в минуту.
- Переместить растворитель в чистую стеклянную экстракционную пробирку.
- Выпаривать досуха либо в вакуумной центробежной центрифуге при комнатной температуре, либо в нагревательном блоке (при 30°C в токе азота).
- Повторно разбавить, добавив к сухому остатку 100 мкл метанола.
- Переместить во флаконы для инжектирования в систему ГХ (с завинчивающимися крышками и тефлоновыми прокладками) и инжектировать 1–2 мкл в ГХ.

Рабочие условия

Инжектор: капиллярный с разделением/без разделения

Температура: 250°C

Инжектируемый объем: 1–2 мкл

Режим: без разделения

Колонка: капиллярная колонка из 5%-ного фенилметилсиликона, 12 × 0,53 мм (внутренний диаметр), толщина пленки 10 мкм

Газ-носитель: гелий

Скорость потока: 2–3 мл/мин

Печь:

Начальная температура: 100°C

Начальное время: 2 мин

Температурная программа: 7,5°C/мин

Конечная температура: 280°C

Полное время: 10 мин

Детектор:

Азотно-фосфорный детектор (АФД):

Скорость потока водорода: 3,7 мл/мин

Скорость потока воздуха: 90 мл/мин

Скорость потока кондиционированного газа: 30 мл/мин

Поток твердого носителя (шарики): 5 мкА

МС:

Характеристические ионы (относительное содержание): 200 (100%), 91 (45%), 243 (22%), 242 (25%), 186 (20%).

Высокоэффективная жидкостная хроматография, метод В

Основан на методике Drummer et al., 1993⁶⁶

Эта процедура представляет собой метод ВЭЖХ и применяется для анализа проб крови, плазмы крови, мочи и жидкой части стекловидного тела с целью обнаружения ФЦП и многих других наркотиков.

Подготовка образцов

- ☐ 1,0 мл образца крови (или плазмы крови и др.), эталона или контрольного образца поместить в силанизированные стеклянные или полипропиленовые экстракционные пробирки.
- ☐ Добавить в каждую пробирку 1 мкг пентазоцина (100 мкл метанольного раствора в концентрации 10 мкг/мл) в качестве внутреннего эталона и перемешать.
- ☐ Добавить 0,5 мл 2%-ного раствора тетрабората натрия, быстро взболтать.
- ☐ Экстрагировать с помощью 8 мл гексана/н-бутанола (95 : 5) в течение приблизительно 15–30 минут на барабане или шюттль-аппарате.
- ☐ Центрифугировать приблизительно в течение 5 минут со скоростью 3000 оборотов в минуту.
- ☐ Поместить пробирки в спиртовую баню и после замерзания водного слоя (приблизительно через 2 минуты) слить растворитель в чистую экстракционную пробирку или количественно аспирировать нижний водный слой.
- ☐ Экстрагировать с помощью 200 мкл 0,2%-ной фосфорной кислоты в течение по крайней мере 15–30 мин на барабане или шюттль-аппарате.
- ☐ Центрифугировать приблизительно в течение 5 минут со скоростью 3000 оборотов в минуту.
- ☐ Поместить пробирки в спиртовую баню и после замерзания водного слоя (приблизительно через 2 минуты) количественно слить грязный растворитель или аспирировать растворитель. При наличии остатка растворителя выпарить его в вытяжном шкафу.
- ☐ Дать кислоте оттаять (при необходимости) и перенести ее во флакон.
- ☐ Инжектировать 30 мкл в прибор для ВЭЖХ.

Рабочие условия

Колонка: Novapak Phenyl, 3,9 × 150 мм, размер частиц 5 мкм

Подвижная фаза: ацетонитрил/10 mM фосфат, pH 3,0 (55:45)

Скорость потока: 1,5 мл/мин

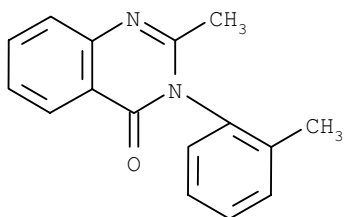
Детектирование: УФ при 214 нм

VI. Рекомендуемые методы обнаружения и анализа метаквалона

А. Введение

Метаквалон [CAS 72-44-6, молекулярная масса 250,3], являющийся производным хиназолина, был впервые синтезирован в 1951 году и внедрен в 1965 году в качестве заменителя барбитурата, обладающего аналогичным действием. Вскоре он завоевал популярность как наркотик, являющийся предметом злоупотребления, и в 1984 году был снят с продажи в США из-за широкого употребления не по назначению. В других странах препарат по-прежнему используют в клинической практике в качестве седативного и снотворного средства, однако имеет место его незаконное использование, например в смеси с героином или бензодиазепинами⁸. Он также доступен в виде хлорводородной соли [CAS 340-56-7]. Распространены следующие торговые названия препарата: Dormigoa, Mandrax (с дифенилдрамином), Mequin, Normi-Nox, Noxybel, Paxidorm, Quaalude, Revonal, Sopor, Toquilone, Toraflon.

Рисунок 6. Структура метаквалона



Молекулярная масса = 250,3

Молекулярная масса гидрохлорида = 286,8

$pK_a = 2,4$

Существует два источника незаконно распространяемого метаквалона: утечка из законной торговли фармацевтическими препаратами и незаконное изготовление в подпольных лабораториях. Метаквалон был впервые изготовлен в 1951 году, а применен в фармацевтической практике в 1965 году в качестве “снотворного средства”, не вызывающего привыкания и не содержащего барбитуратов. Меклоквалон был синтезирован в 1960 году и в ряде европейских стран доступен в качестве законно распространяемого снотворного средства.

