

AMFETAMÍNY A ICH ANALÝZA KAPILÁRNOU GC A GC-MS

PETER KORYTÁR^a, EVA MATISOVÁ^a
a PETER ČELLÁR^b

^aChemickotechnologická fakulta, Slovenská technická univerzita, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenská republika,
^bKriminalistický a expertízny ústav, Policajného zboru Slovenskej republiky, Sklabinská 1, 812 72 Bratislava, Slovenská republika

Došlo dňa 4. VI. 1998

Kľúčové slová: amfetamíny, kapilárna GC, GC-MS

Obsah

1. Úvod
2. Používanie amfetamínov
 - 2.1. História používania a zneužívania
 - 2.2. Medicínske používanie
 - 2.3. Ilegálne používanie (zneužívanie)
3. Biologické vlastnosti
 - 3.1. Vplyv amfetamínov na správanie
 - 3.2. Vplyv amfetamínov na mozog a telo
4. Fyzikálno-chemické vlastnosti
 - 4.1. Popis čistých zlúčenín
 - 4.2. Popis amfetamínu a metamfetamínu
 - 4.3. Chemické vlastnosti amfetamínov
 - 4.4. Výroba a chemická charakteristika nelegálne vyrobeného amfetamínu a metamfetamínu
5. Analýza amfetamínov metódou HRGC a GC-MS
 - 5.1. Kvalitatívna analýza
 - 5.2. Kvantitatívna analýza
 - 5.2.1. Typ vzoriek
 - 5.2.2. Analýza bez derivatizácie a s derivatizáciou
 - 5.2.3. Dávkovacie systémy
 - 5.2.4. Kolóny
 - 5.2.5. Detekčné systémy
 - 5.2.6. Metódy kvantitatívnej analýzy
6. Záver

1. Úvod

Zneužívanie drog je v každej spoločnosti veľmi vážnym problémom. Za posledných desať rokov sa u nás zneužívanie drog veľmi rozšírilo a v súčasnosti patrí medzi najpálčivejšie problémy našej spoločnosti. Každoročne narastá počet ľudí závislých na drogách a čo je alarmujúce, znižuje sa ich veková hranica. Výrazne sa rozšírila aj paleta ponúkaných drog.

Úmerne so zvyšovaním spotreby drog narastá aj počet expertíz, ktoré musia pracovníci kriminalistických a drogových ústavov vykonať. Zvyšovanie počtu kontrolovaných zlú-

čenín vytvára tlak na kriminalistické a drogové laboratória a ich pracovníkov. Analytici musia byť schopní vyhodnotiť narastajúci počet vzoriek, sú nútení používať rýchlejšie, správnejšie a špecifickejšie metódy identifikácie a analýzy.

Najpoužívanejšou technikou pri kvalitatívnej a kvantitatívnej analýze drog v kriminalistických laboratóriách je plynová chromatografia pre jej univerzálnosť a dostatočne zvládnutú automatizáciu analýz. Často je potrebné analyzovať veľmi zložité zmesi a stanovovať stopové koncentrácie jednotlivých zložiek. Preferovanou metódou sa pre výsokú účinnosť a rýchlosť separácie stala kapilárna plynová chromatografia. Nevyhnutnou podmienkou pri analýzach v kriminalistických laboratóriách je použitie identifikačnej techniky. Veľmi vhodnou a zároveň najpoužívanejšou identifikačnou technikou je hmotnostná spektrometria, ktorú v súčasnosti nie je problém spojiť s kapilárnou plynovou chromatografiou a vytvorí tak plne automatizovaný identifikačný systém.

V nasledujúcich kapitolách uvádzame prehľad o biologických a fyzikálno-chemických vlastnostiach amfetamínov a postupov na ich analýzu metódou vysokorozlišovacej plynovej chromatografie (HRGC) a jej kombinácie s hmotnostnou spektrometriou (GC-MS) v rôznych maticiacich (moč, krv, vlasy a drogový materiál). Pojem „amfetamíny“ zahŕňa skupinu chemicky príbuzných drog, ktoré vyvolávajú podobné psychologické prejavy a prejavy správania. Všetky drogy zo skupiny amfetamínov sú psychostimulanty alebo drogy zvyšujúce aktivitu mozgu. Medzi bežné amfetamínové drogy patria amfetamín a metamfetamín.

2. Používanie amfetamínov

2.1. História používania a zneužívania

Amfetamín patrí medzi syntetické drogy a preto nemá dlhú históriu používania a zneužívania ako mnoho iných psychoaktívnych drog¹. Pôvodne syntetizovaná droga v roku 1887 bola zabudnutá až do roku 1930, keď sa objavilo, že droga zvyšuje krvný tlak. V roku 1932 farmaceutická firma Smith, Kline & French uviedla na trh inhalátor obsahujúci amfetamín. V tomto čase však neboli známe stimulačné účinky amfetamínu.

Až v roku 1935 uvedená farmaceutická firma objavila jeho stimulačné účinky a hneď nato sa objavili správy o efektívnej liečbe narkolepsie (nekontrolovateľná spavosť) a Parkinsonovej choroby užívaním amfetamínu. Lieky boli opatrené varovaním, že vysoké dávky môžu zapríčiniť nespavosť a iné nežiaduce účinky neboli pozorované. O rok neskôr sa objavila prvá správa o nemedicínskom používaní amfetamínu.

V rokoch 1932 až 1946 sa používanie liekov na báze amfetamínu veľmi rozmohlo. Používali sa lieky obsahujúce amfetamín (s názvom benzedrin) spoločne s liekmi obsahujúcimi aktívnejší metamfetamín (s názvom metedrin). Používali sa na liečbu schizofrénie, morfinovej, kodeínovej alebo nikotínovej závislosti, blokácie srdca, nízkeho tlaku, morskej choroby, mozgového ochrnutia u dojčiat, vytrvalého čkania a kofeínovej mánie.

Zmena v zneužívaní amfetamínov nastala za posledných 50 rokov. Amfetamíny, ako lieky benzedrin a metedrin, boli bežne používané počas druhej svetovej vojny na oboch stranách (spotrebovala sa niekoľko milióno v tabletiach) na potlačenie únavy v boji. V 50-tych rokoch pribudli k vojacom študenti univerzít, atléti, vodiči a ženy v domácnostiach. V 60-tych rokoch ľudia začali užívať amfetamíny intravenózne.

V rokoch 40-tych a 50-tych bola malá potreba ilegálneho predaja amfetamínov, pretože si ich bolo možné zaobstarať z legálnych zdrojov. Ako sa začalo obmedzovať používanie amfetamínov v 60-tych rokoch na medicínske účely pre ich nežiaduce vedľajšie účinky, tak sa rozvíjala ilegálna výroba. A až v roku 1972 bol amfetamín a metamfetamín zaradený do zoznamu psychotropných drog.

Nie vo všetkých krajinách sa zneužívanie amfetamínov tak rozšírilo. Najväčšie problémy s touto drogou zaznamenali v tom istom čase Spojené štáty americké, Japonsko a Švédsko. Nelegálna produkcia amfetamínu je stále široko rozšírená v Európe, kým metamfetamín je viac populárny v Severnej Amerike a Japonsku.

2.2. Medicínske používanie

V súčasnosti sú len tri všeobecne akceptované medicínske použitia a amfetamínu¹. Skúsený lekár môže efektívne amfetamín použiť v krátkodobej liečbe obezity, narkolepsie (záchvaty krátko trvajúceho a chorobného spánku) a hyperkinetického syndrómu (vykonávanie nedobrovoľných pohybov zapríčinené zväčša ochorením niektorých mozgových centier) a to len vtedy, keď už vyčerpal všetky iné metódy liečby.

