

ОНТҮСТІК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Онтыстық Казақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	55/ 1 стр из 65

ЛЕКЦИОННЫЙ КОМПЛЕКС

Дисциплина

Код дисциплины

Название и шифр ОП

Объем учебных часов/кредитов

Курс и семестр изучения

Объем лекции

«Токсикологическая химия-2»

TH 5201-2

6B10106 «Фармация»

120 часов (4 кредита)

5, 10

10

Шымкент, 2025

ОНТҮСТИК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Онтыстык Казахстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии	55/ 1 стр из 65
Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	

Лекционный комплекс разработан в соответствии с рабочей учебной программой дисциплины «Токсикологическая химия-2» и обсужден на заседании кафедры фармацевтической и токсикологической химии

Протокол № 25а, 26.06.2025г.

Зав.кафедрой, профессор

С.Гор

Ордабаева С.К.

ОНДҮСТИК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Казақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	55/ 1 стр из 65

Лекция № 1

1. Тема 1 – Группа веществ, изолируемых из биологического материала подкисленным спиртом или подкисленной водой («лекарственные яды»).

2. Цель: Ознакомить студентов с современными общими и частными методами изолирования лекарственных ядов из биологических объектов.

3. Тезисы лекции

К группе веществ, изолируемых из биологического материала экстракцией и сорбцией (их еще называют «нелетучие» яды), относятся соединения кислотного, нейтрального и основного характера, различные по своему химическому строению. Номенклатура их очень велика и постоянно расширяется по мере синтеза новых соединений. Наибольшее токсикологическое значение в настоящее время имеют:

Вещества кислотного характера:

1. Органические кислоты: бензойная, салициловая, ацетилсалициловая, пикриновая.
2. Барбитураты: барбитал, фенобарбитал, барбамил, этаминал-На, бутобарбитал, гексенал, бензонал, бензобамил, циклобарбитал и др.

Вещества нейтрального характера:

1. Небарбитуровые снотворные: ноксирон, тетридин.
2. Сердечные гликозиды.
3. Многоатомные фенолы: гидрохинон, пирогаллол.
4. Полинитропроизводные: м-динитробензол, динитротолуолы, тринитротолуол.
5. Производные анилина и п-аминофенола: фенацетин, п-фенилендиамин.

Вещества основного характера:

1. Алкалоиды: производные пиридина и пиперидина (жидкие алкалоиды), тропана (атропин, кокаин и др.), хинолина (хинин), изохинолина (опийные), индола (стрихнин, бруцин, резерпин), пурина (кофеин, теобромин, теофиллин), пирролизидина (платифиллин, саррацин), ациклические (эфедрин), стероидоподобные (вератрин) и неустановленного строения (аконитин).
2. Синтетические вещества основного характера: антипирин, амидопирин - производные пиразола, промедол - производное пиперидина, новокаин и дикаин - производные аминокислот ароматического ряда, изониазид, производные фенотиазина - аминазин и др., производные бензодиазепина и т.д.

ОБЩИЕ И ЧАСТНЫЕ МЕТОДЫ ИЗОЛИРОВАНИЯ

В зависимости от поставленной перед экспертом-химиком задачи, судебно-химическое исследование может носить общий или частный характер, т.е. анализ может быть ненаправленным (общим) или направленным (частным).

Частное исследование предусматривает проведение анализа на какое-то определенное вещество или группу веществ. Например, на производные барбитуровой кислоты, на

ОНТҮСТИК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Онтыстык Казахстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	55/ 1 стр из 65

алкалоиды или даже на одно конкретное вещество. При частном исследовании метод изолирования подбирается с учетом физико-химических свойств того соединения (или группы соединений), на которое производится анализ.

Общий анализ включает исследование на несколько групп веществ (3 группы), подлежащих обязательному судебно-химическому исследованию, в том числе и на группу «нелетучих» ядов. В этом случае используются общие для всей группы веществ (универсальные) методы изолирования.

Общими методами изолирования «нелетучих» ядов являются:

1. Изолирование этанолом, подкисленным щавелевой кислотой (метод Стаса-Отто).
2. Изолирование водой, подкисленной щавелевой кислотой (метод Васильевой).

Частные методы изолирования :

1. изолирование барбитуратов подщелоченной водой (метод американского ученого Валова)
2. изолирование алкалоидов водой, подкисленной серной кислотой (по В.Ф.Крамаренко)
3. другие методы для отдельных групп веществ

4. Иллюстративный материал: слайды, таблицы

5. Литература: Приложение №1

6. Контрольные вопросы (обратная связь)

1. Токсикологическое значение
2. Клиническая и паталого-анатомическая картина отравления
3. Сущность метода Стасс-Отто и Васильевой. Преимущества и недостатки методов
4. Метод Крамаренко. В чем заключается эффективность данного метода?
5. Сравнительная характеристика методов изолирования производных кислоты барбитуровой.

Лекция № 2

1. Тема 2 – Группа веществ, изолируемых из биологического материала подкисленным спиртом или подкисленной водой («лекарственные яды»).

2. Цель: Ознакомить обучающихся с методиками проведения судебно-медицинских экспертиз химико-токсикологических исследований производных кислоты барбитуровой, выделенных из биологического материала, в соответствии с НД.

3. Тезисы лекции

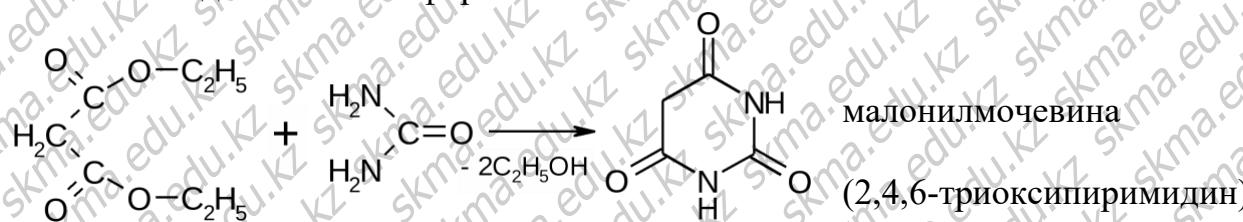
Из лекарственных веществ, экстрагируемых органическим растворителем из кислого раствора, наибольшее токсикологическое значение имеют производные барбитуровой кислоты. Эта группа веществ подлежит обязательному судебно-химическому исследованию при проведении общего судебно-химического анализа.

Первый из барбитуратов – барбитал- синтезирован в 1881 г. В медицинскую практику производные барбитуровой кислоты были введены в 1903 г. Фишером

и Мерингом. В настоящее время синтезировано около 2500 производных, из которых в нашей стране применяется.

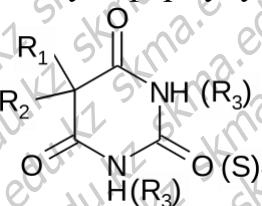
Токсикологическое значение производных барбитуровой кислоты очень велико. С одной стороны, барбитураты обладают высокой фармакологической активностью, поэтому их передозировка может привести к различным осложнениям и даже вызвать смертельный исход. С другой - они достаточно доступны для населения, т.к. широко используются в медицинской практике в качестве снотворных, седативных, противосудорожных средств. В технике и в фотографии применяются как ингибиторы и антиоксиданты, в химических лабораториях как реагенты. При длительном применении они вызывают пристрастие и привыкание, т.е. барбитуровую токсикоманию и наркоманию (барбамил и этаминал-натрий официально отнесены к наркотическим средствам). Все эти факторы приводят к тому, что производные барбитуровой кислоты занимают одно из первых мест по количеству вызываемых ими отравлений.

В основе химического строения барбитуратов лежит кольцо малонилмочевины, или барбитуровой кислоты, которая может быть получена при взаимодействии мочевины и диэтилового эфира малоновой кислоты.



Барбитуровая кислота является циклическим уреидом и может рассматриваться как производное пиримидина (2,4,6 - триоксипирамидин). Атомы водорода метиленовой группы в 5-ом положении пиримидинового кольца, а также водород, стоящий у атомов азота в 1-ом и 3-ем положениях, подвижны и способны замещаться различными органическими радикалами, атом кислорода в положении 2 также способен замещаться на атом S. На этих свойствах и основан синтез производных барбитуровой кислоты.

Общую формулу барбитуратов можно изобразить следующим образом:



где $\text{R}_1, \text{R}_2, \text{R}_3$ - радикалы, содержащие от 1 до 7 атомов углерода.

В зависимости от заместителей в 1(3) и 5 положениях пиримидинового кольца, а также наличия во 2-ом положении атома O и S все барбитураты можно разделить на 3 группы

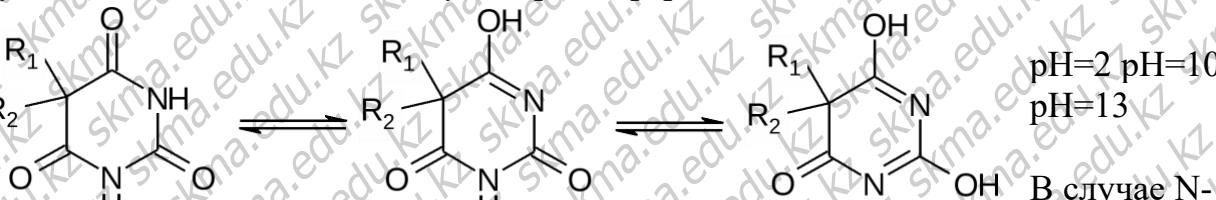
По физическим свойствам все интересующие в настоящее время судебно-химическую экспертизу барбитураты представляют собой белые кристаллические вещества без запаха, горького вкуса, лишь тиопентал имеет желтоватый оттенок и обладает слабым запахом серы.

Кислотные /молекулярные/ формы барбитуратов растворимы в эфире, хлороформе, спирте и некоторых других органических растворителях, натриевые производные - в воде.

Барбитураты имеют высокие температуры плавления. $>100^{\circ}\text{C}$ и способны возгоняться без разложения, что используется для их очистки от посторонних примесей при выделении из биологического материала.

Лактим-лактамная таутомерия барбитуратов.

В водных растворах барбитураты обладают кислотными свойствами (pKa 7-8). Это объясняется тем, что барбитураты в зависимости от pH среды способны существовать в нескольких таутомерных формах:



В случае N -замещенных производных возможно образование только лактимной структуры, т.к. второй атом N замещен радикалом (R_3).

Кислотные свойства обусловлены тем, что атомы водорода гидроксильных групп способны отщепляться в виде ионов, подобно тому, как это происходит в фенольном гидроксиле, и замещаться на атом Me , образуя солеобразные соединения.

На лактим-лактамной таутомерии барбитуратов основано получение их натриевых производных, которые, в отличие от лактамных форм, хорошо растворяются в воде (медиал - производное барбитала, барбамил, этаминал-натрий, гексенал, тиопентал). В то же время, Na -производные плохо растворяются в органических растворителях, таких, как эфир, хлороформ, бензол, дихлорэтан и других. Лактамные формы, наоборот, хорошо растворимы в указанных органических растворителях, спирте, щелочах (в последних за счет образования Na -производных).

Способность барбитуратов существовать в нескольких таутомерных формах и различная растворимость этих форм в воде и органических растворителях используется для их изолирования и очистки при выделении из биологического материала.

На этом же свойстве барбитуратов основано исследование их в УФ-области спектра, т.к. таутомерные формы обладают различным светопоглощением.

ОНТҮСТІК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Қазақстан медицина академиясы» АҚ	 SKMA —1979—	SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	55/ 1 стр из 65	

Химико-токсикологическое исследование биологического материала на наличие производных барбитуровой кислоты состоит из этапов:

1. Изолирование из объекта
2. Очистка полученного извлечения
3. Идентификация
4. Количественное определение

1 Этап. Выбор **метода изолирования** определяется характером объекта исследования и поставленными перед химиком задачами.