Хотя вначале эти вещества рассматривались как полезные законные фармацевтические препараты, злоупотребление ими приняло такие масштабы, что некоторые государства-участники запретили использование этих препаратов на своей территории в соответствии со Статьей 13 Конвенции о психотропных веществах 1971 года.

В Северной Америке законное изготовление метаквалона было прекращено в 1983 году. В Канаде в продаже имеется только комбинированный продукт, содержащий метаквалон и дифенгидрамин, и этот продукт является контролируемым лекарственным препаратом. С другой стороны, имеются данные о том, что эти вещества по-прежнему изготавливаются в подпольных лабораториях.

Незаконный синтез метаквалона

Синтез данного наркотика не представляет особой трудности и легко осуществим в условиях подпольных лабораторий. Известно о двух основных методах синтеза. Первый метод предусматривает двустадийную химическую реакцию с использованием препарата N-ацетил-о-аминобензойной кислоты (полученного из о-аминобензойной кислоты и уксусного ангидрида) с последующей конденсацией либо с о-толуидином с целью получения метаквалона, либо с о-хлоранилином с целью получения меклоквалона. Для удаления получаемой в ходе химической реакции воды используется трихлорид фосфора. Второй метод предусматривает одностадийную химическую реакцию, осуществляемую путем кипячения с обратным холодильником о-аминобензойной кислоты, о-толуидина и уксусной кислоты. Для удаления воды обычно добавляется полифосфорная кислота. Процесс очищения, если таковой предусмотрен, производится путем растворения твердого остатка в метаноле и осаждения хлористоводородной соли из раствора в метаноле-диэтиловом эфире.

В. Физические и химические характеристики незаконных продуктов

Метаквалон, изготовленный в подпольных лабораториях, появляется на незаконном рынке в виде коричневого, серого или черного клейкого порошка с уровнем очистки, равным 30–70%. Цвет зависит от количества содержащихся примесей. Метаквалон также доступен в виде таблеток или капсул незаконного производства. В последнее время его используют в качестве разбавителя героина, и в этом случае его концентрация равна приблизительно 30%. Несколько лет назад рынок наводнили поддельные таблетки метаквалона, которые в действительности содержали диазепам. Как свободные основания, так и хлористоводородные соли метаквалона законного и незаконного производства встречаются в виде капсул, таблеток или порошка.

С. Фармакология

Современные формы употребления метаквалона/меклоквалона

Метаквалон обычно принимают перорально. Его назначают пациентам, которые не поддаются лечению другими снотворными препаратами. Обычные суточные дозы составляют 75–300 мг в виде свободного основания, однако в случае самовведения при суточных дозах, достигающих 3 г, данный препарат является предметом неправильного употребления. Проанализированы данные о вождении автомобиля под воздействием метаквалона^{67, 68}.

Действие метаквалона

При введении высоких доз метаквалон действует на центральную нервную систему как депрессант, вызывая нарушение речи, атаксию, сонливость и нистагм. Он является таким же сильнодействующим средством, как пентобарбитал и фенобарбитал, и эффективен в качестве снотворного. Побочные эффекты включают головную боль, головокружение, сонливость, анорексию, тошноту, рвоту, сухость во рту, диарею, тахикардию и кожную сыпь. Ни один из гидроксильированных метаболитов не обладает выраженной биологической активностью.

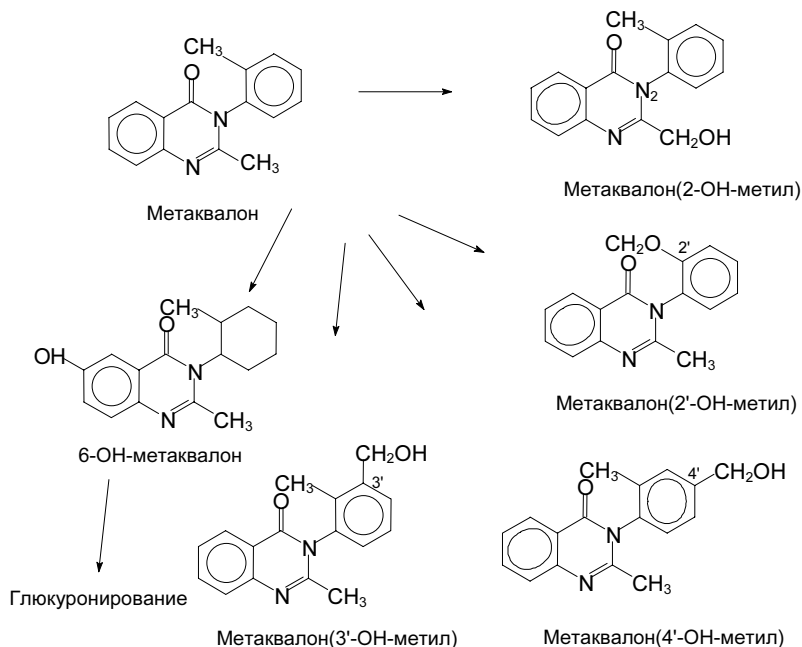
Развитие толерантности и зависимости

Первоначально метаквалон рекламировался как средство, не вызывающее привыкания, однако уже в 1966 году в Великобритании появились сообщения о случаях как физической, так и психологической зависимости. При хроническом употреблении метаквалона, а также при приеме суточных доз, равных 7,5 г, развиваются толерантность, физическая и психологическая зависимость⁶⁸. По данным клинических исследований, прием 2 граммов метаквалона в течение одного месяца приводит к развитию приступов абстиненции⁶⁸. Наблюдались случаи смерти при употреблении метаквалона в сочетании с алкоголем.