Amfetamín sa užíva orálne v podobe tabliet, kapsúl a sirupov a to ako sulfátová alebo fosfátová soľ^{3,3}.

2.3. Ilegálne používanie (zneužívanie)

Amfetamíny sa zneužívajú z rôznych dôvodov (eufória, zvýšená čulosť a sebadôvera, strata hmotnosti, ...). Pre podrobnejšie informácie o príčinách zneužívania týchto drog pozri kapitolu 3.

Amfetamín sa najčastejšie zneužíva orálne alebo cez nosnú sliznicu (tzv. šňupaním) ako sulfátová alebo fosfátová soľ v dávkach od 5 do 15 mg u príležitostných užívateľov a od 100 do 2000 mg u navyknutých užívateľov⁴. Metamfetamín, ako hydrochloridová soľ, je najčastejšie pripravený pre vpichnutie ako vodný roztok („gold fish“) alebo pre fajčenie v práškovej forme („ice“)⁵, ale tiež je široko používaný vo forme tabliet.

3. Biologické vlastnosti

3.1. Vplyv amfetamínov na správanie

Amfetamíny pomáhajú potlačiť únavu a ospalosť, a preto tieto drogy často zneužívajú vodiči diaľkových kamiónov, ktorí sa snažia prejsť dlhé vzdialenosti bez prestávky. Avšak amfetamíny spôsobujú aj pocit eufórie a sebadôvery, čo často vedie k preceneniu vlastných síl a býva častou príčinou dopravných nehôd.

Študenti sú ďalšia skupina, ktorá zneužíva amfetamíny hlavne počas skúškového obdobia, aby sa dokázali učiť dlho

do noci. Veľa výskumov ukázalo, že amfetamíny zvyšujú rýchlosť práce ale znižujú jej správnosť.

Vplyv amfetamínov na správanie človeka a jeho duševné pocity je zhrnutý v tabuľke I.

Tabuľka I
Prejavu vplyvu amfetamínov na správanie a ich psychologické účinky

Zvýšená fyzická aktivita	Zvýšená výkonnosť pri jednoduchých, nudných úlohách
Úzkosť	Zhoršená schopnosť splniť úlohu zameranú na tvorivosť
Zhovorčivosť	Zhoršená schopnosť riadiť vozidlá (pri vyšších dávkach)
Eufória	Zvýšená sexuálna túžba (pri nízkych dávkach)
Zvýšená čulosť	Neschopnosť vykonať pohlavný styk (pri vyšších dávkach)
Zvýšená sebaúcta	Popudlivosť
Zvýšená sebadôvera	Nesúvislá reč
Nespavosť	Zvýšené reflexy

3.2. Vplyv amfetamínov na mozog a telo

Amfetamíny modifikujú činnosť dvoch neurotransmitérov, noradrenalinu a dopamínu, ktoré sa normálne nachádzajú v neurónoch a telových tkanivách^{1,6}. Noradrenalin a dopamín sú nepostrádateľné pre vlastnú funkciu mozgu a iných orgánov. Amfetamíny podobne ako kokain inhibujú reabsorpciu neurotransmitérov, a tak zvyšujú hladinu voľného noradrenalinu ako v mozgu tak aj v periférnom nervstve.

Vplyv amfetamínov na srdce a krvný obeh závisí od veľkosti dávky. Po požití malej dávky (5 až 10 mg) amfetamínov sa krvný tlak zvýši a ako odozva na toto zvýšenie sa zníži tep srdca. Dávky vyššie ako 25 mg priamo ovplyvňujú činnosť srdca, zvyšujú rýchlosť a silu kontrakcie. Nepravdivý tikot srdca možno tiež pozorovať, ale obyčajne len pri dávkach vyšších ako 100 mg.

Amfetamíny spôsobujú stratu hmotnosti a nechutenstvo a to je dôvod, prečo ich často zneužívajú ženy v snahe znížiť svoju telesnú hmotnosť.

Tabuľka II
Prejavu fyzického vplyvu amfetamínov

Zvýšený krvný tlak	Suché pery
Zrýchlený tep	Bolesť hlavy
Zvýšená telesná teplota	Nevolnosť
Nepravdivý tikot srdca	Zvracanie
Zrýchlené dýchanie	Neostre videnie
Poškodený krvný obeh	Zvýšená hladina cukru v krvi
Rozšírenie očných zreníc	Abscesy na pokožke (z intravenózneho užívania)
Zvýšená spotreba energie	Znížená citlivosť na bolesť
Strata hmotnosti	Slinenie (pri vyšších dávkach)

Amfetamíny tiež zapríčiňujú rozšírenie zreníc, suché pery, zrýchlenie dýchania a zvýšenie spotreby telesnej energie. Tieto znaky môžu pomôcť identifikovať osoby užívajúce amfetamíny. Najviditeľnejším znakom je rozšírenie zreníc, čo má za následok, že do oka vstupuje viac svetla. Preto sú užívatelia týchto drog citliví na všetky druhy svetla a často to kompenzujú nosením slnečných okuliarov nielen cez deň ale aj v noci.

Vplyv amfetamínov na ľudské telo je zhrnutý v tabuľke II.

4. Fyzikálno-chemické vlastnosti

4.1. Popis čistých zlúčenín

Volné bázy amfetamínu ($C_9H_{13}N$) a metamfetamínu ($C_{10}H_{15}N$) (obr. 1) sú kvapaliny, ktoré nie sú veľmi stabilné. Preto ich častejšie môžeme nájsť ako prášky vo forme amfetamín sulfátu ($(C_9H_{13}N)_2 \cdot H_2SO_4$), fosfátu ($C_9H_{13}N \cdot H_3PO_4$), alebo metamfetamín hydrochloridu ($C_{10}H_{15}N \cdot HCl$). Relatívne molekulové hmotnosti a skupenstvá jednotlivých foriem sú uvedené v tabuľke III, rozpustnosti v niektorých vybraných rozpúšťadlách v tabuľkách IV a V a teploty varu a topenia v tabuľkách VI a VII.

4.2. Popis amfetamínu a metamfetamínu

Amfetamín produkovaný z legálnej výroby obsahuje drogu vo forme síranovej a fosfátovej soli. Predávajú sa v rôznych krajinách ako tablety, kapsule a sirupy.

Nelegálne vyrobený amfetamín vo forme sulfátovej soli má rôznu farbu, od bieleho prášku, podobný materiálu z legálnej výroby, do ružovej, žltej a hnedej, v závislosti od typu a množstva nečistôt. Je často vlhký s charakteristickým nepríjemným zápachom patriacim prítomným zvyškom rozpúšťadla.

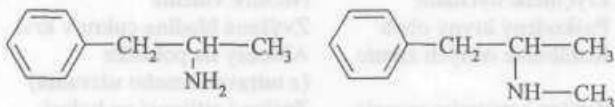
Metamfetamín z legálnych zdrojov je vo forme hydrochloridovej soli a je dostupný ako tablety alebo sterilný roztok pripravený pre vpichnutie.

Nelegálne vyrobený metamfetamín hydrochlorid je obyčajne vo forme tablietiek alebo lepkavého prášku. Môže byť bielej, hnedej alebo fialovej farby v závislosti od prítomných nečistôt.

4.3. Chemické vlastnosti amfetamínov

Primárne a sekundárne aminy tvoria intermolekulové vodíkové väzby, ktoré sú príčinou ich vyšších teplôt varu, resp. teplôt topenia v porovnaní s uhľovodíkmi s približne rovnakou relatívnou molekulovou hmotnosťou, veľkosťou a tvarom.

