



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 46440

(13) A

(51) 6 G01N33/50

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВІНАХІДВІДАЄТЬСЯ ПІД
ВІДПОВІДАЛЬНІСТЬ
ВЛАСНИКА
ПАТЕНТУ

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ КАНАБІНОЇДІВ У СЕЧІ ЛЮДИНИ

1

2

(21) 2001075052

(22) 17 07 2001

(24) 15 05 2002

(46) 15 05 2002, Бюл. № 5, 2002 р.

(72) Петюнін Геннадій Павлович, Чубенко Олександр Владкович, Дмитрієвська Жанна Василівна

(73) ХАРКІВСЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ
ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ (ХМАПО)

(57) Спосіб визначення канабіноїдів у сечі людини шляхом екстракції їх після лужного гідролізу з хроматографічним визначенням, який відрізняється тим, що додатково перед проведенням лужного гідролізу здійснюють очищення екстракту сечі

Вінахід відноситься до медицини, зокрема до визначення канабіноїдів у сечі людини

Відомим є імуноферментний метод визначення канабіноїдів у сечі (Human-drug Cannabinoids Visual Immunoassays for the Qualitative Detection of Drugs of Abuse (DAU) and Metabolites in Human Urine Human Gesellschaft fur Biochemica und Diagnostics mbH), в якому метаболіти канабіноїдів, які знаходяться в сечі людини, що вживала (курила) препарати конопль беруть участь в конкурентній реакції з кон'югатом, що містить мічені антитіла, по закінченню якої виникає специфічне забарвлення. Але, цей метод недостатньо селективний - він дає позитивні результати і з іншими речовинами, зокрема з медикаментами (D E Rollins, T A Jennison and G Jones, "Investigation of interference by non-steroidal anti-inflammatory drugs in urine tests for abused drugs", Clinical Chemistry, vol 36, 1990, pp 602 - 606). Тому позитивні результати повинні бути підтверджені другим методом.

Відомим є спосіб, який може бути обраним за прототип, по визначенню канабіноїдів у сечі людини після лужного гідролізу шляхом екстракції їх метаболітів (зокрема, - Δ^9 - тетрагідроканабінолової кислоти (далі - 9-ТГКCOOH) після чого екстракт розподіляють методом хроматографії у тонкому шарі сорбенту і виявляють за допомогою проявника - тривкого синього Б (Recommended Methods for the Detection and Assay of Heroin, Cannabinoids, Cocaine, Amphetamine, Methamphetamine and Ring-Substituted Amphetamine Derivatives in Biological Specimens United Nations New York, 1995).

Недоліком цього способу є те, що деякі сполуки кислоти природи (зокрема, нестероїдні протиза-

пальні препарати) в умовах методу, який описується, мають близькі величини R_f з 9-ТГКCOOH і забарвлення плям, що виникають після проявлення. Це не дає можливості запобігти хибно позитивних результатів.

В основу винаходу поставлена задача удосконалення способу визначення канабіноїдів в сечі людини, в якому за рахунок введення додаткового етапу в пробопідготовці біологічного матеріалу (сечі) досягається можливість позбутися речовин, які можуть бути в сечі як результат прийому ліків, що підвищує селективність визначення канабіноїдів у сечі.

Поставлена задача вирішується в способі визначення канабіноїдів у сечі людини шляхом екстракції їх після лужного гідролізу з хроматографічним визначенням, згідно з винаходом, додатково перед проведенням лужного гідролізу проводять очищення сечі.

Додаткове очищення біологічного матеріалу дозволяє видалити з нього не-стероїдні протизапальні препарати у випадку їх вживання людиною, що дає можливість уникнути хибно позитивних результатів.

Спосіб, що заявляється проводиться таким чином: 10мл сечі пацієнта підкислюють хлороводневою кислотою до pH = 1 - 2 і проводять екстракцію 20мл діетилового ефіру. Верхній ефірний шар відокремлюють і при необхідності досліджують на наявність нестероїдних протизапальних засобів. Водну фазу підлучують 10М розчином гідроксиду натрію до лужного середовища по універсальному індикатору і термостатують 20 хвилин при 50°C. Після охолодження гідролізату од-

(13) A

(11) 46440

(19) UA

норазово екстрагують сумішшю гексан-етилцетат (7 - 1). Після розподілу рідин органічна частина відкидається. Водна підкислюється хлороводною кислотою до $\text{pH} = 1 - 2$ і тричі екстрагується сумішшю гексан-етилцетат (14 - 2) по 5мл. Отриманий органічний екстракт випарюють потоком холодного повітря до сухого залишку, який розчиняють у метанолі і 50мл розчину наносять на лі-

нію старту хроматографічної платівки. Після закінчення хроматографування платівку витягають, висушують і проявляють тривким синім Б. При застосуванні цього способу вдається запобігти хибно позитивних результатів, що виникають в разі наявності в сечі нестероїдних протизапальних препаратів див. табл.

Таблиця

Забарвлення з реактивом-забарвником та значення R_f

Речовина	Забарвлення з тривким синім Б	R_f Система 1	R_f Система 2
9-ТГК-СООН	фіолетово-червона	0,42	0,67
Індометацин	фіолетова	0,26	0,7
Напроксен	світло-фіолетова	0,39	0,8
Мефенамінова кислота	жовто-помаранчова	0,44	0,66
вольтарен	жовто-помаранчова	0,44	0,66

Система 1 - хлороформ, метанол, 25% аміак (7 - 3 - 2)

Система 2 - етилцетат, метанол, 25% аміак, вода (12 - 5 - 1 - 0,5)

Приклад 1. Хворий Х, історія хвороби № 2612, 1955 р.н., наркоман з канабі-ноїдною залежністю, приймає напроксен для лікування ревматоїдного

артриту в дозі 0,5 - 1,0. Проведення аналізу дало можливість диференціювати присутність 9-ТГК-СООН у сечі.

Приклад 2. Хворий У, історія хвороби № 1356, 1949 р.н., страждає ревматизмом, приймає мефенамінову кислоту в дозі 3г. Проведення аналізу не дало позитивного результату на канабіноїди.

ДП «Український інститут промислової власності» (Укрпатент)

вул. Сим'ї Хохлових, 15, м. Київ, 04119, Україна

(044) 456 – 20 – 90

ТОВ «Міжнародний науковий комітет»

вул. Артема, 77, м. Київ, 04050, Україна

(044) 216 – 32 – 71