Наркоманический потенциал

Наркоманический потенциал метаквалона приблизительно равен потенциалу краткодействующих барбитуратов⁶⁹. При употреблении метаквалона развивается острая или хроническая токсичность. В результате введения повышенных доз возникают судороги, приводящие к коме.

Рисунок 7. Метаболизм метаквалона



D. Распределение в организме

Пути метаболизма

После перорального введения метаквалон быстро адсорбируется и активно метаболизируется в печени. Менее 1% исходного наркотического средства выделяется из организма в неизмененном виде. Метаквалон окисляется с образованием N-оксида и ряда биологически инертных гидроксированных производных, которые появляются в моче в виде глюкуронидов с сопряженными связями⁶⁹.

Выделение с мочой и период полувыведения

При проведении контролируемого клинического исследования с участием шести добровольцев, получавших дозы метаквалона для перорального приема, равные 200 мг, наблюдались значительные индивидуальные различия в профилях выведения наркотика из организма, что иллюстрирует представленная ниже таблица. Спустя 72 часа после приема 19,8–29,0% дозы было выведено с мочой. Основными метаболитами метаквалона были 2'-ОН-метаквалон и 3'-ОН-метаквалон, выведенные из организма в виде глюкуронидов. Только 1–5% дозы выводится из организма в несвязанном состоянии.

Таблица 6. Профили выделения с мочой (8–72 часа) после перорального введения 200 мг метаквалона (ГХ-МС, нг/мл, до и после гидролиза, n = 6)⁶⁹

Участник	Метаквалон	2'-ОН-М	2'-ОН-М	3'-ОН-М	4'-ОН-М	6'-ОН-М
A	42–161	0	65–158	12–102	3–53	5–69
	21–278	80–3510	830–8850	432–5660	74–2900	99–2320
B	57–203	0	22–104	29–182	13–351	43–316
	46–519	107–7980	898–25 500	263–49 100	48–20 000	47–11 350
C	0–303	0–29	0–233	0–375	0–193	0–813
	58–360	0–3660	0–12 700	0–8030	0–3630	0–2520
D	77–206	0	4–83	0–168	0–76	8–489
	37–245	58–3990	31–6550	111–19 600	286–6780	10–5960
E	80–211	0	93–190	19–148	0–84	0–111
	54–226	127–2680	1600–9810	495–11 600	600–4200	77–1680
F	66–151	0	34–104	30–204	10–87	22–1050
	36–160	131–1310	1910–6780	2200–10 500	671–2840	574–3400

E. Токсикология

Концентрации в крови

Данные о концентрациях в крови (и плазме крови) имеются в публикациях Stead and Moffat⁷⁰, Baselt, and Cravey⁴⁸, Clarke⁵¹, а также в TIAFT Bulletins⁷¹.

Концентрации в крови меняются до 2,2 мг/л после введения дозы метаквалона, равной 250 мг (диапазон 1–4 мг/л), в пределах 5 часов. При более высоких дозах наблюдаются пропорционально более высокие концентрации. Концентрации в крови после введения терапевтической дозы меняются от 0,4 до 5 мкг/мл. Конеч-

ный период полувыведения колеблется от 20 до 60 часов, при этом среднее значение составляет приблизительно 35–40 часов. Объем распределения составляет 6 л/кг. Связывание белка составляет 75–95%.

Токсический эффект возникает при концентрациях в крови, превышающих 2 мг/л крови. Имеются сообщения о случаях летального исхода, наступающего при концентрациях, превышающих 5 мг/мл, при этом среднее значение составляет приблизительно 20 мг/л крови. Соответствующие уровни для печени приблизительно в 5–10 раз выше. Опубликован обзор 246 случаев летального исхода⁷². Имеется обзор данных о случаях острой интоксикации⁷³.

Ф. Методы анализа

Подготовка образцов

Жидкостно-жидкостная экстракция

При выборе системы растворителей для проведения процедур экстракции следует принимать во внимание вопросы техники безопасности и гигиены труда сотрудников лаборатории и по возможности избегать факторов риска, связанных с токсичностью и воспламеняемостью веществ. Эти вопросы рассмотрены в подготовленном Организацией Объединенных Наций Руководстве по рекомендуемым принципам обеспечения качества и надлежащей лабораторной практики (ST/NAR/25)⁵.

Пробы мочи для ТСХ

20 мл подщелоченной мочи экстрагируют дихлорметаном, сушат над сульфатом натрия и выпаривают до получения небольшого объема.

Пробы крови и плазмы крови

Обнаружение метаквалона/меклоквалона в плазме крови обычно осуществляется с использованием методов радиоиммунологического анализа (РИА), ТСХ, ГХ или ВЭЖХ.

Опубликован метод анализа метаквалона в пробах крови⁷⁴, при применении которого 200 мкл крови подщелачивают с помощью 100 мкл гидроксида аммония, а затем экстрагируют с помощью 5 мл диэтилового эфира путем взбалтывания. После центрифугирования эфирный слой переносят в другую пробирку, а раствор тщательно выпаривают при 40°C в токе азота. Для проведения анализа сухой остаток повторно разбавляют 50 мкл метанола. По имеющимся сообщениям, выход является количественным.

Твердофазная экстракция

Пробы мочи

Опубликовано описание метода твердофазной экстракции, который применяется для подтверждения наличия метаквалона в моче человека⁷⁵. При этом методе используется колонка Bond Elute Certify. В качестве подвижной фазы применяют гексан/этилацетат (3:1). Для экстрагирования метаквалона и других слабокислых и

нейтральных наркотиков из цельной крови используется диатомовая земля (целит)⁷⁶. Описан также метод твердофазной экстракции с использованием смолы XAD-5⁷⁷.