Amfetamín a metamfetamín sú opticky aktívne látky a ich izoméry majú odlišné biologické aj fyzikálno-chemické vlastnosti. Teploty varu pre optické formy čistého amfetamínu a metamfetamínu a teploty topenia pre optické formy sulfátových, fosfátových a hydrochloridových solí sú v tabuľkách VI a VII.



Amfetamín

Metamfetamín

Obr. 1. Štruktúrne vzorce amfetamínu a metamfetamínu

Tabuľka III
Vybrané fyzikálne veličiny

Fyzikálna veličina	Amfetamín (X^a)			Metamfetamín Y^b	
	-	$\cdot H_3PO_4$	$\cdot H_2SO_4$	-	$\cdot HCl$
Skupenstvo	l	s	s	l	s
M_r	135,2	233,2	368,5	149,2	185,7

^a $X = C_9H_{13}N$, ^b $Y = C_{10}H_{15}N$

Tabuľka IV
Rozpustnosť amfetamínu

Rozpúšťadlo	Báza	Fosfát	Sulfát
Voda	málo rozpustná	rozpustný	rozpustný
Etanol	rozpustná	málo rozpustný	málo rozpustný
Dietyléter	rozpustná	nerozpustný	takmer rozpustný
Chloroform	rozpustná	nerozpustný	nerozpustný

Tabuľka V
Rozpustnosť metamfetamínu

Rozpúšťadlo	Báza	Hydrochlorid
Voda	málo rozpustná	rozpustný
Etanol	rozpustná	rozpustný
Dietyléter	rozpustná	nerozpustný
Chloroform	rozpustná	rozpustný

Tabuľka VI
Teploty varu (t.v.) a topenia (t.t.) amfetamínovej (AP) bázy a jej solí

Forma	t.v. AP bázy [°C]	t.t. AP fosfátu [°C]	t.t. AP sulfátu [°C]
D-Forma	203-204	300 (rozkl.)	300 (rozkl.)
L-Forma	-	-	-
DL-Forma	200-203	300 (rozkl.)	280-281

Tabuľka VII
Teploty varu (t.v.) a topenia (t.t.) metamfetamínovej (MAP) bázy a jej soli

Forma	t.v. MAP bázy [°C]	t.t. MAP hydrochloridu [°C]
D-Forma	208-210	170-175
L-Forma	210	170-171
DL-Forma	209-210	131-135

Aminy sú organické zásady, ktorých sila závisí od charakteru uhlovodíkovej skupiny naviazanej na dusíkovom atóme. Zrejme okrem indukčných efektov alkylových skupín majú na zásaditosť alkylamínov vplyv aj iné faktory, najmä solvatacia.

Aminy sú relatívne reaktívne zlúčeniny. Reagujú s minerálnymi kyselinami za vzniku amóniových solí. Zo zásaditejších amínov vznikajú soli už so zriedenými kyselinami, kým z menej zásaditých vznikajú soli s koncentrovanými kyselinami alebo len v bezvodom prostredí. Z analytického hľadiska nás zaujíma reakcia s acylačnými činidlami (napr. kyselina octová, acetylchlorid, acetanhydrid). Aminy s nimi reagujú na príslušné soli, ktoré pri zahrievaní odštiepujú molekulu vody a menia sa na N-acylované aminy. Táto reakcia sa využíva pri derivatizácii amfetamínov (pozri kapitolu 5.2.2.).

4.4. Výroba a chemická charakteristika nelegálne vyrobeného amfetamínu a metamfetamínu

Nedostatok kontroly kvality a premenlivosť v účinnosti je charakteristická pre ilegálne vyrobený amfetamín a metamfetamín. Často obsahujú vedľajšie produkty a medzi produkty pochádzajúce z nečistých vstupných materiálov, nekompletných reakcií a nedostatočného čistenia medzi produktov a výsledného syntetického produktu. Znalosť nečistôt je dôležitá z mnohých dôvodov. Nebezpečné vplyvy nečistôt sa môžu zhodnotiť, potenciálne nebezpečenstvo publikovať a ak bude treba, možno navrhnúť liečbu. Prítomnosť alebo neprítomnosť špecifických nečistôt je použiteľná v stanovení spôsobu syntézy, ktorá bola použitá a v stanovení toho, či vzorky pochádzajú z legálnej alebo ilegálnej výroby. Byť si vedomý prítomnosti nečistôt je dôležité pre analytika, pretože môžu spôsobiť potenciaálne interferencie v analytickej metóde, ktorá sa použila na analýzu amfetamínu a metamfetamínu.

Typ a množstvo prítomných nečistôt závisí na metóde syntézy, pomere a zdrojoch reaktantov, reakčnom čase a teplote, podmienkach hydrolyzy medzi produktov a na čistiacom postupe, ak je nejaký použitý. Najviac nečistôt je slabo bázičných alebo neutrálnych. Normálna prítomnosť nečistôt v konečnom produkte je menšia ako 2 až 3 %.

Na ilegálnu syntézu amfetamínu/metamfetamínu je vhodných veľa metód. „Leuckartova“ metóda je najpopulárnejšia kvôli jednoduchšej syntéze, rýchlosti, dobrým výťažkom a nezahŕňa nebezpečné postupy. Môžeme ju považovať za trojkrovovú reakciu zahŕňajúcu formylačný krok, hydrolyzu a následné čistenie. Pre amfetamín formylačný krok pozostáva z kondenzácie fenyl-2-propanónu s formamidom (alebo s kyselinou mravčou alebo s mravčanom amónnym). Na hydrolyzu N-formylamfetamínu sa používa kyselina sírová. Záverečné čistenie zahŕňa destiláciu alebo extrakciu amfetamínovej bázy s éterom a vyzrážanie amfetamínu vo forme sulfátu. Nasleduje premytie jedným alebo viacerými rozpúšťadlami a rekrystalizácia amfetamín sulfátu. Pre metamfetamín kondenzačný krok pozostáva z kondenzácie fenyl-2-propanónu s metylamínom a kyselinou mravčou alebo s N-metylformamidom. Hlavné nečistoty pri tejto metóde syntézy sú N-formylamfetamín alebo N-formylmetamfetamín a 4-metyl-5-fenylpyrimidín. Normálna koncentrácia týchto nečistôt je nižšia ako 1 %. Keď sa pri reakcii použije kyselina mravčia, tak hlavné nečistoty amfetamínu sú N,N-di(b-fenylizopropyl)-amín (DPIA) a N-formyl DPIA a metamfetamínu sú to N,N-

-di(b-fenylizopropyl)metylamín (DPIMA) a N-formyl DPIMA. Bežná koncentrácia týchto nečistôt je viac ako 3 %.

Iné metódy syntézy amfetamínu a metamfetamínu nedávajú tak veľa špecifických nečistôt. Jednou z nich je metóda redukčnej aminácie², v ktorej fenyl-2-propanón a suspenzia Raneyho niklu reaguje so zmesou plynného amoniaku (pre amfetamín) alebo metylamínu (pre metamfetamín) a vodíka. Používajú sa i ďalšie redukovačlá, ako napr. platina, hliníkový prach s chloridom ortuťnatým (HgCl_2) a nikel potiahnutý zinkom. Hlavné nečistoty pri tomto postupe sú Schiffove bázy, ktoré vznikajú kondenzáciou fenyl-2-propanónu s amfetamínom. Anorganické nečistoty z katalyzátora môžu poslúžiť pri identifikácii zdroja.