Для целей **клинического исследования** в случае острых отравлений, а также в судебно-химической лаборатории, когда объектами исследования являются промывные воды желудка, диализат, небольшое количество крови и мочи, извлечение барбитуратов проводится непосредственно экстракцией органическим растворителем. В **качестве экстрагентов используются эфир**, хлороформ, дихлорэтан и др. Количество извлеченных барбитуратов составляет 70-90%. Однако, непосредственная экстракция, как правило, дает извлечения, загрязненные соэкстрактивными веществами (жирами, белками, пигментами) и требует последующей дополнительной очистки.

При исследовании трупного материала (внутренних органов)

а) при *общем (ненаправленном)* судебно-химическом анализе изолирование барбитуратов проводится подкисленным спиртом и подкисленной водой. Последующая экстракция их из кислого водного раствора осуществляется органическим растворителем, чаще эфиром или хлороформом. Максимальные количества барбитуратов извлекаются в интервале pH 1-3, т.к. при данном значении pH барбитураты существуют в молекулярной форме, которая хорошо растворяется в органических растворителях и ограниченно в воде. Изолирование подкисленной водой и подкисленным спиртом обеспечивает выход барбитуратов порядка 25-30% (некоторые барбитураты изолируются этанолом на 50% - барбамил, этаминал-На, фенобарбитал).

б) При специальном (частном, направленном) исследовании на производные барбитуровой кислоты проводят извлечение подщелочной водой по методу Валова. Выход барбитуратов > 50% при достаточной чистоте выделенных веществ. Существует ряд методов, основанных на изолировании барбитуратов органическими растворителями (ацетонитрилом, ацетоном, хлороформом, смесью спирта и хлороформа) с последующей очисткой выделенных веществ.

ОНТҮСТІК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Қазақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	55/ 1 стр из 65

2 Этап. Очистка извлеченных барбитуратов от балластных веществ.

Как правило, барбитураты, выделенные из биологического материала, содержат примеси посторонних веществ, которые извлекаются совместно с барбитуратами и являются нормальными компонентами организма (жиры, белки, пигменты, дубильные, смолобразные вещества и др.). Соэкстрактивные (балластные) вещества мешают дальнейшей идентификации и определению барбитурата.

Выбор метода очистки зависит, в основном, от количества изолированного вещества и до некоторой степени от его химического строения. При больших количествах барбитуратов чаще используют экстракционный метод очистки и микросублимацию (возгонку).

Экстракционная очистка основана на способности барбитуратов к имидо-имидольной таутомерии и на различной растворимости имидной и имидольной форм в воде и органических растворителях. Используя реэкстракцию барбитурата раствором гидроксида натрия из органической фазы, тем самым освобождаются от сопутствующих веществ, не растворимых в воде (натриевые соли хорошо растворимы в воде и извлекаются ею). Последующее выделение барбитурата из водной фазы проводят после подкисления водного раствора (рН 2) экстрагированием органическим растворителем. При этом барбитурат в молекулярной форме извлекается органическим растворителем, а в водной фазе остаются балластные вещества, не растворимые в органическом растворителе.

Микросублимация основана на способности барбитуратов возгоняться без разложения при нагревании. Возгонка проводится в нагревательной камере прибора Коффлера, либо, в упрощенном виде, с одного предметного стекла на другое, верхнее из которых охлаждается, а нижнее (с исследуемым остатком) нагревается.

При малых количествах выделенных веществ чаще используют **хроматографические методы очистки** (ионообменную и гель-хроматографию на колонке, ТСХ, ВЭТСХ, ВЭЖХ).

С **точки зрения простоты**, доступности и разрешающей способности наибольшего внимания заслуживают ТСХ, ВЭТСХ. Они позволяют не только очистить выделенные вещества от примесей, но и разделить целый ряд барбитуратов при их совместном присутствии, а также отделить барбитураты от их метаболитов и провести предварительную идентификацию по величине Rf.

3 Этап. Для идентификации барбитуратов используют химические, физические и физико-химические методы анализа.

К химическим методом можно отнести реакции окрашивания барбитуратов.

Наиболее известны реакции барбитуратов:

1. С солями кобальта в щелочной среде. В результате реакции образуется комплекс состава $\text{Co}(\text{NH}_3)_6\text{OH}\cdot\text{Barb}_2$, окрашенный в красно-фиолетовый цвет. Чувствительность реакции 30 мкг. Реакция неспецифична для барбитуратов. Ее могут давать и другие соединения, по химическому строению сходные с барбитуратами (теобромин, теофиллин, биурет, некоторые сульфаниламиды).
2. С солями меди в присутствии пиридина образуется комплекс состава $\text{Cu}\cdot\text{Pyr}_2\cdot\text{Barb}_2$ красно-фиолетового цвета (тиобарбитураты - зеленого цвета).
3. С солями ртути в присутствии дифенилкарбазона (ДФК) барбитураты образуют комплексные соединения, окрашенные в сине-фиолетовый цвет. Реакция широко используется для обнаружения барбитуратов на хроматограмме. Чувствительность ее достигает 0,5 мкг. Реакция неспецифична для барбитуратов.
4. Мурексидная проба (дают также пуриновые алкалоиды).

В микрокристаллоскопическом анализе барбитуратов использована их способность давать характерные кристаллические осадки при взаимодействии с солями тяжелых металлов (хлорцинкйодом, железо - и меднойодидным комплексами, меднопиридиновым реагентом) и выпадать в осадок из растворов концентрированной серной кислоты при понижении ее концентрации (выделение кислотной формы барбитурата).

Формы образующихся кристаллов характерны для каждого отдельного барбитурата. Чувствительность реакций достигает мкг и даже десятых долей мкг.

Обладая высокой чувствительностью, доказательностью и специфичностью, микрокристаллические реакции не лишены и ряда недостатков:

-их проведение требует высокой степени чистоты исследуемого вещества,

-наличие примесей снижает чувствительность реакции, а также мешает правильной кристаллизации,

-производные барбитуровой кислоты склонны к полиморфизму образующихся кристаллов. В зависимости от ряда факторов - концентрации вещества, скорости кристаллизации, температуры, наличия посторонних примесей- барбитураты

ОНДҮСТИК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Казақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	55/ 1 стр из 65

способны образовывать кристаллы различной формы, что затрудняет идентификацию отдельных веществ по форме кристаллов.

Из физических и физико-химических методов анализа применение нашли: ТСХ, ВЭТСХ, ВЭЖХ, спектроскопия в УФ и ИК областях спектра.

Хроматография в тонком слое и ВЭТСХ используются в качестве предварительного испытания на наличие производных барбитуровой кислоты. Они дают возможность разделить несколько барбитуратов при их совместном присутствии и идентифицировать каждый барбитурат в случае комбинированного отравления. ТСХ позволяет также отделить барбитураты от их метаболитов и провести очистку полученного извлечения от балластных веществ. Хроматографирование ведут на закрепленном слое силикагеля в системах растворителей:

- 1) *хлороформ-ацетон (9:1)* - для разделения N - замещенных и 5,5-замещенных производных, система является общей в скрининге лекарственных веществ кислого и нейтрального характера.
- 2) *толуол – ацетон – этанол - 25% раствор аммиака (45:45:7,5:2,5)* (применяется в экспресс- анализе интоксикаций)
- 3) *хлороформ - н-бутанол - 25% раствор аммиака (70:40:5)* - в качестве частной системы для разделения 5,5 -замещенный барбитуратов.

Детектирование веществ на хроматограмме проводится двумя реагентами: дифенилкарбазоном (ДФК) и $HgSO_4$. При этом в местах расположения барбитуратов возникают красно- или сине-фиолетовые пятна. Идентификация проводится по величине Rf (отношение длины пробега вещества к длине пробега растворителя). Хроматографирование ведут параллельно метчикам (A), в качестве которых используют хлороформные растворы барбитуратов с известной концентрацией.

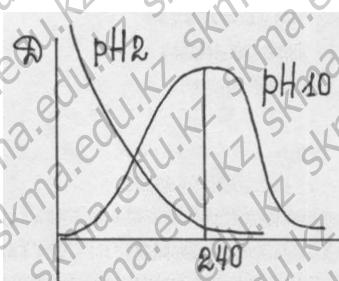
Применение метчиков наряду с расчетом Rf обусловлено невоспроизводимостью Rf из-за трудности соблюдения стандартных условий при хроматографировании. Чувствительность реакций барбитуратов с ДФК и $HgSO_4$ достигает 0,5мкг, однако, она неспецифична, поэтому дальнейшее подтверждение присутствия барбитурата производится микрокристаллическими реакциями и исследованием в УФ области спектра после элюирования вещества с хроматограммы подходящим растворителем.

Спектроскопическое исследование барбитуратов чаще проводят в области длин волн 200-400 нм, т.е. в УФ области спектра, получая электронные спектры поглощения (что обусловлено наличием в структуре системы хромофоров и ауксохромов). Способность барбитуратов к абсорбции в УФ области связана с

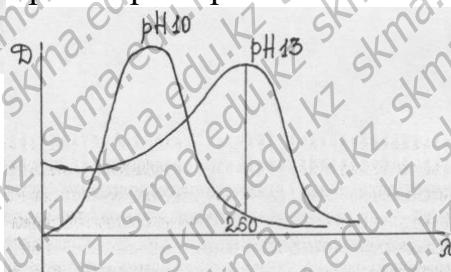
их таутомерными превращениями.

4 Этап. Для **количественного определения барбитуратов** в настоящее время используется спектрофотометрический метод. При спектрофотометрическом определении барбитуратов, выделенных из биологического материала, используют принцип дифференциальной спектрофотометрии, т.к. прямому СФ-определению мешают посторонние вещества, извлекающиеся из объекта исследования совместно с барбитуратами.

В I варианте концентрацию барбитурата в растворе (после его элюирования с хроматограммы) определяют по разности абсорбций в щелочном - pH 10 и кислом - pH 2 растворах при $\lambda=240$ нм.



Во II варианте - по разности щелочных - pH 13 и кислых - pH 10 $\lambda=260$ нм.



принципа спектрофотометрии возможно, когда поглощение примесей при выбранной длине волны не зависит от pH среды. Тогда при вычитании оптических плотностей происходит уничтожение абсорбции примесей, что дает возможность получать истинные результаты количественного определения.

Токсические уровни барбитуратов в крови обычно превышают десятки мкг/мл, а при тяжелых отравлениях, заканчивающихся смертельным исходом, - сотни мкг/мл.

Токсикологическое значение барбитуратов обусловлено, с одной стороны, их сильным фармакологическим действием (список Б, барбамил и этаминал - список А), а с другой стороны - сравнительной доступностью для населения, о чем мы уже говорили выше.

Опасность отравления усиливается способностью барбитуратов к *кумуляции*, т.е. накоплению в организме даже при приеме терапевтических доз. В настоящее время известно о возможном пристрастии к этой группе препаратов и о синергизме при совместном приеме с алкоголем, опиатами и психотропными средствами (транквилизаторами, алкалоидами белладонны и др.), что усиливает токсикологическое значение барбитуратов.

Токсичность. Смертельной дозой барбитуратов считают одномоментный прием 10 лечебных разовых доз каждого из препаратов или их смеси с различными

$$\Delta D = D_{pH10} - D_{pH2}$$

абсорбций в растворах при

$$\Delta D = D_{pH13} - D_{pH10}$$

Использование дифференциальной

ОНТҮСТІК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Қазақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии	55/
Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	1 стр из 65

индивидуальными различиями (фенобарбитал -2,0, этаминал-На -1,0). Иногда же эта доза достигает 4 и даже 6-10 г (барбитал).

4. Иллюстративный материал: слайды, таблицы

5. Литература: Приложение №1

6. Контрольные вопросы (обратная связь)

1. Токсикологическое значение
2. Клиническая и паталого-анатомическая картина отравления
3. Методы изолирования
4. Предварительные методы исследования
5. Подтверждающие методы исследования

Лекция № 3

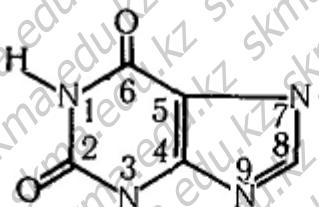
1. Тема – Группа веществ, изолируемых из биологического материала подкисленным спиртом или подкисленной водой («лекарственные яды»).