Методы отборочного анализа

Методы иммунологического анализа

Комплекты для проведения иммунологического анализа ИФУ II и анализа в оперативном режиме позволяют с легкостью обнаружить наличие метаквалона в пробах мочи в течение 72 часов после употребления дозы наркотика, равной 200 мг, с использованием критической концентрации, равной 0,6 мкг/мл^{78, 79}.

Таблица 7. Перекрестная реакционная способность основных гидроксиметаболитов метаквалона при анализе в оперативном режиме и ИФУ II

<i>Метаболит</i>	<i>Анализ в оперативном режиме (нг/мл)</i>	<i>Перекрестная реакционная способность, %</i>	<i>ИФУ II</i>	<i>Перекрестная реакционная способность, %</i>
2'-ОН-метаквалон	469	64	2000	15
3'-ОН-метаквалон	375	80	550	55
4'-ОН-метаквалон	259	116	300	100

Приведенные выше показатели перекрестной реакционной способности могут варьироваться в зависимости от того, какая партия антител используется в каждом отдельном комплекте для проведения иммунологического анализа. Сведения об используемых материалах можно найти в информационном листке-вкладыше, который обычно прилагается фирмой-изготовителем к производимым ею комплектам.

Комплекты для иммунологического анализа следует использовать согласно инструкции производителя, касающейся разбавления проб и реагентов, объемов реагентов, а также условий и длительности их хранения. Внесение изменений в рекомендуемые производителем процедуры отразится на достоверности их результатов, и модифицированный метод необходимо будет подвергнуть повторной оценке, чтобы установить его пригодность для достижения соответствующей цели.

Известно, что в ходе проведения иммунологического анализа могут появиться примеси. Это зависит от вида иммунологического анализа, вида и качества пробы и, разумеется, от присутствия в пробе других веществ помимо тех, количественное содержание которых предстоит определить; эти вещества могут давать перекрестную реакцию с реакциями, в которые вступают антитела. Таким образом, при проведении анализа химик-аналитик должен всегда учитывать возможность наличия примесей. Более подробную информацию см. в главе I.F.

Тонкослойная хроматография

При проявлении пластинки Merck F₂₅₄ из диоксида кремния в смеси этилацетат/метанол/аммиак (170:20:10) метаболит метаквалона проявляется под УФ-облучением с длиной волны 254 нм в виде темного пятна при R_f, равном 0,35; при распылении 1 мг/мл Fast Blue B в 75%-ной смеси метанол/вода метаболит проявляется в виде голубовато-розовато-лилового пятна⁸⁰.

Газовая хроматография

Метод насадочной и капиллярной колонок⁸¹

Примечание. До начала использования все насадочные колонки должны быть кондиционированы. Как правило, температура кондиционирования должна по крайней мере на 30°C превышать температуру, при которой предстоит провести анализ, если только это не приведет к превышению верхнего температурного предела колонки, указанного изготовителем. В этом случае следует сократить разность температур и существенно увеличить время кондиционирования. Обычно колонки кондиционируют в течение одной ночи перед проведением анализа или в продолжение как минимум 15 часов. Кондиционирование колонки осуществляется с использованием потока обычного газа-носителя при отключенном детекторе.

Насадочная колонка, метод А
Основан на методике Peat et al.⁸¹

- ❑ Взболтать 1 мл плазмы крови и 50 мкл раствора внутреннего эталона (эквивалентного 500 нг меклоквалона).
- ❑ Добавить 1 мл насыщенного раствора бората натрия и осторожно взболтать.
- ❑ Добавить 5 мл н-бутилхлорида и встряхивать экстракционную пробирку на механическом устройстве в течение 10 минут.
- ❑ После центрифугирования в течение 5 минут переместить растворитель в коническую пробирку для центрифугирования и выпарить досуха в токе азота при 60°C.
- ❑ Повторно разбавить остаток с помощью 30 мкл гексан:этанол (1:1 объем/объем).
- ❑ Использовать 2 мкл для анализа метаквалона методом ГХ с азотно-фосфорным детектором (АФД).

Рекомендуется силанизировать стеклянную посуду.

В этой системе хроматографирования используется короткая насадочная колонка (длиной приблизительно 1,5 м) с внутренним диаметром, равным 3 мм, с насадкой из 1% SP-1000 на Gas Chrom Q (100–120 меш). Газом-носителем является азот при скорости потока, равной 35 мл/мин; используется азотный детектор. Температуры инжектора и детектора равны 250°C и 300°C, соответственно. Температурная программа: начальная температура 220°C (4 минуты), увеличение температуры на 8°C в минуту до 240°C (выдерживание в течение 4 минут).

Капиллярная колонка, метод А
(ПИД/АФД)

Основан на методике Drummer et al., 1995⁶⁵

В основе этой процедуры лежит одностадийный метод, применяемый для оценки содержания метаквалона в крови, плазме крови, моче и жидкой части стекловидного тела. Используется капиллярная колонка BP-5 или эквивалентная, длиной 10 м или 25 м, с внутренним диаметром 0,3 мм, в температурную программу заложено повышение от 100°C до 280°C, со скоростью повышения 7,5°C в минуту. В качестве детектора может использоваться ПИД, АФД или МС.

- ❑ Поместить в силанизированные стеклянные экстракционные пробирки 1 мл пробы крови (или контрольной пробы или эталона).