Medzi dva ďalšie spôsoby výroby patrí „oxímová“² a „nitrostyrénová“² syntéza. V „oxímovej“ metóde hydroxylamín reaguje s fenyl-2-propanónom za vzniku oxímu, ktorý je podrobený hydrogenácii. V „nitrostyrénovej“ metóde reaguje fenyl-2-propanón s nitroetánom za vzniku medzi produktu nitrostyrénu. Hydrogenáciou dvojitej väzby a redukcíou nitro skupiny medzi produktu vzniká amfetamín. Obe z týchto metód dávajú benzylmetyl ketoxím ako hlavnú nečistotu. Jeho prítomnosť v oxímovej syntéze je zapríčinená nekompletnosťou reakcie, zatiaľ čo v nitrostyrénovej syntéze je to produkt čiastočnej redukcie. Pri redukcii sa používa prenášač elektrónov, ako amalgám sodný a sodík v etanole a vodíkový prenášač LiAlH_4 a NaBH_3CN . Oxímová syntéza a následná elektrochemická redukcia je v súčasnosti veľmi obľúbená metóda.

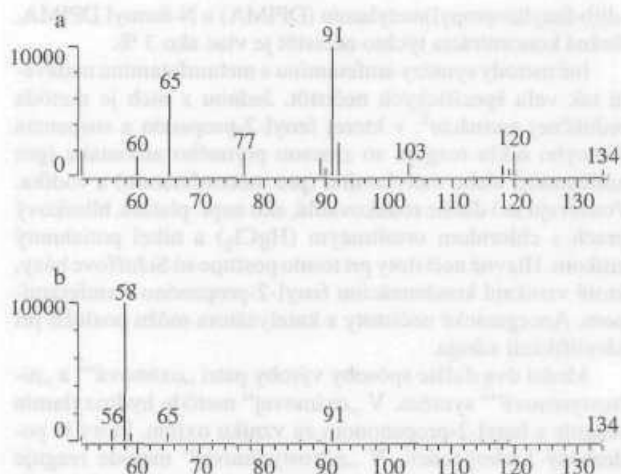
Všetky spomínané metódy sú zamerané na tvorbu C-N väzby a produkujú racemickú zmes D,L-amfetamínu a D,L-metamfetamínu. Pretože v priemysle sa kontroluje spotreba fenyl-2-propanónu, efedrín a pseudoefedrín sa tak stávajú častou východiskovú látkou pri nelegálnej syntéze metamfetamínu. Ich redukcíou s jodovodíkom a červeným fosforom, alebo s vodíkom a Pd/BaSO_4 priamo alebo cez medzi produkt chlórfeedrín vzniká metamfetamín v dobrých výťažkoch². Vo vzorkách vyrobených touto metódou boli detegované tieto nečistoty: fenyl-2-propanón, jód, chlórfeedrín, efedrín a anorganické zvyšky Pd a Ba. Ak je v syntéze použitý L-efedrín, ako produkt vznikne D-metamfetamín. Stanovením optickej aktivity výsledného produktu a dôkazom prítomnosti L-efedrínu môžeme potvrdiť tento spôsob syntézy. Amfetamín môže byť syntetizovaný touto istou metódou z fenylpropanolamínu.

Čistota neriedenej drogy býva v rozsahu od 90-99 %. Pre distribučné ciele sú obvyčajne zriedené na 40 % alebo nižšie koncentrácie so sacharidmi (glukóza, laktóza, sacharóza, manit), síranom horečnatým, glutamátom sodným, kofeínom, efedrínom, prokaínom, antipyrínom alebo fenazínom.

5. Analýza amfetamínov metódou HRGC a GC-MS

5.1. Kvalitatívna analýza

Kvalitatívna analýza amfetamínov sa v kriminalistických laboratóriách vykonáva takmer výlučne porovnaním nameraného hmotnostného spektra so spektrami štandardov²⁷. Spektrá amfetamínu a metamfetamínu sú zobrazené na obrázku 2. Po vypracovaní metodiky a jej verifikovaní je možné pri kvalitatívnej analýze použiť na charakterizáciu látok aj retenčné charakteristiky^{24,28-32}.



Obr. 2. Hmotnostné spektrá amfetamínu (a) a metamfetamínu (b)

5.2. Kvantitatívna analýza

5.2.1. Typ vzoriek

Stanovenie amfetamínov sa robí v rôznych maticiach. Jednou z možných matic je prášok alebo tablety amfetamínov^{29,31}, kde koncentrácia amfetamínov je v intervale od 30 až do 99 %.

Pri analýze krvi^{9,19} a plazmy³³ sa koncentrácia amfetamínov pohybuje v intervale od 2 po 1000 ng.ml⁻¹. Lineárny rozsah odozvy pri týchto maticiach je 14–2700 µg.l⁻¹ pre amfetamín a 15–3000 µg.l⁻¹ pre metamfetamín. Medza detekcie je 11 µg.l⁻¹ pre amfetamín a 13 µg.l⁻¹ pre metamfetamín a medza stanovenia je 22 µg.l⁻¹ pre amfetamín a 34 µg.l⁻¹ pre metamfetamín.

Najviac publikácií sa zaoberá stanovením amfetamínov v moči^{7,8,10-13,16,17,19,23,24,28,33-35}, kde ich koncentrácia býva v rozsahu od 0,05 mg.ml⁻¹ po 230 mg.ml⁻¹. Lineárny rozsah pri tejto matici je od 0,250 µg.ml⁻¹ (cit.^{7,8}), 0,04 µg.ml⁻¹ (cit.²⁸) po 10 µg.ml⁻¹ (cit.^{7,8}), 50 µg.ml⁻¹ (cit.²⁸). Medza detekcie je 0,01 µg.ml⁻¹ (cit.⁸) a 0,03 ng.ml⁻¹ (cit.²⁸) a medza stanovenia je 0,035 µg.ml⁻¹ (cit.⁸) a 0,07 µg.ml⁻¹ (cit.²⁸).

Amfetamíny sa stanovujú aj vo vlasoch^{14,16,20-22}, kde ich koncentrácia býva 0,1–4,8 ng.mg⁻¹ pre metamfetamín a 0,5–120 ng.mg⁻¹ pre amfetamín. Medzu detekcie uvádzajú na úrovni 0,01 ng.mg⁻¹ (cit.²¹).

5.2.2. Analýza bez derivatizácie a s derivatizáciou

Analýza amfetamínov sa uskutočňuje buď bez derivatizácie (cit.^{15,17,23,29,32,34}) alebo s derivatizáciou (cit.^{7-14,16,18-22,24-28,30,31,33,35-38}).

Analýza bez derivatizácie sa používa pri analýze „profilu“ (stanovenie charakteristických vedľajších zložiek vzorky)²⁹ amfetamínov alebo vtedy, keď analýze predchádza „headspace“ vzorkovanie¹⁵, „headspace/solid phase mikroextrakcia“^{17,32} alebo extrakcia tuhú fázou (SPE - solid phase extraction)²³.

Vo väčšine prípadov sa používa derivatizácia, a to z niekoľkých dôvodov. Aby sa v laboratóriu dosiahla maximálna efektívnosť, je potrebné, aby bolo možné nadávkovať ľubovoľný extrakt drogy do ľubovoľného GC-MS systému^{7,8}. Ideálne by bolo,

keby všetky chromatografické systémy boli vybavené rovnakým typom a dĺžkou kapilárnych kolón. Skúsenosti dokázali, že vyššia teplota kolóny prispieva podstatne k čistejšej - vysoko rozlišujúcej chromatografii a oba systémy, GC aj MS, sú menej náchylné k interferenciám. Používanie vyšších teplôt kolón vyžaduje derivatizáciu amfetamínov pre ich relatívne nízke teploty varu. Je potrebné vybrať vhodné derivatizačné činidlo, aby hmotnostné spektrum bolo vhodné pre identifikáciu.