2. Цель: Ознакомить обучающихся с методиками проведения судебно-медицинских экспертиз химико-токсикологических исследований производных ксантина, пиразолона, некоторых веществ кислого характера, выделенных из биологического материала, в соответствии с НД.

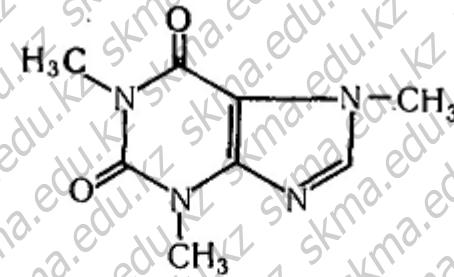
3. Тезисы лекции

В химико-токсикологическом анализе определенный интерес представляют производные ксантина или так называемые пурины. Эти вещества содержат конденсированную кольцевую систему имидазола и пиримидина.

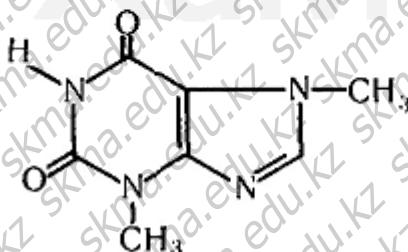
К числу производных ксантина, применяемых в медицине, относятся кофеин, теобромин и теофиллин, которые являются алкалоидами:



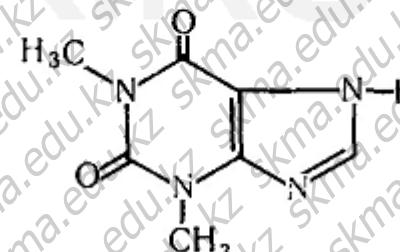
Ксантин
(2,6-диоксипурин)



Кофеин
(1,3,7- trimethylксантин)



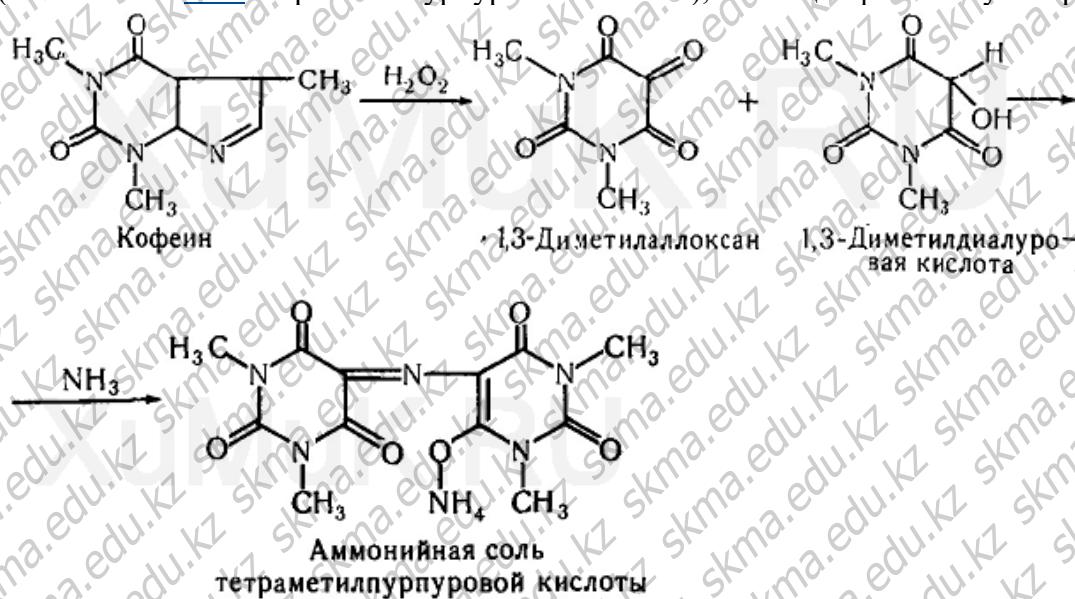
Теобромин
(3,7-диметилксантин)



Теофиллин
(1,3-диметилксантин)

Для обнаружения **кофеина**, **теобромина** и **теофиллина** применяют реакцию образования **мурексида**, реакции группового **осаждения алкалоидов**, некоторые физико-химические методы и др.

Реакция образования мурексида. При действии **окислителей** (хлорная **вода**, бромная **вода**, **пероксид водорода**, **хлорат калия** KClO₃ и др.) и **соляной кислоты** на производные **ксантинов** образуется смесь производных аллоксана и диалуровой кислоты. От прибавления **амиака** к этой смеси образуется метильное производное **мурексида** (аммонийная **соль** тетраметилпурпуровой кислоты), имеющее фиолетовую окраску:



Выполнение реакции. В литературе описано несколько вариантов выполнения мурексидной реакции, некоторые из этих вариантов приводятся ниже:

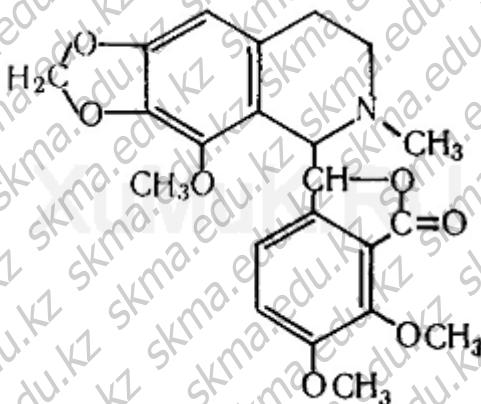
ОНТҮСТІК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Казақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	55/ 1 стр из 65

а) 5—6 капель раствора исследуемого вещества в хлороформе вносят в фарфоровую чашку и при комнатной температуре выпаривают досуха. К сухому остатку прибавляют 0,5—1,0 мл бромной воды (насыщенный раствор брома в воде), 2—3 капли соляной кислоты, затем содержимое фарфоровой чашки на водяной бане выпаривают досуха. К полученному остатку, имеющему красную или красно-бурую окраску, прибавляют каплю 25 %-го раствора аммиака. Появление пурпурной или фиолетовой окраски указывает на наличие производных ксантин в растворе;

б) к сухому остатку, полученному после выпаривания хлороформного раствора, прибавляют 2—3 капли концентрированной соляной кислоты и несколько кристалликов хлората калия (KClO_3). После перемешивания этой смеси ее выпаривают на водяной бане досуха. К сухому остатку прибавляют каплю 2 н. раствора аммиака. При наличии кофеина, теобромина, теофиллина или других производных ксантин в пробе появляется пурпурная или фиолетовая окраска.

Наркотин (гноскапин, носкапин) является одним из алкалоидов опия, в котором содержится 0,75—9 % этого вещества. Наркотин легко рацемизируется. При кипячении уксусно-кислых растворов наркотина образуется его рацемат (гноскапин). Природный наркотин является левовращающим.

Наркотин является слабым основанием, его соли со слабыми кислотами легко гидролизуются. Ацетат натрия осаждает основание наркотина из его солей, но не осаждает оснований других, применяемых в медицине, алкалоидов опия.

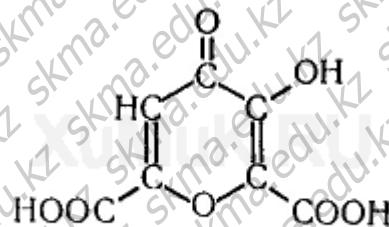


При действии восстановителей на наркотин образуется меконин. На холода наркотин не растворяется в щелочах, а при нагревании этого препарата со щелочами образуются непрочные соли (наркотаты). Уже при действии горячей воды они разлагаются. При нагревании наркотина с гидроксидом бария происходит разложение этого алкалоида с образованием опиановой кислоты и гидрокотарнина. Основание наркотина хорошо растворяется в хлороформе, слабо растворяется в диэтиловом эфире и в этиловом спирте, практически не растворяется в воде. Гидрохлорид наркотина растворяется в воде (1:4), этиловом спирте (1 : 8), хорошо растворяется в хлороформе, слабо — в диэтиловом эфире. Наркотин экстрагируется органическими растворителями как из кислых, так и из щелочных водных растворов. Максимум экстракции наркотина органическими растворителями достигается при $\text{pH} = 5\ldots7$.

Меконовая кислота содержится в опии в связанном виде с алкалоидами.

Кроме меконовой кислоты алкалоиды опия в растениях могут быть связаны и с другими кислотами.

При длительном кипячении растворов меконовой кислоты она разлагается на оксид углерода (IV) и коменовую кислоту, которая при дальнейшем нагревании превращается в β -оксипирон, обладающий свойствами фенолов.

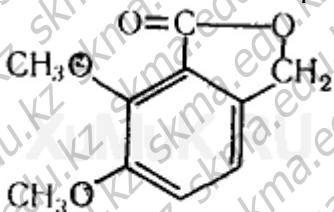


Меконовая кислота

Меконовая кислота трудно растворяется в холодной воде, этиловом спирте и диэтиловом эфире, лучше — в горячей воде и в кипящем этиловом спирте. Меконовая кислота экстрагируется некоторыми органическими растворителями из кислой среды.

Исследование объектов биологического происхождения на наличие меконовой кислоты производится тогда, когда в биологическом материале обнаружены морфин, кодеин и другие алкалоиды опия. Наличие в биологическом материале морфина, кодеина, наркотина, меконовой кислоты, а в ряде случаев и меконина указывает на отравление опием.

Меконин содержится в опии, получаемом из снотворного мака и в желтокорне канадском. Меконин представляет собой белое кристаллическое вещество (т. пл. 102 °C). Он хорошо растворяется в щелочах с образованием солей мекониновой кислоты. Эти соли не стойкие и сразу же подвергаются гидролизу. При действии слабых восстановителей на наркотин и гидрастин образуется меконин. Его также можно получить из опиановой кислоты, которая образуется при нагревании наркотина с водой. От прибавления восстановителей к опиановой кислоте образуется меконин.



Меконин

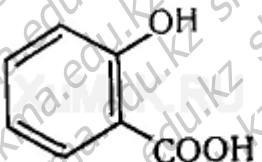
Меконин трудно растворяется в холодной воде (1 : 700), лучше — в кипящей воде (1 : 22), хорошо — в этиловом спирте, диэтиловом эфире, бензоле и хлороформе.

Меконин экстрагируется органическими растворителями из кислых растворов.

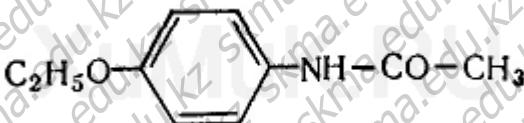
Меконин не имеет токсикологического значения, но обнаружение его в трупном материале указывает на отравление опием.

Салициловая (о -оксибензойная) кислота представляет собой белые игольчатые кристаллы или легкий кристаллический порошок без запаха. Эта кислота перегоняется с водяным паром, при осторожном нагревании она возгоняется. Растворяется в диэтиловом эфире (1 : 3), этиловом спирте (1 : 4), хлороформе (1 : 55), слабо растворяется в воде (1 : 550), легче — в кипящей воде (1 : 15).

Салициловая кислота экстрагируется органическими растворителями из кислых водных растворов.



Фенацетин (ацетофенетидин, ацетилфенетидин, фенедин) — 1-этокси-4-ацетаминонбензол — белый кристаллический порошок без запаха, слегка горьковатого вкуса. Растворяется в хлороформе (1 : 15), этиловом спирте (1 : 20), слабо растворяется в диэтиловом эфире, трудно — в воде (1 : 1700).



Фенацетин экстрагируется органическими растворителями как из кислых, так и из щелочных водных растворов.

4. Иллюстративный материал: слайды, таблицы

5 Литература : Приложение №1

6. Контрольные вопросы (обратная связь)

1. Токсикологическое значение
2. Клиническая и паталого-анатомическая картина отравления
3. Методы изолирования
4. Предварительные методы исследования
5. Подтверждающие методы исследования

Лекция № 4

1. Тема - Группа веществ, изолируемых из биологического материала подкисленным спиртом или подкисленной водой («лекарственные яды»).