- ❑ Добавить в каждую пробирку по 100 мкг внутреннего эталона циклизина, перемешать.
- ❑ Добавить в каждую пробирку буферный раствор Trizma, перемешать.
- ❑ Добавить 8 мл бутилхлорида и экстрагировать в течение 30 минут на горизонтальном шюттль-аппарате.
- ❑ Центрифугировать в течение 5 минут со скоростью 2000 оборотов в минуту.
- ❑ Переместить растворитель в чистую стеклянную экстракционную пробирку.
- ❑ Выпаривать досуха либо в концентраторе Savant при комнатной температуре, либо в нагревательном блоке (при 30°C в токе азота).
- ❑ Повторно разбавить сухой остаток с помощью 100 мкл метанола.
- ❑ Переместить в специальные флаконы для инжестирования (с завинчивающимися крышками и тефлоновыми прокладками) и инжестировать 1–2 мкл в систему ГХ.

Детекторы

Детекторами, пригодными для анализа метаквалона/меклоквалона методом ГХ, являются пламенный ионизационный детектор (ПИД) и азотно-фосфорный детектор (АФД), который обеспечивает более высокую избирательность и меньший фронт растворителя, чем ПИД.

Газовая хроматография – масс-спектрометрия Капиллярная колонка, метод В (ГХ/МС)

Основан на методике Brenner et al. 1996⁷⁸

Гидролиз

- ❑ Добавить к 1 мл мочи (образца, калибратора или контрольного образца) 1 мл 1,1 М буферного раствора ацетата натрия (pH 5,2) и 300 мкл раствора внутреннего эталона (d4-метаквалон при концентрации 300 нг/мл).
- ❑ При необходимости довести уровень pH смеси до 5–6, добавив 0,1 М HCl.
- ❑ Добавить 100 мкл (130 000 единиц глюкуронидазы/мл) β-глюкуронидазы (глюосулазы) и поместить пробирки в печь на 4 часа при температуре 30°C.
- ❑ Перед началом экстрагирования извлечь пробирки и довести содержимое до комнатной температуры.

Экстрагирование

- ❑ Добавить в каждую пробирку по 1 мл 1,5 М буферного раствора карбоната натрия (pH 9,0) и 8 мл смеси хлороформ:изопропанол в соотношении 9:1 объем/объем.
- ❑ Перемешивать содержимое пробирок в течение двух минут при закрытых крышках, центрифугировать при необходимости.
- ❑ Аспирировать верхний водный слой и перенести органический слой в пробирки.
- ❑ Выпарить органический слой в токе азота при 50°C до объема, равного приблизительно 1 мл.
- ❑ Переместить концентрат во флаконы для ГХ и выпарить досуха.

Получение производных

- ❑ Добавить в каждый флакон для ГХ по 100 мкл пентафторпропионового ангидрида.
- ❑ Закрыть флаконы крышками и нагревать при 70°C в течение 30 минут.

- ❑ После охлаждения до комнатной температуры и удаления избытка реагента в токе азота добавить к остатку 300 мкл этилацетата; использовать полученный раствор для проведения ГХ или ГХ-МС.

Анализ методом ГХ-МС:

ГХ проводится на колонке из диметилсиликона (DB-1 или эквивалентной), длиной 10 м, с внутренним диаметром 0,18 мм, толщиной пленки 0,4 мкм. Температуру печи поддерживают при 150°C в течение 3 минут, затем медленно повышают до 285°C со скоростью 20°C в минуту, при этом конечную температуру выдерживают в течение 3 минут. Анализ осуществляется в режиме селективного мониторинга ионов (СМИ). Процесс мониторинга ионов показан в таблице, ниже. Предел обнаружения при использовании этого метода составляет 25 нг/мл, предел количественного определения равен 50 нг/мл.

Чтобы получить необходимую разделительную способность, рекомендуется использовать относительно новые колонки. По мере старения колонки наблюдается незначительное размывание пиков.

<i>Соединение</i>	<i>Время удерживания (мин)</i>	<i>Ионы, подлежащие идентификации (м/з)</i>	<i>Ионы, подлежащие количественному определению (м/з)</i>
Метаквалон	7,12	250	235
2'-ОН-метаквалон	7,36	412	235
2''-ОН-метаквалон	7,42	412	265
3'-ОН-метаквалон	7,52	412	397
4'-ОН-метаквалон	7,63	412	397
6-ОН-метаквалон	7,68	412	397
d4-метаквалон (внутренний эталон)	7,10	254	239

Высокоэффективная жидкостная хроматография

Высокоэффективная жидкостная хроматография, метод А

В основе этой процедуры лежит одностадийный метод, используемый для анализа крови, плазмы крови, мочи и жидкой части стекловидного тела. Используется Spherisorb S5-ODS или эквивалентный, колонка 3,9 × 150 мм, размер частиц 5 мкм, метанол/ацетонитрил/5 мМ фосфат, pH 4,0 (40:10:50), УФ-детектор 214 нм.

- ❑ Поместить 0,25 мл неидентифицированной пробы крови или плазмы крови или эталона в экстракционные пробирки объемом 500 мкл для микроцентрифугирования.
- ❑ Добавить во все пробирки по 0,25 мл экстрагирующего раствора А (ацетонитрил, содержащий п-метилфенил-фенилгидантоин (МФФГ) (IS) в концентрации 20 мкг/мл). Приготовить раствор А, растворив 200 мкл исходного раствора МФФГ при концентрации 1 мг/мл в 9,8 мл ацетонитрила; использовать стеклянные пробирки и флакон. После добавления немедленно взболтать.
- ❑ Выдержать 10 минут и еще раз быстро взболтать.
- ❑ Центрифугировать в течение приблизительно 10 минут в микроцентрифуге на максимальной скорости.
- ❑ Перенести отстоявшийся верхний слой во флакон.
- ❑ Инжектировать 20 мкл в систему ВЭЖХ.