Drogy amfetamínovej skupiny sa metódou GC-MS nestanovujú ľahko. Keď ich analyzujeme bez derivatizácie píky chvostujú a objavuje sa problém s citlivosťou^{10,11,28}. Iné ťažšie zahŕňajú znížovanie životnosti kolón, neprítomnosť vyšších hmotnostných fragmentov v hmotnostnom spektre derivátu a potenciálne interferencie s inými drogami^{11,13,35,37}.

Štruktúrne vzorce používaných derivatizačných činidiel sú zobrazené na obr. 3.

Derivatizácia amfetamínov sa robí nasledujúcimi postupmi a rôznymi derivatizačnými činidlami:

- Anhydrid kyseliny trifluóroctovej^{7,12,16,21,22,33,35} (TFA)
- K extraktu v chlórbutáne^{7,12,35}, izooktáne⁶, etylacetáte³³, k suchému zvyšku²¹ alebo v metylchloride²² sa pridá anhydrid kyseliny trichlórctovej a dimetylamínopyridín v chlórbutáne (0,1 µg.ml⁻¹) alebo len 100 % TFA (cit.^{12,16,21,35}) alebo zmes TFA a etylacetátu^{22,33} (1:1, v/v). Vzniknutá reakčná zmes sa inkubuje 15 min (cit.¹⁶), 20 min (cit.²²) alebo 30 min (cit.^{7,21,33,35}) pri teplote 40 °C (cit.²¹), 50 °C (cit.⁷) alebo 60 °C

(cit.¹⁶). V práci Thompsona²¹ sa inkubuje pri pôsobení mikrovlnného žiarenia po dobu 1 min. Po reakcii reakčnú zmes odparujeme do sucha pod prúdom dusíka^{7,21,22,33} alebo voľne na vzduchu^{12,16,35}. Suchý zvyšok sa rozpustí v etylacetáte^{12,35}, v etylacetáte s 1 % obsahom TFA (cit.¹⁶), v metanole^{12,35} aby s ním zreagovali zvyšky derivatizačného činidla alebo v izooktáne.⁷

V práci Hornbecka¹² produkty derivatizácie pred odparovaním premyjú s roztokom 1 ml vody, 1,5 ml 1,5 M uhlíkatého pufru (pH = 9,5) a 0,4 ml 1 N NaOH, zatrepú a nechajú inkubovať 15 min pri 50 °C. Po centrifugácii organickú fázou podrobili odparovaniu.

- Anhydrid kyseliny heptafluórbutánovej^{7,10,20,24,33-35} (HFBA)

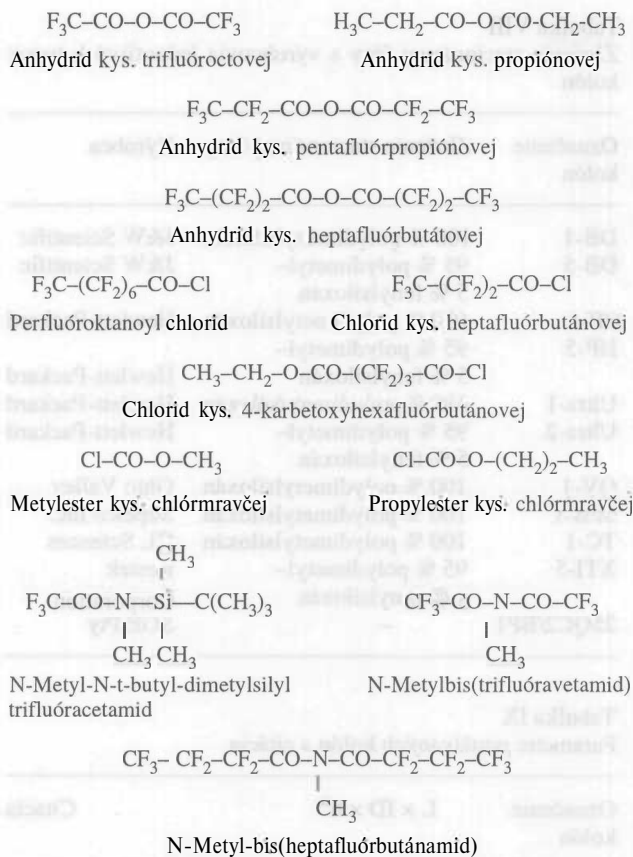
K extraktu vzorky sa pridá HFBA (cit.^{7,10,24,33-35}) alebo HFBA/etylacetát²⁰ (2:1, cit.^{7,24,33,35}) a inkubuje sa 20 min (cit.^{10,2}) alebo 30 min (cit.^{7,24,33,35}) pri teplote 30 °C (cit.^{10,2}), (cit.^{33,35}) alebo 70 °C (cit.^{10,20,24}). V práci Thompsona¹² sa inkubuje pri pôsobení mikrovlnného žiarenia po dobu 1 min. Po reakcii reakčnú zmes odparujeme do sucha pod prúdom dusíka^{12,16,35} alebo voľne na vzduchu^{10,12,35}, alebo odparovaním len zredukujeme objem. Suché zvyšky rozpustíme v metanole^{12,35} alebo v etylacetáte^{7,20,24,33}.

- Anhydrid kyseliny pentafluórpropiónovej^{12,18,26,35} (PFPA)

K extraktu vzorky v chlórbutáne^{12,35} a v suchom zvyšku^{18,26} sa pridá PFPA^{12,18,26,35} a inkubuje sa 20 min (cit.²⁶), 30 min (cit.³⁵) alebo 40 min (cit.¹⁸) pri teplote 55 °C (cit.²⁶), 60 °C (cit.³⁵) alebo 80 °C (cit.¹⁸). V práci Thompsona¹² sa inkubuje pri pôsobení mikrovlnného žiarenia po dobu 1 min. Po skončení reakcie reakčnú zmes odparujeme do sucha voľne na vzduchu^{12,26,35} alebo pod prúdom dusíka¹⁸. Zvyšok po odparení sa rozpustí v metanole^{12,26,35} alebo etylacetáte^{12,26,35}.

- Perfluóroktanoyl chlorid^{6,9,16} (PFOC)

K extraktu amfetamínov v cyklohexáne^{9,12,35} pridáme PFOC^{9,12,35} a inkubujeme 30 min (cit.^{9,35}) pri teplote 60 °C



Obr. 3. Štruktúrne vzorce derivatizačných činidiel

(cit.^{9,35}). V práci Thompsona¹² sa inkubuje pri pôsobení mikrovlnného žiarenia po dobu 1 min. Po skončení reakcie reakčnú zmes odparujeme do sucha^{9,12,35} a zvyšok rozpustíme v butylacetáte⁹ alebo metanole^{12,35}.

- Chlorid kyseliny 4-karbetoxyhexafluórbutánovej⁸¹³

Extrakt amfetamínov v 1-chlórbutáne sa derivatizuje pridaním roztoku chloridu kyseliny 4-karbetoxyhexafluórbutánovej v 1-chlórbutáne (1:100, v/v), pretrepaním a inkubáciou 30 min pri 50-60 °C. Konverzia nadbytku chloridu kyseliny na dietyléter sa uskutočňuje pridaním bezvodého etanolu, zamiešaním a inkubáciou 30 min pri 50-60 °C. Po odparení zvyšok rozpustíme v etylacetáte alebo acetonitrile.