2. Цель: Ознакомить обучающихся с методиками проведения судебно-медицинских экспертиз химико-токсикологических исследований алкалоидов и их синтетических аналогов, выделенных из биологического материала, в соответствии с НД.

3. Тезисы лекции:

Из веществ, экстрагируемых органическим растворителем из щелочного раствора, наибольшее токсикологическое значение имеют алкалоиды.

Алкалоиды - органические азотистые основания сложного состава, встречающиеся в растениях (реже в животных организмах) и обладающие сильным фармакологическим действием.

Токсикологическое значение алкалоидов

Токсикологическое значение алкалоидов очень велико и связано со следующими факторами:

1. Алкалоиды обладают высокой токсичностью, но в то же время широко применяются в медицинской практике в качестве лекарственных веществ. Медицинское применение

алкалоидов очень разнообразно, т.к. каждый из них обладает своим специфическим действием, иногда очень ценным и незаменимым.

Как лекарственные препараты алкалоиды проявляют фармакологический эффект в очень малых дозах. С другой стороны, алкалоиды обладают выраженной токсичностью и при превышении терапевтических доз могут являться причиной отравлений и даже смерти.

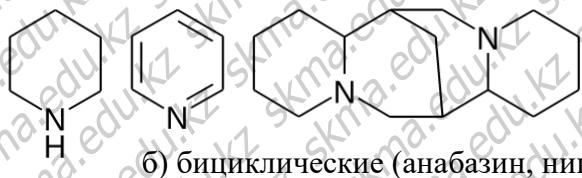
2. Некоторые алкалоиды применяются в сельском хозяйстве в качестве инсектицидов (никотин, анабазин). Их токсичность и доступность может также привести к отравлениям.

3. Наконец, широкое распространение алкалоидсодержащих растений (многие из них растут как сорняки), их доступность приводят к тому, что при поедании частей растений, содержащих алкалоиды, детьми или домашними животными, наблюдаются отравления различной степени тяжести, нередко со смертельным исходом. Известны отравления ягодами белладонны, плодами белены, дурмана, паслена сладко-горького, болиголова и др. алкалоидсодержащих растений.

Отравления отдельными алкалоидами могут давать характерную картину: тетанические судороги при отравлении стрихнином, расширение зрачков при отравлении тропановыми алкалоидами. Однако, чаще всего картина отравления и, тем более, патологоанатомического исследования нехарактерны. Поэтому главное значение при доказательстве отравлений алкалоидами приобретает химико-токсикологическое (судебно- химическое) исследование. При отравлении растениями большую помощь может оказать фармакогностическое исследование частей растений в содержимом желудка.

В зависимости от химического строения алкалоиды, имеющие токсикологическое значение, можно разделить на 10 групп:

1. Производные пиридина, пиперидина и хинолизидина (жидкие алкалоиды):

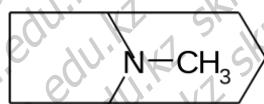


а) моноциклические (конин, ареколин)

б) бициклические (анабазин, никотин)

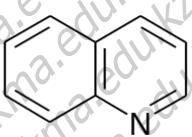
в) полициклические (пахикарпин)

2. Производные тропана (пиперидил-пирролидина):



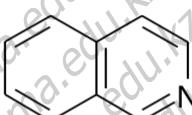
атропин, гиосциамин, скополамин, кокаин

3. Производные хинолина (α, β -бензопиридина):



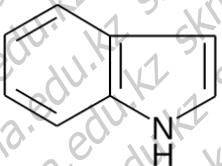
Хинин

4. Производные изохинолина (β , -бензопиридина): (группа опийных алкалоидов):



а) производные фенантренизохинолина (морфин, кодеин, дионин, апоморфин, геройн)

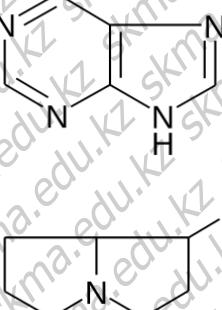
б) производные бензилизохинолина (папаверин, наркотин)



5. Производные индола (бензопиррола)

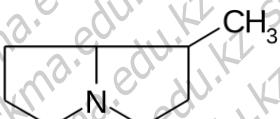
стрихнин, бруцин, резерпин

6. Производные пурина



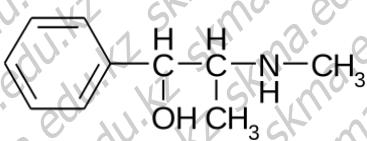
кофеин, теобромин, теофиллин

7. Производные 1-метилпирролизидина



карпацин, платифиллин

8.



Ациклические алкалоиды

Эфедрин

9.

Алкалоиды стероидоподобного строения (вератрин)

ОНТҮСТІК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Казақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	55/ 1 стр из 65

10.

Алкалоиды неустановленного строения (аконитин)

Из перечисленных групп алкалоидов при проведении общего судебно-химического анализа обязательному исследованию подлежат: жидкие алкалоиды - никотин, пахикарпин; тропановые алкалоиды; производные изохинолина (опийные алкалоиды); производные индола - стрихнин.

Остановимся на **физико-химических свойствах** алкалоидов, которые имеют значение в химико-токсикологическом анализе.

1. Большинство алкалоидов - твердые кристаллические, реже аморфные вещества без запаха, горького вкуса. Исключение составляют жидкие алкалоиды - коницин, ареколин, никотин, анабазин, пахикарпин, основания которых являются летучими маслянистыми жидкостями, обладающими характерным запахом.
2. Растворимость алкалоидов-оснований и их солей различна. Основания алкалоидов практически нерастворимы в воде и легко растворяются в органических растворителях - эфире, хлороформе, этаноле, дихлорэтане и др.

Наоборот, соли алкалоидов легко растворимы в воде и спирте, но, как правило, не растворимы в органических растворителях.

Однако, алкалоиды-жидкости составляют исключение: их основания растворяются и в воде, и в органических растворителях, что приходится учитывать при проведении судебно-химического исследования на наличие алкалоидов.

Соли некоторых алкалоидов, например, хлористоводородные соли кокаина, наркотина, папаверина, йодистоводородная соль пахикарпина способны растворяться в хлороформе.

Алкалоиды с малой величиной константы диссоциации ($K_d=10^{-14}-10^{-12}$) -кофеин, теобромин, теофиллин, папаверин, стрихнин и бруцин - дают непрочные соли, гидролизующиеся даже в кислой среде, поэтому способны экстрагироваться из кислого водного раствора.

3. За счет гетероатома азота (третичного), содержащегося в молекуле, алкалоиды:
 - обладают основными свойствами и дают соли с кислотами (по типу аммиака и аминов);
 - вступают во взаимодействие с солями тяжелых металлов, с некоторыми кислотами с образованием нерастворимых осадков (реакции с общекалоидными реактивами и микрокристаллоскопические реакции).
 - Некоторые алкалоиды способны давать окрашенные соединения с кислотами за счет дегидратации. Окрашенные продукты могут получаться также при окислительно-восстановительных реакциях алкалоидов, при реакциях конденсации.
 - Большинство алкалоидов, имеющих хромофорную систему, обладает характерным светопоглощением в УФ области спектра.
 - Алкалоиды имеют характерное светопоглощение в ИК – области спектра.

ОНТҮСТИК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Казақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	55/ 1 стр из 65

Химико-токсикологическое исследование на алкалоиды складывается из ряда этапов:

1. Изолирование алкалоидов из биологического объекта.
2. Очистка полученного извлечения от сопутствующих (балластных) веществ.
3. Идентификация алкалоидов.
4. Количественное определение.

1. **Изолирование алкалоидов** из биологического материала можно проводить общими методами для группы «нелетучих» ядов - подкисленным спиртом, водой, подкисленной щавелевой кислотой, либо частным методом – водой, подкисленной серной кислотой, по В.Ф. Крамаренко. Для жидких алкалоидов, основания которых летучи с водяным паром, в качестве метода изолирования может быть применена перегонка с водяным паром. Для некоторых алкалоидов, например, для пахикарпина, разработан метод электродиализа. Оптимальное значение pH для изолирования алкалоидов на 1 стадии - при настаивании биологического материала с полярными растворителями (вода или этанол) - должно быть 2 -3, чтобы перевести алкалоиды в солеобразные ионизированные формы, хорошо растворимые в воде. При этом степень ионизации $\alpha \rightarrow 100\%$. Кислая реакция среды, кроме того, способствует разрушению комплексов алкалоидов с белками, что увеличивает выход алкалоидов.

На 2 стадии изолирования - при экстрагирования алкалоидов из жидкой фазы неполярным органическим растворителем - pH устанавливается в пределах 9- 10, что дает возможность перевести алкалоиды из солей в основания, т.е. молекулярные формы, хорошо растворимые в органических растворителях. При этом $\alpha \rightarrow 0\%$.

Оптимальным экстрагентом для **большинства алкалоидов является хлороформ**, для некоторых алкалоидов, например, морфина - изоамиловый спирт или дихлорэтан.

2. Очистка извлечений от балластных веществ.

Грубая очистка извлечений, содержащих алкалоиды, от балластных веществ, в частности белков, предусмотрена в некоторых методах изолирования. Так, в методе Стаса-Отто проводится осаждение белков абсолютным этанолом, а в методе В.Ф.Крамаренко - сульфатом аммония. Как правило, грубая очистка приводит к потерям алкалоидов за счет их соосаждения с белками.

К более тонким методам очистки относятся:

1 - экстракционная очистка

2 - хроматография

3 – электродиализ

1. **Экстракционная очистка** связана с экстракцией балластных веществ органическими

ОНДҮСТІК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Казақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	55/ 1 стр из 65

растворителями из кислого водного раствора. При этом алкалоиды в виде солей остаются в водной фазе. Для выделения очищенных алкалоидов из водного раствора водную фазу подщелачивают гидроксидом аммония или натрия. При этом алкалоиды-соли переходят в алкалоиды-основания, которые экстрагируют органическим растворителем (хлороформом). Органическую фазу отделяют, растворитель испаряют, и остаток исследуют на наличие алкалоидов. При сильно загрязненных извлечениях очистку повторяют. Экстракционная очистка связана с частичными потерями алкалоидов за счет их перераспределения между водной и органической фазами. Такой вид очистки предусмотрен в методе В.Ф.Крамаренко, где балластные вещества экстрагируются из кислой водной фазы эфиром.

2. Хроматографические методы очистки являются более экономичными по сравнению с экстракционными. Используются следующие разновидности метода:

- Адсорбционная колоночная хроматография применена Л.М.Власенко для выделения и очистки морфина.
- Гель-хроматография - разновидность колоночной хроматографии (предложена В.Ф.Крамаренко)
- Хроматография в тонком слое сорбента (ХТС)
- Электрофорез - применен для выделения и очистки резерпина Л.В.Песаховичем.

Наибольшего внимания из перечисленных методов очистки заслуживает ХТС благодаря своей доступности, простоте выполнения и высокой разрешающей способности.

2. Электродиализ применен Н.И.Вестфаль для очистки пахикарпина и стрихнина при выделении их из биологического материала. При этом в диализаторе создается электрическое поле, под действием которого ускоряется переход алкалоидов в водное извлечение через полупроницаемую мембрану, которая не пропускает крупные молекулы белков и продукты их распада, за счет чего и достигается очистка.

3. Идентификация выделенных алкалоидов.

С этой целью могут быть использованы как химические, так и физико-химические методы анализа.

План судебно-химического исследования на наличие алкалоидов включает следующие этапы:

- а) Анализ начинают с общеалкалоидных осадительных реакций в качестве предварительных групповых проб.
- б) Затем проводят ХТС-скрининг - также в качестве предварительного теста, но более специфичного благодаря индивидуальным величинам R_f для отдельных алкалоидов.
- в) Далее выполняют частные реакции на отдельные алкалоиды -реакции окрашивания и микрокристаллические реакции.
- г) Снимают спектральные характеристики алкалоидов в УФ и ИК-областих спектра.
- д) Для некоторых алкалоидов проводят фармакологические пробы.

Исследование с общеалкалоидными осадительными реактивами проводится в качестве предварительных испытаний на наличие алкалоидов.