Литература

1. Report of the Expert Group On Recommended for Testing Cannabis and Amphetamine/Methamphetamine Analysis, E/CN.7/1987/8.
2. Report of the international Conference on Drug Abuse and Illicit Trafficking (United Nations Publication, Sales No. E.871.18), para 84.
3. Report of the Expert Group on Guidelines for the Establishment of National Testing Programmes and Laboratories for Drugs of Abuse in Body Fluids, E/CN.7/1988/CRP.5, para 42.
4. Commission on Narcotics Drugs, Report of the Tenth Special Session, E/1988/13-E/CN.7/1988/14, para 236(b).
5. Recommended Guidelines for Quality Assurance and Good Laboratory Practices, Manual for Use by National Laboratories, ST/NAR/25, United Nations 1995.
6. Recommended Methods for Testing LSD, Manual for Use by National Laboratories, (ST/NAR/17), United Nations 1995.
7. Recommended Methods for Testing Peyote Cactus (Mescal Buttons) / Mescaline and Psilocybe Mushrooms / Psilocybin, Manual for Use by National Laboratories, (ST/NAR/19), United Nations 1995.
8. Recommended Methods for Testing Methaqualone / Mecloqualone, Manual for Use by National Laboratories, (ST/NAR/15), United Nations 1995.
9. Recommended Methods for Detection and Assay of Heroin, Cannabinoids, Cocaine, Amphetamine, Methamphetamine and Ring-Substituted Amphetamine Derivatives in Biological Specimens, Manual for Use by National Laboratories, (ST/NAR/27), United Nations 1995.
10. Recommended Methods for Detection and Assay of Barbiturates and Benzodiazepines in Biological Specimens, (ST/NAR/28), United Nations 1995.
11. Guidelines for Testing Drugs under International Control in Hair, Saliva and Sweat, (ST/NAR/30/Rev.1). United Nations 1998.
12. J.E.F. Reynolds. Martindale. The Extra Pharmacopoeia. Royal Pharmaceutical Society, London, 1996.
13. D.A Gorelick and S.E. Lerner. Phencyclidine (PCP). Abused drugs monograph series, Abbott laboratories, Irving (TX), 1988.
14. R.H. Schwartz LSD: its rise, fall, and renewed popularity among high school students, *Pediatr. Clin. North Am.*, 1995, 42, 403-13.
15. F. Musshoff and T. Daldrup, GC/MS determination of LSD in serum samples, *Forensic Sci. Int.*, 1997, 88, 133-40.
16. H.D. Abraham, A.M. Aldridge and P. Gogia, The psychopharmacology of hallucinogens, *Neuropsychopharmacology*, 1996, 14, 285-98.
17. H.K. Lim, D. Andrenyak, P. Francom, R.T. Jones and R.L. Foltz, Quantification of LSD and N-demethyl LSD in urine by gas chromatography/resonance electron capture ionization mass spectrometry, *Anal. Chem.*, 1988, 60, 1420-25.

18. R.L. Foltz, LSD: Pharmacokinetics and new metabolites, Proceedings of the Cal. Assoc. of Toxicologists, 1995, Feb. 95, 20-9.
19. J. Cai and J. Henion, Elucidation of LSD in vitro metabolism by liquid chromatography and capillary electrophoresis coupled with tandem mass spectrometry, J. Anal. Toxicol., 1996, 20, 27-37.
20. Z.H. Siddik, R.D. Barnes, L.G. Dring, R.L. Smith and R.T. Williams, The fate of lysergic acid di[14C]ethylamide ([14C]LSD) in the rat, guinea pig and rhesus monkey and of [14C]iso-LSD in rat, Biochem. Pharmacol., 1979, 28, 3093-102.
21. D.I. Papac and R.L. Foltz, Measurement of lysergic acid diethylamide (LSD) in human plasma by gas chromatography/negative ion chemical ionization mass spectrometry, J. Anal. Toxicol., 1990, 14, 189-90.
22. G.K. Aghajanian and O.H.L. Bing, Persistence of LSD in the plasma of human subjects, Clin. Pharmacol. Ther., 1964, 5, 611-4.
23. D.G. Upshall and D.G. Wailing, The determination of LSD in human plasma following oral administration, Clin. Chim. Acta, 1972, 36, 67-73.
24. L.M. Blum, E.F. Carenzo and F. Rieders, Determination of lysergic acid diethylamide (LSD) in urine by instrumental high-performance thin-layer chromatography, J. Anal. Toxicol., 1990, 14, 285-7.
25. K.S. Webb, P.B. Baker, N.P. Cassells, J.M. Francis, D.E. Johnston, S.L. Lancaster, P.S. Minty, G.D. Reed and S.A. White, The analysis of lysergide (LSD): The development of a novel enzyme immunoassay and immunoaffinity extraction procedures together with an HPLC-MS confirmation procedure, J. Forensic Sci., 1996, 41, 938-46.
26. P. Francom, H.K. Lim, D. Andrenyak, R.T. Jones and R.L. Foltz, Determination of LSD in urine by capillary column gas chromatography and electron impact mass spectrometry, J. Anal. Toxicol., 1988, 12, 1-8.
27. S.J. Salamone, Z. Li, A.J. McNally, S. Vitone and R. Wu, Epimerization studies of LSD using ¹H nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy, J. Anal. Toxicol., 1997, 21, 492-7.
28. B.D. Paul, J.M. Mitchell, R. Burbage, M. Moy and R. Sroka, Gas chromatographic-electron-impact mass fragmentometric determination of LSD in urine, J. Chromatogr., 1990, 529, 103-12.
29. D. Ritter, C.M. Cortese, L.C. Edwards, J.L. Barr, H.D. Chung and C. Long, Interference with testing for lysergic acid diethylamide, Clin. Chem., 1997, 43, 635-7.
30. A. Verstaete and T. Torch. Comparison of the Behring Syva Emit LSD assay and the DPC LSD RIA on 483 urines. J Anal Toxicol 21: 91 (1997).
31. A.H.B. Wu, Y.-J. Feng, A. Pajor, T.G. Gornet, S.S. Wong, E. Forte and J. Brown, Detection and interpretation of lysergic acid diethylamide results by immunoassay screening of urine in various testing groups, J. Anal. Toxicol., 1997, 21, 181-4.
32. J.T. Cody and S. Valtier, J. Immunoassay analysis of lysergic acid diethylamide, Anal. Toxicol., 1997, 21, 459-64.
33. P.J. Twitchett, S.M. Fletcher, A.T. Sullivan and A.C. Moffat, Analysis of LSD in human body fluids by HPLC, fluorescence spectroscopy and RIA., J. Chromatogr., 1978, 150, 73-84.
34. R.R. Fysh, M.C.H. Oon, K.N. Robinson, R.N. Smith, P.C. White and M.J. Whitehouse, A fatal poisoning with LSD, Forensic Sci. Int., 1985, 28, 109-13.