- N-Metylbis(trifluóracetamid)²⁸

Derivatizácia prebieha priamo v kolóne. Do prvej vložky nalejeme roztok vzorky, do druhej derivatizačné činidlo. Zahrievame v „head space“ zariadení a po ustálení rovnováhy nastrekneme pary vzorky a hneď za tým pary derivatizačného činidla zo slučky šesťcestného ventilu. Metóda vyžaduje úpravu „head space“ zariadenia.

- N-Metyl-N-t-butyl-dimetylsilyltrifluóracetamid¹¹
(MTBSTFA)

Možné extrakčné rozpúšťadlá sú metylénchlorid, etyléndichlorid, etanol, cyklohexán. K zakonzentrovanému extraktu pridáme dimetylformamid. Potom zmes podrobíme zahrievaniu a vyparujeme dovtedy, kým na spodku vložky nezostane tenký film rozpúšťadla. Potom pridáme acetonitril spolu s MTSBFA (2:3, v/v), vložku uzavrieme a inkubujeme pri

90 °C 15 min a potom necháme pri laboratórnej teplote stáť 2 hod alebo viac.

- Zmes anhydridu kyseliny pentafluórpropiónovej a pentafluórpropanolu¹⁴ (PFP + PFPOH)

Po vyparení etylacetátu z extraktu sa k suchému zvyšku pridá PFP a PFPOH (5:1). Zmes sa zahrieva 30 min pri 70 °C. Po skončení derivatizácie sa zmes suší pod prúdom dusíka a suchý zvyšok sa rozpustí v etylacetáte.

- Metyléster kyseliny chlórmmravčej¹⁶

Vzorka sa preniesie do skúmavky a upraví sa pH na hodnotu 9,0 použitím 1 M uhličitanového pufru. Pridá sa vnútorný štandard, izooktán a derivatizačné činidlo. Potom sa zmes pretrepáva pri laboratórnej teplote 10 min. Po derivatizácii a extrakcii sa organická fáza preniesie do novej skúmavky a pridá sa metanol nasýtený s KOH, aby sa odstránili nezreagované zvyšky derivatizačného činidla.

- Propylester kyseliny chlórmmravčej²⁷

Amfetamín, metamfetamín a iné aminy boli extrahované so zmesou hexán/chloroform (3:1, v/v) po alkalizácii s uhličitanovým tlmivým roztokom (pH = 9,0) 1 M-NaOH. Po extrakcii sa k organickej fáze pridalo derivatizačné činidlo a zmes sa nechala stáť pri laboratórnej teplote 10 min. Organickú fázu potom zakonzentrovali odparovaním.

- Amid kyseliny N-metyl-bis-heptafluórbutánovej²⁵ (MBHFB A)

K suchému extraktu sa pridalo butyronitril, zmes sa preniesla do vložky a vložka sa uzavrela. K zmesi sa pridalo derivatizačné činidlo a zmes zahrievali 20 min pri teplote 80 °C.

- Chlorid kyseliny heptafluórbutánovej¹⁹

Vzorka spolu s vnútorným štandardom bola vysušená a derivatizovaná s činidlom v etylacetáte 30 min pri 80 °C. Po derivatizácii rozpúšťadlo bolo odparené do suchého zvyšku pod prúdom dusíka pri laboratórnej teplote. Konečný zvyšok rozpustili v etylacetáte.

- Anhydrid kyseliny propiónovej²¹ (PSA)

Suchý extrakt bol rozpustený v PS A a zmes bola inkubovaná pri 100 °C 1 hod. Prebytok PSA bol odparený pri zníženej tlaku pri teplote 90 °C. Zvyšok bol rozpustený v etylacetáte obsahujúci 1 % PSA.

5.2.3. Dávkovacie systémy

Pri analýze amfetamínov sa takmer výlučne používajú split-splitless dávkovacie systémy^{7,8,10,11,13,22,24,31,33,35,38} a to buď v split móde (cit.^{7,8,10,13,28,30}) alebo splitless (cit.^{11,14,22,24,27,29,31,33,35,38}). V jednom prípade³² bol použitý injektor s programovanou teplotou.

Pri práci v split móde sa používa deliaci pomer v závislosti od koncentrácie analytu vo vzorke. Pre stanovenia v moči sa deliaci pomer nastavuje na hodnotu 10:1 (cit.^{7,13}) až 20:1 (cit.^{8,10}) a pri stanovení amfetamínu v tuhých vzorkách na hodnotu 50:1 (cit.³⁰).

Pri práci v splitless móde sa split ventil otvára v čase od 0,5 min po 1 min^{11,14,16,19,20,31,33} alebo čas otvorenia je uvedený^{15,18,19,21,22,24,25,27,29}.

Teplota dávkovacieho systému sa nastavuje v rozmedzí od 170 °C do 280 °C podľa použitého derivatizačného činidla.

V niektorých prácach^{4,6} autori pri dávkovaní použili sklenú zmiešavaciu komoru naplnenú do výšky 0,6 cm s 3 % SP 2250 na supelcoporte 100/120 mesh.

Ako nosný plyn sa používa He (cit.^{7-11,14,16,18-24,26,29,31,33}) s prietokom od 0,8 ml.min⁻¹ po 1,2 ml.min⁻¹ výnimočne až do

1,7 ml.min⁻¹ (cit.¹⁹) pri „medium bore“ kolónach a 7 ml.min⁻¹ pri „wide bore“ kolóne²⁹ a H₂ (cit.^{30,32}) s tlakom na hlavce kolóny okolo 12 psi (1 psi = 6,89476 kPa).

5.2.4. Kolóny

V práci Hornbecka a Czarneho⁷ sa uvádza, že do roku 1989 boli publikované len dve práce zaoberajúce sa analýzou derivatizovaného amfetamínu kapilárnou plynovou chromatografiou^{39,40} a jedna z nich analyt stanovovala v sére potkanov a nezahŕňala stanovenie metamfetamínu³⁹. Ostatné práce uvádzali použitie náplňových kolón.

Od roku 1989 sa oveľa častejšie používajú na analýzu amfetamínov kapilárne kolóny^{7,38}. Pri analýze amfetamínov sa používajú kapilárne kolóny z taveného kremeňa typu WCOT (wall coated open tubular) s dĺžkami 12 m (cit.⁸), 12,5 m (cit.¹¹), 15 m (cit.^{7,8,13,16,29}), 20 m (cit.^{24,31}), 25 m (cit.^{5,17,25,27,35,33}) a 30 m (cit.^{14,16,19-21,23,24,28,32}). Kolóny pri analýze amfetamínov v krvi, plazme, moči a vo vlasoch majú vnútorný priemer 0,20 mm (cit.^{8,15,25,27,35}), 0,25 mm (cit.^{7,8,11,13,14,16,19-21,23,24,32}) a 0,32 mm (cit.^{24,28,31-33}) („medium bore“ kolóny). Kapacita kolón s vnútorným priemerom 0,20-0,25 mm je nižšia ako 100 ng pre jednu zložku a s vnútorným priemerom 0,32 mm do 500 ng na jednu zložku. Pri analýze profilu nečistôt metamfetamínu²⁹ bola použitá kolóna s vnútorným priemerom 0,53 mm („wide bore“ kolóna) s kapacitou 2000 ng pre jednu zložku. Používa sa nepolárna stacionárna fáza zložená zo 100 % polydimetylsiloxánu^{8,11,17,28,29,32} častejšie však z 95 % polydimetyl-5 % difenylsiloxánu^{7,8,13-16,19-21,23-25,27,31-33,35}. Hrúbka stacionárnej fázy značne kolíše od 0,17 μm (cit.^{24,31}) až po 4,0 μm (cit.³²). Bežne sa však používajú kolóny s hrúbkou stacionárnej fázy 0,25 μm (cit.^{7,8,13,14,16,19,21,23-25,30,32}) a 0,33 μm (cit.^{8,15,17,25,27,35}). Kapilárne kolóny pochádzajú od rôznych výrobcov a z toho vyplýva ich rôzne označenie: DB-1 (cit.^{28,29}), DB-5 (cit.^{7,8,13,16,23-25}), HP-1 (cit.^{11,18}), HP-5 (cit.^{14-16,20,21,32,33}), Ultra-1 (cit.^{12,24,27,31,35}), Ultra-2 (cit.^{12,24,27,31,35}), OV-1 (cit.¹⁷), SPB-1 (cit.³²), TC-1 (cit.^{22,26}), XTI-5 (cit.¹⁹) a 25QC2/BP1 (cit.³⁰).