Применение этих реактивов основано на свойстве алкалоидов давать даже в разбавленных растворах простые или комплексные соли с некоторыми кислотами, солями тяжелых металлов, комплексными иодидами и рядом других соединений.

В литературе описано большое количество осадительных реактивов для алкалоидов. В настоящее время их известно более 250.

Общеалкалоидные осадительные реактивы делят на 2 большие группы:

1. Реактивы, дающие с алкалоидами простые соли:

- раствор танина, пикриновая, пикролоновая и некоторые другие органические кислоты.

2. Реактивы, дающие с алкалоидами комплексные соединения, которые делятся на 2 подгруппы:

а) реактивы, содержащие в своем составе металлоиды:

1. I_2/KI - реактив Бушарда-Вагнера

2.

$H_3PO_4 \cdot 12Mo \cdot O_3$ - фосфорномолибденовая кислота (реактив Зонненштейна)

3.

$H_3PO_4 \cdot 12WO_3 \cdot 2H_2O$ - фосфорновольфрамовая кислота (реактив Шейблера)

б) реактивы, содержащие в своем составе металлы:

1) BiI_3/KI - реактив Драгендорфа ($K[BiI_4]$)

2) CdI_2/KI - реактив Марме ($K_2[CdI_4]$)

3) HgI_2/KI - реактив Майера ($K_2[HgI_4]$)

4) $H_2[PtCl_6]$ - платинохлористоводородная кислота

5) $H[AuCl_4]$ - золотохлористоводородная кислота

Чувствительность реактивов неодинакова по отношению к различным алкалоидам.

Наиболее чувствительными и чаще всего применяемыми в судебно-химической практике являются реактивы Шейблера, Зонненштейна, Драгендорфа и Бушарда-Вагнера (чувствительность реакций лежит в пределах 0,1-0,01 мкг).

Обычно предварительные испытания на наличие алкалоидов проводят с двумя-тремя общеалкалоидными реактивами, чтобы получить достоверные результаты (т.к. не все алкалоиды одинаково реагируют со всеми реактивами, и реакции обладают различной чувствительностью). Реакции выполняются с солями алкалоидов. Для того чтобы перевести алкалоид-основание, в виде которого он выделяется из биологического материала, в алкалоид-соль, остаток после испарения хлороформа растворяют в 1-2 каплях 0,1Н раствора HCl . Затем только добавляют реактив и наблюдают за результатом. При наличии алкалоидов наблюдается выпадение осадков или помутнение капли.

ОНТҮСТІК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Онтыстік Казақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	55/ 1 стр из 65

Судебно-химическая оценка реакций.

Все общеалкалоидные осадительные реактивы не являются специфичными для алкалоидов. Кроме алкалоидов, осадки с указанными реактивами дают другие вещества, содержащие гетероатом азота (третичный). Это могут быть синтетические лекарственные вещества, белки и продукты их распада, аминокислоты и многие другие соединения. Исходя из этого, реакциям с общеалкалоидными осадительными реактивами придается только отрицательное судебно-химическое значение.

Отрицательный результат реакций дает право судебному химику сделать заключение о ненахождении алкалоидов и исключить их из дальнейшего хода исследования.

Положительный результат, т.е. получение осадков, свидетельствует о присутствии в исследуемом объекте либо алкалоидов, либо других азотсодержащих веществ основного характера, и требует проведения подтверждающих испытаний.

ХТС-скрининг алкалоидов более специфичен по сравнению с общеалкалоидными осадительными реакциями, хотя ему также придается ориентирующее значение в связи с неспецифичностью реагентов-проявителей алкалоидов на хроматограмме.

Хроматографирование проводится в тонком закрепленном слое силикагеля. В качестве подвижной фазы используются системы растворителей:

-диоксан - хлороформ - ацетон - 25% раствор аммиака (47,5: 45: 5: 2,5)

-толуол - ацетон - этанол - 25% раствор аммиака (45: 45: 7,5: 2,5) (в экспресс-анализе интоксикаций, вариант ВЭТСХ).

Пробег растворителей составляет 10 см. Детектирование алкалоидов и синтетических лекарственных веществ основного характера на хроматограмме проводится реагентом Драгендорфа. В зонах расположения веществ появляются красно-оранжевые пятна.

Чувствительность обнаружения составляет десятые доли микрограмма.

Идентификацию алкалоидов и синтетических лекарственных веществ проводят по величине R_f относительно метчиков. В качестве метчиков используют хлороформные растворы стандартных веществ с определенной концентрацией. Величины R_f большинства токсикологически важных алкалоидов и азотсодержащих веществ основного характера приведены в справочных таблицах.

Необходимость использования метчиков связана с колебаниями значений R_f ввиду трудностей соблюдения абсолютно стандартных условий хроматографического разделения.

ХТС-скринингу придается отрицательное судебно-химическое значение.

При отсутствии пятен на хроматограмме можно сделать заключение о ненахождении алкалоидов и других азотсодержащих лекарственных веществ основного характера и исключить их из дальнейшего хода исследования.

ОНДҮСТИК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Казақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	55/ 1 стр из 65

Совпадение величины R_f испытуемого вещества с величиной R_f метчика дает возможность сделать предварительное заключение об их идентичности. Последующее подтверждение присутствия алкалоида проводится более специфичными реакциями и методами.

В качестве подтверждающих реакций после хроматографического исследования используют *реакции окрашивания и микрокристаллические реакции*.

1. **Реакции окрашивания** основаны на следующих процессах:

- а) отнятие воды (дегидратация) под действием концентрированной серной кислоты (вератрин, бруцин и др.)
- б) окисление алкалоидов (кофеин –мурексидная пробы, хинин –таллейохинная пробы)
- в) одновременное окисление и отнятие воды (реакция с дихроматом калия в присутствии концентрированной серной кислоты на стрихнин)
- г) конденсация с альдегидами (реактив Марки с опийными алкалоидами)

Чаще всего для реакций окрашивания используются:

1. Конц. серная кислота
2. Конц. азотная кислота
3. Конц. серная кислота + конц. азотная кислота (реактив Эрдмана)
4. Конц. серная кислота + формальдегид (реактив Марки)
5. Конц. серная кислота + молибденовая кислота (реактив Фреде)
6. Конц. серная кислота + ванадиевая кислота (реактив Манделина)

Реакции окрашивания выполняются с основаниями алкалоидов. Соответствующий реагент наносится на сухой остаток после испарения хлороформного извлечения.

Реакции окрашивания могут быть специфичными для некоторых алкалоидов (бруцин, вератрин), или могут давать возможность обнаружения группы алкалоидов. Например, реагент Марки является групповым реагентом на опийные алкалоиды. Большинство реагентов, используемых для реакций окрашивания, имеют в своем составе концентрированную серную кислоту, поэтому при исследовании сильно загрязненных остатков может наблюдаться обугливание соэкстрактивных органических веществ. Степень чистоты остатка поэтому имеет немаловажное значение.

Чувствительность реакций окрашивания составляет от нескольких мкг до сотых долей микрограмма.

2. **Микрокристаллические реакции** являются очень ценными для доказательства алкалоидов в судебно-химическом анализе. Они основаны на способности алкалоидов образовывать кристаллы характерной формы при взаимодействии с некоторыми кислотами (пикриновой, пикролоновой, платино- и золотохлористоводородной – H_2PtCl_6 , $HAuCl_4$), солями тяжелых металлов и комплексными йодидами.

ОНДҮСТИК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Казақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	55/ 1 стр из 65

Судебно-химическая оценка метода.

Микрокристаллические реакции обладают высокой чувствительностью, надежностью и доказательностью. Результаты их наглядны, они могут быть зафиксированы в виде фотографий и представлены судебно-следственным органам в качестве приложения к акту судебно-химической экспертизы.

Определение кристаллооптических констант образующихся продуктов значительно повышает надежность микрокристаллических реакций. В области кристаллооптического анализа алкалоидов большая работа проведена профессором В.Т.Поздняковой (Львовский медицинский институт). В ее монографии «Микрокристаллоскопический анализ фармацевтических препаратов и ядов» (1968 г.) рекомендован целый ряд микрокристаллических реакций на алкалоиды, пригодных для исследования биологического материала. Определены кристаллооптические константы продуктов реакций (угол погасания, знак удлинения, показатели преломления).

Являясь ценным методом доказательства алкалоидов, микрокристаллические реакции, в то же время, не лишены недостатков:

при исследовании биологического материала присутствие соэкстрактивных веществ приводит к появлению кристаллов нехарактерной формы, нарушаются кристаллооптические константы, отмечается полиморфизм (присутствие одновременно кристаллов различных форм), поэтому требуется высокая степень чистоты выделенных веществ. Значительное влияние на надежность метода оказывает квалификация химика, навык в выполнении этих реакций.

УФ и ИК спектроскопия является одним из наиболее важных способов идентификации алкалоидов. Для доказательства алкалоидов, выделенных из биологического материала, чаще используют УФ-спектроскопию как наиболее чувствительный метод. Гетероциклы, лежащие в основе строения отдельных групп алкалоидов, часто имеют характерные максимумы поглощения в УФ-свете. Так, производные пиридина имеют максимум при длине волны 260 нм, хинолина (изохинолина) - при 250, 290, 310 нм, индола - 260 (255) и 300 нм, пурина - 220, 260 и 270 нм.

Спектральные методы анализа требуют высокой степени чистоты выделенных веществ и сочетаются с предварительной очисткой.

Фармакологические пробы.

В том случае, если алкалоид оказывает характерное действие на живой организм, могут быть выполнены фармакологические пробы на животных, которые проводятся квалифицированным специалистом-фармакологом. Например, при доказательстве атропина капают водный раствор испытуемого вещества в глаз кошки. При наличии атропина наблюдается характерное стойкое расширение зрачка. Стрихнин и никотин, нанесенные на спинку лягушки, вызывают ее гибель в характерной позе («молящаяся лягушка» - стрихнин, «сидящая» - никотин).

Фармакологические пробы оказывают существенную помощь химику-эксперту при доказательстве алкалоидов. В ряде случаев эти пробы не менее чувствительны и более специфичны, чем химические реакции.

4. Количественное определение алкалоидов проводится фотометрическим и спектрофотометрическим методами (в видимой и УФ-области спектра).

1. Определение в УФ-области (200-400 нм) проводится по специальному поглощению (абсорбции) самого алкалоида при наличии у него хромофорной системы. Интенсивность поглощения пропорциональна концентрации. Расчет ведут по уравнению закона Бугера-Ламберта-Бера.

Определение проводится на спектрофотометре, т.к. закон Бера справедлив только для монохроматического излучения.

2. Определение в видимой области (400-800 нм) основано на измерении абсорбции окрашенных комплексов алкалоидов с кислотными реагентами (пикриновой кислотой, тропеолином-00, метиловым оранжевым, бромфеноловым синим и т.п.). В этом случае образуются ионные ассоциаты, для образования которых большое значение имеет pH среды, т.к. в момент реакции и алкалоиды, и реагенты должны быть ионизированы.

Окрашенные ионные ассоциаты могут быть экстрагированы из водной фазы органическим растворителем. Такое определение носит название экстракционно-фотометрического.

Окрашенные продукты могут быть получены также в реакциях окисления, восстановления, конденсации, азотосочетания и некоторых других.

Измерение абсорбции можно вести как на фотоэлектроколориметрах, так и на спектрофотометрах.

Расчет концентрации проводится по калибровочной кривой. При использовании спектрофотометрии можно использовать уравнение Бугера-Ламберта-Бера.

Фотометрические методы анализа позволяют определять очень малые (несколько микрограммов) количества алкалоидов, но требуют высокой степени чистоты выделенного вещества, поэтому сочетаются с ХТС – очисткой полученных извлечений.