35. Y. Nakahara, R. Kikura, K. Takahashi, R.L. Foltz and T. Mieczkowski, Detection of LSD and metabolite in rat hair and human hair, *J. Anal. Toxicol.*, 1996, 20, 323-9.
36. K. Harzer, Detection of LSD in body fluids with high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr.*, 1982, 249, 205-8.
37. J.M. Francis and D.H. Craston, Development of a stand-alone affinity clean-up for lysergic acid diethylamide in urine, *Analyst*, 1996, 121, 177-82.
38. H. Hoja, P. Marquet, B. Verneuil, H. Lotfi, J.L. Dupuy and G. Lachatre, Determination of LSD and N-demethyl-LSD in urine by liquid chromatography coupled to electrospray ionization mass spectrometry, *J. Chromatogr. B*, 1997, 692, 329-35.
39. C.C. Nelson and R.L. Foltz, Determination of lysergic acid diethylamide (LSD), iso-LSD, and N-demethyl-LSD in body fluids by gas chromatography/tandem mass spectrometry, *Anal. Chem.*, 1992, 64, 1578-85.
40. S.A. White, T. Catterick, M.E. Harrison, D.E. Johnston, G.D. Reed and K.S. Webb, Determination of lysergide (LSD) in urine by HPLC combined with electrospray ionization mass spectrometry, *J. Chromatogr., Biomed. Appl.*, 1997, 689, 335-40.
41. J.Y. Cai and J. Henion, On-line immunoaffinity extraction-coupled column capillary liquid chromatography tandem mass spectrometry: trace analysis of LSD analogs and metabolites in human urine, *Anal. Chem.*, 1996, 68, 72.
42. P. Morrill, R. Galloway, J. Shindelman, D. Davoudzadeh, N. Bellet and W. Cody, Immunoaffinity purification of LSD prior to confirmation by GC/MS, *Proceedings of the Soc. of Forensic Toxicology Conference, Snowbird, UT*, 1997, pp. 6.
43. Recommended Methods for Testing Peyote Cactus (Mescal Buttons)/Mescaline and Psilocbe Mushrooms/Psilocybin, *Manual for Use by National Laboratories, ST/NAR/19, United Nations*, 1989.
44. F. Hasler, D. Bourquin, R. Brenneisen, T. Bär, F.X. Vollenweider, Determination of psilocin and 4-hydroxyindole-3-acetic acid in plasma by HPLC-ECD and pharmacokinetic profiles of oral and intravenous psilocybin in man, *Pharm. Acta Helv.* 72, 175-184 (1997).
45. F. Hasler, *Untersuchungen zur Humanpharmakokinetik von Psilocybin*, PhD Dissertation, University of Bern, Switzerland (1997).
46. H. Maurer and Pflieger, *The Mass Spectra of Drugs and Poisons*, 2nd Edition. VCH Publishers. Weinheim, 1992.
47. R.C. Baselt and R.H. Cravey. *Disposition of toxic drugs and chemicals in man*. Chemical Toxicology Institute. Foster City (CA), 1995.
48. J. Wilson. *Abused Drugs II. A laboratory pocket guide*. AACC Press, Washington DC, 1994.
49. S.B. Karch. *The pathology of drug abuse*. CRC Press. Boca Raton (FL), 1996.
50. C.E. Cook, D.R. Brine, A.R. Jeffcoat et al., Phencyclidine disposition after intravenous and oral doses. *Clin. Pharm. Ther.* 1982; 31: 625-634.
51. *Clarke's isolation and identification of Drugs*, 2nd Edition, Moffat A.C. (De.), The Pharmaceutical Press, London, 1986.
52. G.W. Kunsman, B. Levine, A. Constantino and M.L. Smith. Phencyclidine blood concentrations in DRE cases. *J. Anal. Toxicol.*, 1997; 21:498-502.
53. R. DeCresce, A. Mazura, M. Lfshitz and J. Tilson. *Drug testing in the work place*. ASCP Press, Chicago (IL), 1989.