Zloženie stacionárnej fázy a výrobca kolóny je uvedený v tabuľke VIII a parametre použitých kolón spolu s citáciami sú uvedené v tabuľke IX.

5.2.5. Detekčné systémy

Na detekciu amfetamínov sa používajú hmotnostne detektory (MSD) s ionizáciou nárazom elektrónov⁷⁻²⁷ a chemickou ionizáciou^{27,35}, ďalej plameňovoionizačný detektor^{7,8,28,32} FID a „nitrogen phosphorus“ detektor^{16,33} (NPD).

Autori uvádzajú hodnoty teplot plameňovoionizačného detektora v rozmedzí 250-280 °C. Teplota NPD detektora bola 300 °C (cit.^{16,33}) a prietoky jednotlivých plynov³³ boli nasledovné: dusík 27 ml.min⁻¹, vodík 37 ml.min⁻¹ a vzduch 118 ml.min⁻¹.

Pri použití hmotnostného detektora pri kvantitatívnej analýze sa pracuje v móde „full scan“^{15-17,23,24,26,27,35} (SCAN) alebo v móde „selected ion monitoring“^{7,14,18,22} (SIM). Módus scan sa využíva aj na získanie spektier derivátov pre potvrdenie identity analytov. Teploty prevodníka sa nastavujú na hodnoty 200 °C (cit.¹⁰), 250 °C (cit.¹¹), 270 °C (cit.²⁴) a 280 °C (cit.^{7,9,15,21,22}) a energia elektrónov na hod-

Tabuľka VIII

Zloženie stacionárnej fázy a výrobcovia jednotlivých typov kolón

Označenie kolón	Zloženie stacionárnej fázy	Výrobca
DB-1	100 % polydimetylsiloxán	J&W Scientific
DB-5	95 % polydimetyl- 5 % fenylsiloxán	J&W Scientific
HP-1	100 % polydimetylsiloxán	Hewlett-Packard
HP-5	95 % polydimetyl- 5 % fenylsiloxán	Hewlett-Packard
Ultra-1	100 % polydimetylsiloxán	Hewlett-Packard
Ultra-2	95 % polydimetyl- 5 % fenylsiloxán	Hewlett-Packard
OV-1	100 % polydimetylsiloxán	Ohio Valley
SPB-1	100 % polydimetylsiloxán	Supelco Inc.
TC-1	100 % polydimetylsiloxán	GL Sciences
XTI-5	95 % polydimetyl- 5 % fenylsiloxán	Restek Corporation
25QC2/BP1	-	SGEPty

Tabuľka IX

Parametre používaných kolón a citácia

Označenie kolón	L x ID x h ^a	Citácia
DB-1	30 m x 0,32 mm x 0,25 mm	28
DB-1	15 m x 0,53 mm x 1,50 mm	29
DB-5	15 m x 0,25 mm x 0,25 mm	7,8,13
DB-5	15 m x 0,25 mm x 1,00 mm	16
DB-5	30 m x 0,25 mm x 0,25 mm	23,24
DB-5	25 m x 0,20 mm x 0,33 mm	25
HP-1	12,5 m x 0,25 mm x -	11
HP-5	30 m x 0,25 mm x 0,25 mm	14,16
HP-5	25 m x 0,20 mm x 0,33 mm	15
HP-5	25 m x 0,32 mm x 0,52 mm	33
HP-5	30 m x 0,25 mm x -	20
HP-5	30 m x 0,25 mm x 0,25 mm	21,32
Ultra-1	12 m x 0,20 mm x 0,33 mm	8
Ultra-2	25 m x 0,20 mm x 0,33 mm	27,35
Ultra-2	20 m x 0,32 mm x 0,17 mm	24,31
OV-1	25 m x - x 0,33 mm	17
SPB-1	30 m x 0,32 mm x 4,00 mm	32
TC-1	20 m x 0,25 mm x 0,25 mm	22,26
XTI-5	30 m x 0,25 mm x 0,25 mm	19
25QC2/BP1	- x - x 0,25 mm	30

^aL - dĺžka kolóny, ID - vnútorný priemer kolóny, h - hrúbka filmu stacionárnej fázy

notu 70 eV. Pri hmotnostnom detektore s chemickou ionizáciou sa ako reakčný plyn používa metán^{27,35}.

Fragmentové ióny používané pri kvantitatívnej analýze derivatizovaných amfetamínov v SIM móde sú pre jednotlivé derivatizačné činidlá uvedené v tab. X.

Tabuľka X

Používané fragmentové ióny derivatizovaných amfetamínov v kvantitatívnej analýze

Derivatizačné činidlo	m/z Derivatizovaného		Citácia
	amfetamínu	metamfetamínu	
Anhydrid kyseliny trifluóroctovej	91,118,188	91,118,202	7
	91,118,140,231		21
	118,140		22
	140	154	12
Anhydrid kyseliny heptafluórbutátovej	240,244	254,258	7
	240	254	12,20
Anhydrid kyseliny pentafluórpropiónovej	190,118	204,118	12,18,2
	190,118	204,160	9,14
Chlorid kyseliny 4-karboxyhexafluórbutánovej	248,266,294	262,280,308	8,13
	Perfluóroktanoyl chlorid	118,440	118,454
	440	454	12
N-Metyl-N-t-butyl dimetylsilyl trifluóracetamid	100,158,192	172,173,206	11
Chlorid kyseliny heptafluórbutánovej	118,240	118,210,254	19
Anhydrid kyseliny propiónovej	44,91,100,118,191		21
Amid kyseliny N-metyl-bis-heptafluórbutánovej	240,118,91	254,210,118	25
N-Trifluóracetyl-1-prolyl chlorid	237,241	251,255	10,31

5.2.6. Metódy kvantitatívnej analýzy

Pri kvantitatívnej analýze amfetamínov sa používa metóda kalibračnej krivky^{15,17,21,23,24,28,32}, metóda vnútorného štandardu^{7-14,16,18-20,22,25-27,29-31,33,35} a metóda štandardného prídavku²⁶.

Pri metóde kalibračnej krivky a metóde štandardného prídavku štandardy amfetamín sulfátu a metamfetamín hydrochloriduboli zakúpené od firiem Sigma Chemical (St. Louis, MN), Dainippon (Osaka, Japan) alebo Altech (State College, PA).