4. Иллюстративный материал: слайды, таблицы

5. Литература : Приложение №1

6. Контрольные вопросы (обратная связь)

1. Токсикологическое значение подгруппы
2. Клиническая картина отравлений алкалоидами
3. Пути биотрансформации наиболее токсикологически значимых алкалоидов
4. Методы изолирования, влияние pH среды на степень изолирования
5. Предварительные и подтверждающие методы идентификации

ОНДҮСТИК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Казақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	55/ 1 стр из 65

1. Тема - Группа веществ, изолируемых из биологического материала подкисленным спиртом или подкисленной водой («лекарственные яды»).

2. Цель: Ознакомить обучающихся с методиками проведения судебно-медицинских экспертиз химико-токсикологических исследований производных 1,4-бензодиазепина, фенотиазина и п-аминобензойной кислоты, выделенных из биологического материала, в соответствии с НД.

3. Тезисы лекции

АМИНАЗИН



Аминазин (хлорпромазин, плегомазин, хлоразин, ларгактил и др.) представляет собой белый или белый с кремоватым оттенком мелкокристаллический порошок. Аминазин гигроскопичен, темнеет под влиянием света, хорошо растворяется в воде, этиловом спирте и хлороформе. Он практически не растворяется в диэтиловом эфире. Растворы аминазина имеют кислую реакцию.

Аминазин экстрагируется органическими растворителями из щелочных растворов.

Применение. Действие на организм. Аминазин принадлежит к числу основных нейролептиков. Он оказывает сильное седативное действие. При больших дозах аминазин вызывает сон. Он усиливает действие снотворных, наркотических и местноанестезирующих веществ. Аминазин имеет противорвотное действие и успокаивает икоту. Он уменьшает проницаемость сосудов, снимает страх, тревогу, напряжение у больных психозами и неврозами. Аминазин применяется для лечения бессонницы, зудящих дерматозов. Он назначается при ряде психических заболеваний и т. д.

Метаболизм. Метаболизм аминазина довольно сложный. При метаболизме происходит гидроксилирование, сульфоокисление, N-деметилирование, разрыв боковой цепи и другие изменения в молекулах аминазина. По данным литературы, до настоящего времени выделено около 20 метаболитов аминазина. Главными метаболитами аминазина у человека являются: 7-оксипроизводное этого препарата, десмонометиламиназин и соответствующие сульфоксиды указанных метаболитов. Перечисленные выше метаболиты выделяются с мочой. Некоторое количество этих метаболитов выделяется с мочой в виде конъюгатов с сульфатами и глюкуроновой кислотой. С мочой выделяется и часть неизмененного аминазина. В моче был найден еще ряд метаболитов, которые до сих пор не идентифицированы.

Выделение аминазина из биологического материала (по Е. М. Саломатину). 100 г измельченного биологического материала трижды настаивают по 2 ч с этиловым спиртом, подкисленным 10 %-м спиртовым раствором щавелевой кислоты до pH = 2..3.. Соединенные кислые спиртовые вытяжки на водяной бане (при 40 °C) упаривают до

ОНДҮСТІК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Қазақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии	55/
Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	1 стр из 65

густоты сиропа. Примеси, содержащиеся в сиропообразных остатках, осаждают 96 ° этиловым спиртом и фильтруют. Затем, спиртовые вытяжки выпаривают досуха. Сухой остаток растворяют в 100 мл воды, нагретой до 40—60 °С. Жидкость охлаждают и фильтруют. Фильтрат переносят в делительную воронку, доводят 5 %-м раствором щавелевой кислоты до pH = 2...3 и дважды взбалтывают с диэтиловым эфиром (по 50 мл). Водную фазу подщелачивают 50 %-м раствором гидроксида натрия до pH= 13 и взбалтывают с 3—4 новыми порциями диэтилового эфира по 5 мин (объем прибавляемого диэтилового эфира для каждой экстракции должен составлять третью часть объема водной фазы). Объединенные эфирные вытяжки взбалтывают с 0,5 н. раствором серной кислоты (по 10, 10, 10, 5 и 5 мл) в течение 5 мин.

Кислые водные вытяжки соединяют и нагревают 3 мин на водяной бане, нагретой до 50—60 °С, для удаления диэтилового эфира. Освобожденные от диэтилового эфира кислые водные вытяжки используют для обнаружения аминазина.

Выделение аминазина из крови. В колбу вместимостью 100 мл, снабженную обратным холодильником, вносят 5—10 мл крови и прибавляют 30—50 мл этилового спирта, подкисленного 10 %-м спиртовым раствором щавелевой кислоты до pH = 2...3. Колбу нагревают на кипящей водяной бане в течение 10 мин, а затем охлаждают. Спиртовую вытяжку сливают и выпаривают на водяной бане досуха. К сухому остатку прибавляют 50 мл воды, нагретой до 40—60 °С, и взбалтывают. После охлаждения раствора до комнатной температуры его фильтруют, собирая фильтрат в делительную воронку, в которую дважды прибавляют по 20 мл диэтилового эфира, и взбалтывают по 5—10 мин, а затем отделяют эфирный слой. Оставшуюся в делительной воронке кислую водную фазу подщелачивают 50 %-м раствором гидроксида натрия до pH= 13 и взбалтывают с 3—4 порциями диэтилового эфира (по 10 мл). Эфирные вытяжки соединяют и исследуют на наличие аминазина.

Выделение аминазина из мочи. В колбу вносят 50—200 мл мочи, подкисляют 25 %-м раствором серной кислоты до pH = 2...3, нагревают на кипящей водяной бане в течение 5 мин, а затем охлаждают до комнатной температуры. Эту жидкость переносят в делительную воронку и взбалтывают в течение 5—10 мин с двумя новыми порциями диэтилового эфира по 50 мл. Оставшуюся в делительной воронке кислую водную фазу исследуют на наличие аминазина, как указано при описании способа выделения этого препарата из биологического материала.

Предварительные пробы на наличие аминазина в моче.

1. К 1 мл мочи прибавляют 1 мл реактива, состоящего из 80 мл 10 %-го раствора серной кислоты и 20 мл 5 %-го раствора хлорида железа (III). При наличии аминазина и других производных фенотиазина в моче раствор приобретает розовато-лиловую окраску.

2. К 1 мл мочи прибавляют 1 мл реактива ФПН. Появление розовой окраски указывает на наличие аминазина или других производных фенотиазина в моче.

Приготовление реактива ФПН (см. Приложение 1, реактив 45).

Обнаружение аминазина

Реакция с концентрированной серной кислотой. Аминазин с концентрированной серной кислотой дает пурпурно-красную окраску.

Реакция с концентрированной азотной кислотой. При взаимодействии аминазина с концентрированной азотной кислотой возникает пурпурно-фиолетовая окраска.

Реакция с концентрированной соляной кислотой. Аминазин с концентрированной соляной кислотой дает розовато-фиолетовую, переходящую в красно-фиолетовую окраску.

Реакция с реагентом Марки. Аминазин под влиянием реагента Марки приобретает пурпурную окраску.

Реакция с реагентом Манделина. Аминазин с этим реагентом дает зеленую окраску, переходящую в пурпурную.

Обнаружение аминазина методом хроматографии. На хроматографическую пластинку наносят исследуемый раствор и раствор «свидетель» (спиртовой раствор аминазина). Пластинку подсушивают на воздухе, а затем вносят в камеру для хроматографирования, насыщенную парами системы растворителей (смесь бензола, диоксана и амиака 75 : 20:5). После того как жидкость поднимется на 13 см выше линии старта, пластинку вынимают из камеры высушивают на воздухе и опрыскивают реагентом Марки или свежеприготовленной смесью концентрированной азотной кислоты и этилового спирта (1:9). При наличии аминазина пятна на пластинке приобретают розово-фиолетовую окраску.

Приготовление хроматографических пластинок (см. Приложение 2, способ 7).

Обнаружение аминазина по УФ- и ИК-спектрам. Аминазин в 0,1 н. растворе серной кислоты имеет максимумы поглощения при 255 и 307 нм. Сульфоксид аминазина, являющийся метаболитом этого препарата, в 0,1 н. растворе серной кислоты имеет максимумы поглощения при 239, 274, 300 и 341 нм.

В ИК-области спектра основание аминазина (диск с бромидом калия) имеет основные пики при 1561, 1455, 1402, 1240, 747 cm^{-1} .

ДИПРАЗИН



Дипразин (пипольфен, прометазин, протазин и др.) — белый кристаллический порошок, легкорастворимый в воде (1 : 0,6) и этиловом спирте (1 : 9), хлороформе (1:2), почти не растворим в диэтиловом эфире.

Дипразин экстрагируется органическими растворителями из щелочной среды.

Применение. Действие на организм. Дипразин имеет выраженную противогистаминную активность. Он обладает седативным действием, усиливает действие наркотических, снотворных и анальгезирующих средств. Дипразин применяется для лечения аллергических заболеваний, зудящих дерматозов, хореи, энцефалита и др.

Метаболизм. Главным метаболитом дипразина является сульфоксид этого препарата. Часть дипразина в неизмененном виде выделяется в моче. Кроме этого, с мочой выделяется и сульфоксид дипразина, который можно обнаружить в моче даже через 14 сут после приема указанного препарата.

Выделение дипразина из биологического материала. Дипразин выделяют из биологического материала так, как и аминазин.

Обнаружение дипразина

Реакция с концентрированной серной кислотой. Дипразин с концентрированной серной кислотой дает пурпурно-красную окраску.

ОНТҮСТІК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Казақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	55/ 1 стр из 65

Реакция с концентрированной азотной кислотой. При взаимодействии дипразина с концентрированной азотной кислотой появляется бледная пурпурно-красная окраска, переходящая в желтую.

Реакция с концентрированной соляной кислотой. Дипразин с концентрированной соляной кислотой дает розовато-фиолетовую окраску, переходящую в пурпурно-фиолетовую.

Реакция Витали — Морена. Дипразин дает реакцию Витали — Морена (см. гл. V, § 42).

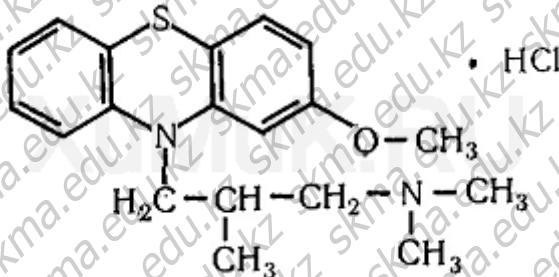
Реакция с реактивом Марки. Дипразин с реактивом Марки дает пурпурную окраску.

Реакция с реактивом Манделина. Реактив Манделина с дипразином дает зеленую окраску, переходящую в пурпурную.

Обнаружение дипразина методом хроматографии. Дипразин можно обнаружить методом хроматографии, как указано выше (см. гл. V, § 54).

Обнаружение дипразина по УФ- и ИК-спектрам. Дипразин, растворенный в смеси воды и этилового спирта (1:1), имеет максимумы поглощения при длинах волн, равных 252 и 301 нм; в 0,01 н. растворе соляной кислоты имеет максимум поглощения при 249 и около 300 нм; в ИК-области спектра дипразин (диск с бромидом калия) имеет основные пики при 1459, 1222 и 757 см⁻¹.

ТИЗЕРЦИН



Тизерцин (левомепромазин, левопромазин, метотримепразин и др.) — белый кристаллический порошок, слаборастворимый в воде, хорошо растворяется в этиловом спирте, диэтиловом эфире и хлороформе.

Тизерцин экстрагируется органическими растворителями из щелочных растворов.

Применение. Действие на организм. Тизерцин обладает адренолитической и противогистаминной активностью, проявляет анальгезирующее действие. Под влиянием тизерцина быстро наступает седативный эффект. Поэтому он применяется при острых психозах. Этот препарат применяется при психомоторном возбуждении различной этиологии (в том числе и при алкогольных психозах), бессоннице, зудящих дерматозах и ряде других заболеваний.

Метаболизм. Часть принятой дозы тизерцина выделяется из организма с мочой в неизмененном виде. Около 10 % тизерцина выделяется с мочой в виде сульфоксида или глюкуронида. Некоторое количество тизерцина выделяется с калом в неизмененном виде.

Выделение тизерцина из биологического материала. Тизерцин выделяется из биологического материала так, как и аминазин.