54. P.L. Cary, C.A. Johnson et al. Immunoassay method validation for a modified EMIT phencyclidine assay. *J. Anal. Toxicol.*, 1992; 16:48-51.
55. T.C. Sneath and N.C. Jain. Evaluation of phencyclidine by EMIT d.a.u. utilising the ETS analyser and a 35-ng/mL cut-off. *J. Anal. Toxicol.*, 1992; 16: 107-108.
56. R.C. Sreenivasum, T.C. Sneath and N.C. Jain. Evaluation of EMIT II reagents on the Chem 1. *J. Anal. Toxicol.*, 1993; 17: 370-373.
57. W. Bronner, P. Nyman and D. von Minden. Detectability of phencyclidine and 11-nor-delta-9-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid in adulterated urine by radioimmunoassay and fluorescent polarization immunoassay. *J. Anal. Toxicol.*, 1990; 14: 368-371.
58. J.C. Gooch, G. Gallacher, J.G. Wright, I. Mahmood, A. Siddiqui, D.L. Colbert. Detection of phencyclidine in urine using a polarization fluoroimmunoassay. *Analyst*, 1994; 119: 1797-1800.
59. B. Levine, B.A. Goldberger and Y.H. Caplan. Evaluation of the coat-a-count radioimmunoassay for phencyclidine. *Clin. Chem.*, 1988; 34: 429.
60. S.J. Mulé and G.A. Casella. Confirmation of marijuana, cocaine, morphine, codeine, amphetamine, methamphetamine, phencyclidine by GC/MS in urine following immunoassay screening. *J. Anal. Toxicol.*, 1988; 12: 102-107
61. D.A. Armbruster, E.C. Hubster, M.S. Kaufman and M.K. Ramon. Cloned enzyme donor immunoassay (CEDIA) for drugs-of-abuse screening. *Clin. Chem.*, 1995; 41: 92-98.
62. A.H.B. Wu and S.S. Wong. Evaluation of the Triage system for emergency drug-of-abuse testing in urine. *J. Anal. Toxicol.* 1993; 17:241-245.
63. B.S. Levine and M.L. Smith. Effects of diphenhydramine on immunoassays of phencyclidine in urine. *Clin. Chem.*, 1990; 36: 1258.
64. S. Schneider, P. Kuffer and R. Wennig. Determination of Lysergide (LSD) and phencyclidine in biosamples. *J. Chromatogr.*, 1998; 713: 189-200.
65. O.H. Drummer, S. Horomidis, S. Kourtis, M.L. Syrjanen and P. Tippet. Capillary gas chromatographic drug screen for use in forensic toxicology. *J. Anal. Toxicol.*, 1994; 18: 134-138.
66. O.H. Drummer, A. Kotsos, and M.I. McIntyre. A class-independent drug screen in forensic toxicology using a photodiode array detector. *J. Anal. Toxicol.* 17, 225-229 (1993).
67. M. Augsburger and L. Rivier, Drugs and alcohol among suspected impaired drivers in Canton de Vaud (Switzerland). *Forensic. Sci. Int.* 1997; 85:95-104.
68. H.H. McCurdy, L.J. Lewellen, J.C. Cagle and E.T. Solomons. A rapid procedure for the screening and quantitation of barbiturates, diazepam, desmethyldiazepam and methaqualone. *J. Anal. Toxicol.*, 5, 253-7 (1981).
69. K. Blum, Handbook of abusable drugs, Gardner Press Inc. New York, 1985, p. 203-204.
70. A.H. Stead, A.C. Moffat, A collection of therapeutic, toxic and fatal blood drug concentrations in man. *Human Toxicol.*, 3, 437-464 (1983).
71. The Bulletins of The International Association of Forensic Toxicologists.
72. C.V. Wetli. Changing patterns of methaqualone abuse. A survey of 246 fatalities. *JAMA* 249, 621-6 (1983)
73. R.W. Kurz, R. Hainz, F. Gremmel, W. Grisold, K. Hruby, P. Dellert and W. Vycudilik. [Dangerous intoxication from extreme serum concentrations of methaqualone

- metabolites. Detection and quantification of biosynthesis with gas chromatography-mass spectrometry] Lebensbedrohliche Intoxikation durch extreme Serumkonzentration eines Methaqualonmetaboliten. Nachweis und Quantifizierung mittels Biosynthese und Gaschromatographie-Massenspektrometrie. *Anaesthesist* 44, 863-8 (1995).
74. D.N. Sims, P.D. Felgate, H.E. Felgate and R.J. Lokan. Application of a simple extraction procedure using aqueous ammonia to the analysis of basic drugs in blood by gas chromatography. *Forensic. Sci. Int.* 49, 33-42 (1991).
 75. R. Pocci, V. Dixit and V.M. Dixit. Solid-phase extraction and GC/MS confirmation of barbiturates from human urine. *J. Anal. Toxicol.* 16, 45-7 (1992).
 76. McCurdy et al., *J. Anal. Toxicol.*, 5, 253-257 (1981).
 77. F. Liu, Y.T. Liu, C.L. Feng and Y. Luo, Determination of methaqualone and its metabolites in urine and blood by UV, GC/FID and GC/MS. *Acta. Pharm. Sinica*, 29, 610-616 (1994).
 78. C. Brenner, R. Hui, J. Passarelli, R. Wu, R. Brenneisen, K. Bracher, M.A. ElSohly, V.D. Ghoudoussi and S.J. Salamone, Comparison of methaqualone excretion patterns using Abuscreen ONLINE and EMIT II immunoassays and GC/MS. *Forensic Science International*, 79, 31-41 (1996).
 79. B. Senft, B. Ram. Syva Emit II Methaqualone Assay. *Ther Drug Monit.*, 15, p. 166 (1993).
 80. A. Curry, *Poison Detection in Human Organs*, C. Thomas Publishers, 1976.
 81. M.A. Peat and B.S. Finkle. Determination of methaqualone and its major metabolites in plasma and saliva after single oral doses. *J. Anal. Toxicol.* 4, 114-118 (1980).



ОРГАНИЗАЦИЯ ОБЪЕДИНЕННЫХ НАЦИЙ
Управление по наркотикам и преступности

Vienna International Centre, P.O. Box 500, A-1400 Vienna, Austria
Tel: (+43-1) 26060-0, Fax: (+43-1) 26060-5866, www.unodc.org