Pri metóde vnútorného štandardu sa najčastejšie používali deutériované štandardy^{8-11,13,14,16,18,20,25-27,33,35} amfetamín-d6, amfetamín-d3, amfetamín-d5, metamfetamín-d9, metamfetamín-d8, 4-metoxymetamfetamín-d5 (cit.¹⁹) z vlastnej syntézy a amfetamín-d4 (cit.²²) taktiež z vlastnej syntézy. Ďalej sa používajú 2-metyl fenetylamín, N-metyl fenetylamín, tetratriakontán²⁹, difenylamín³⁰, 4-fenylbutylamín³¹. Deutériované štandardy, ktoré nepochádzajú z vlastnej syntézy dodali firmy Radian (Austin, USA), MSD Isotopes alebo Merck Sharp&Dohm. 2-metyl fenetylamín, N-metyl fenetylamín, 4-fenylbutylamín pochádzajú od firmy Aldrich (Milwaukee, WI).

6. Záver

V práci sú zhrnuté biologické a fyzikálno-chemické charakteristiky amfetamínov a prehľad vhodných metód na analýzu amfetamínov v biologickom materiáli (v moči, v krvi, vo vlasoch) a v drogovom materiáli kapilárnou GC a GC-MS. Z rozsiahleho množstva publikovaných prác vyplýva, že pri stanovovaní amfetamínov je potrebná derivatizácia, aby sa eliminovalo chovstovanie pík, čím sa dosiahne zlepšenie chromatografického tvaru pík a zvýši sa citlivosť detektora.

Vzhľadom na zložitosť a zdĺhavosť niektorých derivatizačných postupov a nepriaznivý vplyv derivatizačných činidiel

na životnosť kolóny bude výskum v tejto oblasti ďalej pokračovať.

LITERATURA

- Lukas S. E.: *Amphetamines. Danger in the Fast Lane*. Burke Publishing Company Limited, London 1985.
- Recommended Methods for Testing Amphetamine and Methamphetamine*. Manual for use by National Narcotics Laboratories, ST/NAR/9, United Nations, New York 1987.
- Recommended Methods for the Detection and Assay of Heroin, Cannabinoids, Cocaine, Amphetamine, Methamphetamine and Ringsubstituted Amphetamine Derivatives in Biological Specimens*. Manual for use by National Laboratories, ST/NAR/27, United Nations, New York 1995.
- De Cresce R., Mazura A., Lifshitz M., Tilson J.: *Drug Testing in the Workplace*. American Society of Clinical Pathology Press, Chicago 1989.
- Cho A. K.: *Science* 249, 613 (1990).
- Mann J.: *Jedy, drogy, léky*. Academia, Praha 1996.
- Hornbeck C. L., Czarny R. J.: *J. Anal. Toxicol.* 13, 44 (1989).
- Czarny R. J., Hornbeck C. L.: *J. Anal. Toxicol.* 13, 257 (1989).
- Gjerde H., Hasvold I., Pettersen G., Christophersen A. S.: *J. Anal. Toxicol.* 17, 65 (1993).
- Ellerbe P., Long T., Welch M. J.: *J. Anal. Toxicol.* 17, 165 (1993).
- Melgar R., Kelly R. C.: *J. Anal. Toxicol.* 17, 399 (1993).
- Thompson W. C., Dasgupta A.: *Clin. Chem.* 40, 1703 (1994).
- Paul B. D., Past R. P., McKinley R. M., Foreman J. D.,

- McWhorter L. K., Snyder J. J.: *J. Anal. Toxicol.* 18, 331 (1994).
14. Kintz P., Cirimele V., Tracqui A., Mangin P.: *J. Chromatogr. B* 670, 162 (1995).
 15. Wang S. M., Ling Y. Ch., Tsai L. Ch., Giang Y. S.: *J. Chromatogr. A* 715, 325 (1995).
 16. Jonsson J., Kronstrand R., Hatanpää M.: *J. Forensic Sci.* 41, 148 (1996).
 17. Centini F., Masti A., Comparini I. B.: *Forensic Sci. Int.* 83, 161 (1996).
 18. Rothe M., Pragst F., Spiegel K., Harrach T., Fischer K., Kunkel J.: *Forensic Sci. Int.* 84, 111 (1997).
 19. Hara K., Kashimura S., Hieda Y., Kageura M.: *J. Anal. Toxicol.* 21, 54 (1997).
 20. Kintz P., Cirimele V.: *Forensic Sci. Int.* 84, 151 (1997).
 21. Rohrich J., Kauert G.: *Forensic Sci. Int.* 84, 179 (1997).
 22. Kikura R., Nakahara Y.: *J. Anal. Toxicol.* 21, 291 (1997).
 23. Lee M. R., Yu S. Ch., Lin Ch. L., Yeh Y. Ch., Chen Y. L., Hu S. H.: *J. Anal. Toxicol.* 21, 278 (1997).
 24. Meyer E., Van Bocxlaer J. F., Dirinck I. M., Lambert W. E., Thienpont L., De Leenheer A. P.: *J. Anal. Toxicol.* 21, 236 (1997).
 25. Lewis D., Moore Ch., Morrissey P., Leikin J.: *Forensic Sci. Int.* 84, 123 (1997).
 26. Nakahara Y., Kikura R., Yasuhara M., Mukai T.: *Forensic Sci. Int.* 84, 157 (1997).
 27. Dasgupta A., Hart A. P.: *J. Forensic Sci.* 42, 106 (1997).
 28. Tsuchihashi H., Nakajima K., Nishikawa M., Shiomi K., Takahashi S.: *J. Chromatogr.* 467, 227 (1989).
 29. Tanaka K., Ohmori T., Inoue T., Seta S.: *J. Forensic Sci.* 39, 500 (1994).
 30. Trenerry V. C., Robertson J., Wells R. J.: *J. Chromatogr. A* 708, 169 (1995).
 31. Van Bocxlaer J. F., Lambert W. E., Thienpont L., De Leenheer A. P.: *J. Anal. Toxicol.* 21, 5 (1997).
 32. Lord H. L., Pawliszyn J.: *Anal. Chem.* 69, 3899 (1997).
 33. Cheung S., Nolte H., Otton S. V., Tyndale R. F., Wu P. H., Sellers E. M.: *J. Chromatogr. B* 690, 11 (1997).
 34. Blandford D. E., Desjardins P. R. E.: *Clin. Chem.* 40, 145 (1994).
 35. Dasgupta A., Gardner C.: *J. Forensic Sci.* 40, 1077 (1995).
 36. Maurer H. H.: *J. Chromatogr. B* 580, 3 (1992).
 37. ElSohly M. A., Stanford D. F., Sherman D., Shah H., Bernot D. and Turner C. E.: *J. Anal. Toxicol.* 16, 109 (1992).
 38. Romberg R. W., Needlman S. B., Snyder J. J., Greedan A.: *J. Forensic Sci.* 40, 1100 (1995).
 39. Eiceman G. A., Leasure C. S., Selim S. L.: *J. Chromatogr. Sci.* 22, 509 (1984).
 40. Mulé S. J., Casella G. A.: *J. Anal. Toxicol.* 12, 102 (1988).

P. Korytár^a, E. Matisová^a, and P. Čellár^b (^a*Faculty of Chemical Technology, Slovak Technical University, Bratislava*, ^b*Forensic Institute of Slovak Police, Bratislava, Slovak Republic*): **Amphetamines and Their Analysis by Capillary Gas Chromatography and Gas Chromatography in Combination with Mass Spectroscopy**

History of use and abuse of amphetamines, their biological, physical and chemical properties and a survey of amphetamine methods of analysis by capillary GC and by GC-MS are presented. The methods are classified according to the sample matrix (powder, tablets, blood, plasma, urine and hair). Sample preparation (headspace analysis, headspace/solid phase microextraction, solid phase extraction, derivatization), injection, separation and detection systems. The use of various derivatization reagents and derivatization procedures is discussed in detail. The paper is based on 40 references.