Обнаружение тизерцина

Реакции с реактивами Марки и Фреде. Тизерцин с реактивами Марки и Фреде дает синевато-красную окраску.

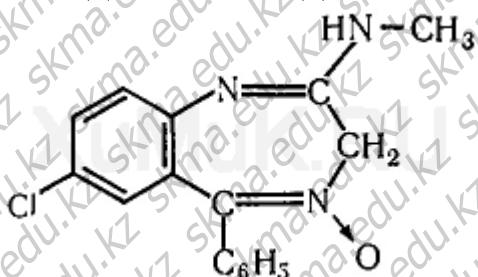
Реакция с реактивом Манделина. К 1 мл исследуемого раствора прибавляют 0,1 мл реактива Манделина. Жидкость взбалтывают и охлаждают в ледяной воде. К жидкости прибавляют 5 мл концентрированной серной кислоты. При наличии тизерцина раствор приобретает красно-фиолетовую окраску.

Обнаружение тизерцина методом хроматографии. На хроматографическую пластинку наносят каплю исследуемого раствора. Нанесенное пятно подсушивают на воздухе. Затем пластинку вносят в камеру для хроматографирования, насыщенную парами системы растворителей (смесь раствора аммиака и этилового спирта (1 : 1), этилацетата и ацетона (4:90:45). После хроматографирования пятна тизерцина на пластинках проявляют 50 %-м раствором серной кислоты в этиловом спирте. Затем пластинку на 3—5 мин помещают в сушильный шкаф, нагретый до 100 °C.

Приготовление хроматографических пластинок (см. Приложение 2, способ 9).

Обнаружение тизерцина по УФ- и ИК-спектрам. Раствор тизерцина в этиловом спирте имеет максимумы поглощения при 255 и 310 нм; тизерцин в 0,1 н. растворе соляной кислоты имеет максимумы поглощения при 251 и 302 нм. В ИК-области спектра основание тизерцина (диск с бромидом калия) имеет основные пики при 1587, 1460, 1269 и 1446 cm^{-1} .

ХЛОРДИАЗЕПОКСИД



Хлордиазепоксид (элениум, декадил, либриум и др.) представляет собой белый или светло-желтый кристаллический порошок, хорошо растворяется в воде. Он экстрагируется органическими растворителями из щелочной среды. Лактам, являющийся метаболитом хлордиазепоксида, экстрагируется диэтиловым эфиром из нейтральной и кислой среды.

Применение. Действие на организм. Хлордиазепоксид относится к транквилизаторам. Он оказывает успокаивающее действие на центральную нервную систему, обладает противосудорожной активностью, потенцирует действие снотворных веществ и анальгетиков, проявляет умеренный снотворный эффект. Хлордиазепоксид применяется при невротических состояниях, неврозах, миозитах, шизофрении, кожных заболеваниях, сопровождающихся зудом, и т. д.

Метаболизм. Хлордиазепоксид (7-хлор-2-метиламино-5-фенил-3Н-1,4-бензодиазепин-4-оксид) быстро всасывается из желудочно-кишечного тракта. Период полусуществования хлордиазепоксида в плазме крови составляет 22—24 ч. Метаболитами хлордиазепоксида является N-деметилхлордиазепоксид и лактам (7-хлор-1,3-дигидро-5-фенил-2Н-1,4-бензодиазепин-2-он-4-оксид). Часть неизмененного хлордиазепоксида и его метаболитов выделяется с мочой, а часть — образует конъюгаты, которые тоже выделяются с мочой.

Выделение хлордиазепоксида из биологического материала.

25 г измельченного биологического материала 3 раза по одному часу настаивают со 100 мл воды, подкисленной соляной кислотой до $\text{pH} = 1$. Вытяжки центрифугируют, полученный центрифугат подщелачивают до $\text{pH} = 10$ и 3 раза взбалтывают с хлороформом (по 25, 15 и 15 мл). Хлороформные вытяжки соединяют и используют для обнаружения и количественного определения хлордиазепоксида.

Один из методов определения хлордиазепоксида состоит в том, что этот препарат выделяют из биологического материала, а затем при нагревании гидролизуют соляной кислотой. Образовавшийся при этом 2-амино-5-хлорбензофенон переводят в диазосоединение.

Предварительная проба на наличие хлордиазепоксида в крови и моче. От 5 до 10 мл плазмы крови или мочи подщелачивают аммиаком и дважды взбалтывают с хлороформом по 10 мл. Соединенные хлороформные вытяжки взбалтывают с 2 мл воды. Водную фазу отделяют, а хлороформный слой взбалтывают с 5 мл 6 н. раствора соляной кислоты в течение 5 мин. Водные солянокислые вытяжки отделяют от хлороформа, нагревают на водяной бане, а затем эти вытяжки нагревают при 125 °С на парафиновой бане в течение 30 мин (при этом образуется 2-амино-5-хлорбензофенон). К охлажденной жидкости прибавляют 0,5 мл 10 %-го раствора нитрита натрия и оставляют на 3 мин. По истечении указанного времени прибавляют 0,5 мл 0,5 %-го раствора сульфамина аммония и оставляют на 3 мин. Затем прибавляют 0,5 мл 0,1 %-го раствора N-1-нафтилэтилендиамина дигидрохлорида. При наличии хлордиазепоксида в крови или в моче появляется вишнево-красная окраска.

Эту реакцию можно использовать для фотоколориметрического определения хлордиазепоксида.

Обнаружение хлордиазепоксида

Реакция с нингидрином. Эту реакцию выполняют так, как указано при обнаружении диазепама. При этой реакции хлордиазепоксид дает коричневую окраску.

Реакция с реагентом Марки. Хлордиазепоксид с реагентом Марки дает желтую окраску.

Реакция с реагентом Фреде. С этим реагентом хлордиазепоксид дает оранжевую окраску.

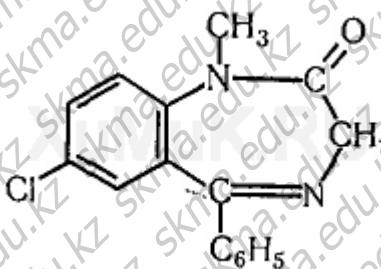
Реакция Витали — Морена. Хлордиазепоксид при реакции Витали — Морена дает желтую окраску.

Обнаружение хлордиазепоксида методом хроматографии в тонком слое сорбента. Обнаружение хлордиазепоксида с помощью этого метода производится так, как и обнаружение диазепама (см. гл. V, § 58).

Обнаружение хлордиазепоксида по УФ- и ИК-спектрам. Хлордиазепоксид в 0,1 н. растворе гидроксида натрия имеет максимумы поглощения при 243 и 260 нм; в 0,1 н. растворе серной кислоты хлордиазепоксид имеет максимумы поглощения при 245 и 306 нм.

Хлордиазепоксид в 0,1 н. растворе соляной кислоты имеет максимумы поглощения при 246 и 308 нм. В ИК-области спектра основание хлордиазепоксида (диск с бромидом калия) имеет основные пики при 1625, 1458 и 760 см^{-1} .

ДИАЗЕПАМ



Диазепам (седуксен, эридан, реланиум и др.) представляет собой белый или белый с желтоватым оттенком кристаллический порошок, не растворяется в воде, трудно растворяется в этиловом спирте, растворяется в хлороформе.

Этот препарат экстрагируется органическими растворителями как из кислой, так и из щелочной среды.

Применение. Действие на организм. По действию на организм диазепам относится к транквилизаторам. Он способствует нормализации сна, применяется для лечения невротических состояний, уменьшает чувство страха и т. д. В комбинации с другими препаратами применяется для лечения эпилепсии и т. д.

Метаболизм. Диазепам быстро всасывается в пищевом канале. Он подвергается метаболизму, который происходит в нескольких направлениях: образуются продукты N-деметилирования и гидроксилирования диазепама. Продукт N-деметилирования затем превращается в оксазепам, который выделяется с мочой в виде глюкуронида. Также в виде глюкуронида выделяется с мочой продукт гидроксилирования диазепама.

Выделение диазепама из крови и мочи. К 10 мл мочи или 5 мл крови прибавляют равный объем фосфатного буферного раствора ($\text{pH} = 7,0$). Полученную жидкость 2 раза по 5 мин взбалтывают с новыми порциями диэтилового эфира. Объем диэтилового эфира, применяемого для взбалтывания, должен быть равным объему водной фазы. Соединенные эфирные вытяжки дважды взбалтывают с 0,1 н. раствором гидроксида натрия (по 2 мл), а затем с 2 мл воды. После отделения водной фазы эфирную вытяжку взбалтывают с 3 мл 2 н. раствора соляной кислоты в течение 10 мин, а затем от эфирного слоя отделяют солянокислую вытяжку. Оптическую плотность этой вытяжки измеряют в диапазоне длин волн от 200 до 300 нм.

Параллельно измеряют оптическую плотность диазепама, обработанного указанным выше способом. Наличие максимумов поглощения при 242 и 287 нм указывает на наличие диазепама в крови или моче.

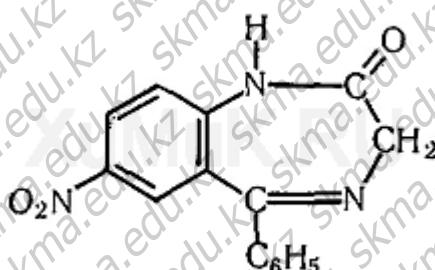
Обнаружение диазепама

Реакция с нингидрином. К 2—3 мл раствора диазепама в этиловом спирте прибавляют около 10 мг нингидрина и 2 мин нагревают на водяной бане. После прибавления 5 мл этилового спирта раствор приобретает синюю окраску, которая от прибавления двух капель 1 %-го раствора сульфата меди (II) переходит в красную или в оранжево-красную. В указанных выше условиях нитразепам дает желто-коричневую, а хлордиазепоксид — коричневую окраску.

Обнаружение диазепама методом хроматографии в тонком слое сорбента. Для обнаружения диазепама и других производных бензодиазепина с помощью этого метода применяют пластинки, покрытые тонким закрепленным слоем силикагеля КСК или пластинки «силифол». В качестве системы растворителей применяют смесь этилацетата, 25 %-го раствора аммиака и метилового спирта (26 : 1,6 : 3,3) или смесь хлороформа и ацетона (9 : 1). Пятна на пластинках проявляют с помощью реактива Драгендорфа.

Обнаружение диазепама по УФ- и ИК-спектрам. Диазепам в 2 н. растворе соляной кислоты имеет максимумы поглощения при 242 и 287 нм, в 0,1 н. растворе серной кислоты имеет максимумы поглощения при 241, 284 и 359 нм; в ИК-области спектра диазепам (диск с бромидом калия) имеет основные пики при 1681, 1484 и 1313 cm^{-1} .

НИТРАЗЕПАМ



ОНТҮСТІК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Қазақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии	55/
Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	1 стр из 65

Нитразепам (радедорм, эуноктин, могадон, неозепам и др.) — светло-желтый или светло-желтый с зеленым оттенком кристаллический порошок. Практически нерастворим в этиловом спирте и хлороформе.

Нитразепам экстрагируется органическими растворителями из щелочных водных растворов.

Применение. Действие на организм. Нитразепам, как и другие производные бензодиазепина, оказывает транквилизирующее, мышечно-расслабляющее, снотворное действие и т. д. Он усиливает снотворное действие других снотворных средств и анальгетиков. Применяется при нарушении сна, неврозах, психопатиях. В комбинации с другими препаратами применяется при лечении шизофрении, эпилепсии и др.

Метаболизм. Метаболитами нитразепама являются 7-амино-метаболит, 7-ацетиламино-метаболит. В течение 48 ч из организма выделяется около 23 % принятой дозы нитразепама. В неизмененном виде с мочой выделяется около 5 % этого препарата. Свыше 8 % нитразепама выделяется с мочой в виде 7-амино-метаболита и около 10%—в виде 7-ацетиламино-метаболита. Часть неизмененного нитразепама может быть обнаружена в кале.

Выделение нитразепама из биологического материала. Биологический материал трижды настаивают с новыми порциями насыщенного водного раствора щавелевой кислоты (рН=1). Через 1 ч после каждого настаивания вытяжки отделяют от биологического материала центрифугированием. Объединенный кислый центрифугат трижды взбалтывают со смесью (1:1) хлороформа и этилацетата (по 20, 15 и 15 мл). Затем кислый центрифугат подщелачивают до рН = 10 и трижды взбалтывают с новыми порциями (20, 15 и 15 мл) смеси хлороформа и этилацетата (1 : 1). Полученные при этом вытяжки подвергают исследованию на наличие нитразепама.

Предварительные пробы на наличие нитразепама в моче. Нитразепам можно обнаружить в моче в неизмененном виде и в виде 7-амино- и 7-ацетиламино-производных, являющихся метаболитами этого препарата, как указано ниже.

Обнаружение нитразепама в неизмененном виде в моче. 5 мл мочи подщелачивают аммиаком до рН=10 и прибавляют 250 г дитионита натрия ($Na_2S_2O_4$). Смесь взбалтывают в течение 10 мин, затем нагревают при 50 °C в течение часа и охлаждают. Охлажденную жидкость 10 мин взбалтывают с 10 мл смеси, состоящей из равных объемов метиленхлорида и этилацетата. После этого от водной фазы отделяют слой смеси органических растворителей. Слой взбалтывают с 10 мл 5 %-го раствора буры. Водную фазу отделяют от фазы органических растворителей. К фазе органических растворителей прибавляют 5 мл 0,2 н. раствора соляной кислоты и взбалтывают. После этого отделяют фазу органических растворителей. 4 мл кислой водной фазы охлаждают в ледяной воде и прибавляют 0,2 мл 0,4 н. раствора нитрита натрия. Через 5 мин к кислому раствору прибавляют 0,2 мл 2%-го раствора сульфамина аммония. Жидкость хорошо перемешивают и оставляют на 5 мин, а затем прибавляют 0,2 мл 0,4 %-го раствора N-1-нафтилэтилендиамина дигидрохлорида. При наличии нитразепама в моче появляется вишнево-красная окраска (A = 555 нм).

Выделение метаболитов нитразепама из мочи. Выделение этих соединений из мочи проводят так же, как и при обнаружении нитразепама, находящегося в моче в неизмененном виде. Однако при исследовании метаболитов в процессе их выделения из мочи к ней не прибавляют дитионит натрия. Выделенные из мочи метаболиты нитразепама обнаруживают методом хроматографии.

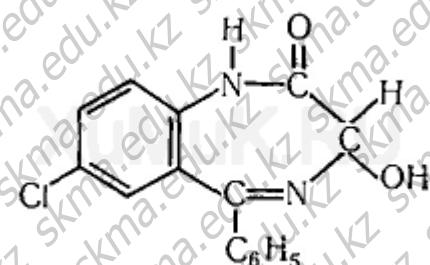
Обнаружение нитразепама и его метаболитов методом хроматографии. Исследуемый раствор наносят на хроматографическую пластинку, покрытую тонким закрепленным

слоем силикагеля, или на пластиинку «силифол». Для развития хроматограммы на пластиинке применяют систему растворителей, являющуюся смесью этилацетата, метилового спирта и 25 %-го аммиака (85: 10:5). Пятна нитразепама и его метаболитов на пластиинках проявляются реактивом Драгендорфа.

Приготовление хроматографических пластиинок (см. Приложение 2, способ 10).

Обнаружение нитразепама по УФ- и ИК-спектрам. Раствор нитразепама в этиловом спирте имеет максимумы поглощения при 218 и 260 нм, в 0,1 и. растворе серной кислоты имеет максимум поглощения при 277 нм и изгиб около 340 нм; нитразепам в ИК-области спектра (диск с бромидом калия) имеет основные пики при 1692, 1615, 1352 и 702 см⁻¹.

ОКСАЗЕПАМ



Оксазепам (тазепам, адумбран, нозепам, пракситен, серакс, серенал и др.) является производным 1,4-бензодиазепина. Он представляет собой кристаллический порошок, почти не растворимый в воде, растворимый в этиловом спирте и хлороформе. Этот препарат экстрагируется органическими растворителями, из щелочных водных растворов.

Применение. Действие на организм.

По фармакологическим свойствам оксазепам близкий к хлордиазепоксиду и диазепаму. Он менее токсичен, чем диазепам, обладает слабым противосудорожным действием и менее выраженным, чем диазепам, миорелаксантным эффектом. Применяется в медицине при неврозах, депрессивных состояниях, при бессоннице на почве нервного расстройства.

Метаболизм. Оксазепам является одним из метаболитов диазепама. После приема оксазепама максимальный уровень его в плазме достигается через 4 ч, а через 48 ч он исчезает из плазмы. Оксазепам находится в плазме в виде глюкуронида. В виде глюкуронида он выделяется с мочой, а с калом он выделяется в неизмененном виде.

Выделение оксазепама из биологического материала (по А. Ф. Фартушному с сотрудниками). К 25 г исследуемого объекта (желудок и тонкая кишка с содержимым, печень, почки) прибавляют 3 мл насыщенного водного раствора гидрофосфата натрия и эту смесь подвергают гомогенизированию. Гомогенат переносят в колбу с притертой пробкой вместимостью 500 мл, прибавляют 100 мл диэтилового эфира, содержимое колбы взбалтывают с помощью аппарата для встряхивания жидкостей в течение 10 мин, а затем отделяют эфирную вытяжку. Оставшийся в колбе гомогенат еще дважды взбалтывают с новыми порциями диэтилового эфира (по 100 и 50 мл) в течение 10 мин. Эфирные вытяжки соединяют, фильтруют через бумажный фильтр. Объединенные профильтрованные эфирные вытяжки используют для обнаружения и количественного определения оксазепама, выделенного из биологического материала.

Выделение оксазепама из крови и мочи. В колбу с притертой пробкой вместимостью 250 мл вносят 10 мл крови или мочи, а затем прибавляют 100 мл диэтилового эфира. Содержимое колбы взбалтывают при помощи аппарата для встряхивания жидкостей в течение 10 мин. Затем отделяют эфирную вытяжку. Оставшуюся в колбе жидкость еще раз взбалтывают со 100 мл диэтилового эфира. Эфирные вытяжки соединяют и фильтруют через бумажный фильтр. Объединенные эфирные вытяжки используют для идентификации и количественного определения оксазепама.

ОНТҮСТІК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Казақстан медицина академиясы» АҚ	 SKMA —1979—	SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	55/ 1 стр из 65	

Обнаружение оксазепама.

Для обнаружения оксазепама применяют цветные реакции, метод хроматографии в тонком слое сорбента, методы УФ- и ИК-спектроскопии и др.

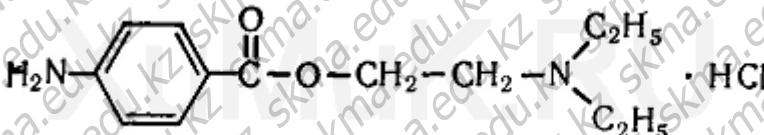
Цветная реакция на оксазепам. 25—50 мл объединенной эфирной вытяжки, полученной после изолирования исследуемого вещества из биологического материала (см. выше), выпаривают досуха. Сухой остаток растворяют в 5 мл 6 н. раствора соляной кислоты и фильтруют. 1 мл фильтрата вносят в колбу вместимостью 25 мл и кипятят 5—10 мин. Жидкость охлаждают и помещают в холодильник на 15 мин. К охлажденной жидкости прибавляют 1 мл смеси (0,3 г бромида калия, 0,3 г нитрита натрия в 6 мл воды). Жидкость взбалтывают и помещают в холодильник на 30 мин. Затем к охлажденной жидкости прибавляют 0,5 мл 10%-го раствора мочевины. Через 15 мин прибавляют 1 мл 1 %-го спиртового раствора α -нафтола и 1 мл 40 %-го водного раствора гидроксида натрия. При наличии оксазепама появляется красная окраска, которую дает и хлордиазепоксид.

Приведенная выше реакция может быть использована для фотоколориметрического определения оксазепама (А. Ф. Фартушный с сотр.).

Обнаружение оксазепама методом хроматографии. 5—10 мл объединенной эфирной вытяжки (см. выше) выпаривают досуха. Сухой остаток растворяют в 0,5 мл этилового спирта. Каплю полученного раствора наносят на линию старта на пластинке «силифол». Правее через 2—3 см на линию старта наносят каплю раствора «свидетеля» (0,5 %-й спиртовой раствор оксазепама). Пятна нанесенных растворов подсушивают на воздухе, а затем пластинку вносят в камеру для хроматографирования, насыщенную парами системы растворителей (хлороформ — пропиловый спирт — ацетон (9:0,4:1). Пластинку вынимают из камеры после того, как система растворителей поднимется на пластинке на 10 см выше линии старта, подсушивают на воздухе и опрыскивают насыщенным раствором тиосульфата натрия. При наличии оксазепама на пластинке появляются оранжевые или желтоватые пятна.

Обнаружение оксазепама по УФ- и ИК-спектрам. Растворы оксазепама в этиловом спирте имеют максимумы полос поглощения при 230 и 315 нм. В ИК-области спектра оксазепам (диск с бромидом калия) имеет основные пики при 1687, 1706, 693 и 830 cm^{-1} .

НОВОКАИН



Новокаин (прокайн, аллокайн, синкаин и др.) — гидрохлорид β -диэтиламиноэтилового эфира α -аминобензойной кислоты. Он представляет собой белый кристаллический порошок без запаха. Растворяется в воде (1:1), этиловом спирте (1 : 15), слабо растворяется в диэтиловом эфире и хлороформе.

Новокаин экстрагируется органическими растворителями из щелочных водных растворов.

Применение. Действие на организм. Новокаин широко используется в медицине как анестетик. Он менее активен, чем кокаин. После всасывания в кровь новокаин понижает возбудимость периферических холинореактивных систем, уменьшает спазмы гладкой мускулатуры, понижает возбудимость мышцы сердца и некоторых отделов головного мозга. В токсических дозах новокаин вызывает возбуждение, а затем паралич центральной нервной системы.

Метаболизм. Новокаин является нестойким препаратом. В организме он распадается на α -аминобензойную кислоту и диэтиламиноэтанол. В течение 24 ч после введения новокаина около 2 % этого препарата выделяется с мочой в неизмененном виде.

ОНДҮСТИК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Казақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	55/ 1 стр из 65

Указанные выше метаболиты новокаина тоже выделяются с мочой. Часть п-аминобензойной кислоты выделяется с мочой в неизмененном виде и в виде глюкуронида.

Обнаружение новокаина

Для обнаружения новокаина применяют реакцию диазотирования, реакцию с реагентом Драгендорфа и физико-химические методы.

Реакция диазотирования. К исследуемому раствору прибавляют 1 %-й раствор соляной кислоты, а затем по каплям прибавляют 1 %-й раствор нитрита натрия до тех пор, пока не начнет окрашиваться в синий цвет иодкрахмальная бумага. Через 5 мин жидкость подщелачивают 2%-м раствором гидроксида натрия до щелочной реакции и прибавляют щелочной раствор β -нафтола. При наличии новокаина раствор приобретает красно-оранжевую окраску.

Приготовление иод крахмальной бумаги (см. Приложение 1, реагент 4).

Реакция с реагентом Драгендорфа. От прибавления к сухому остатку исследуемого вещества капли реагента Драгендорфа образуется осадок, состоящий из прямоугольных пластинок красно-бурого цвета.

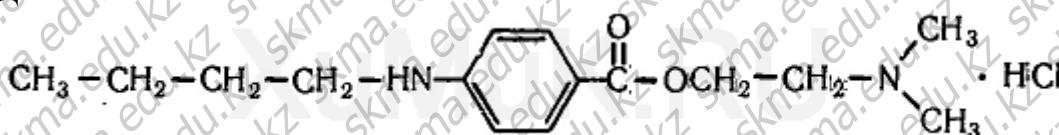
Обнаружение новокаина методом хроматографии. Раствор исследуемого вещества в этиловом спирте или спиртовой раствор остатка вещества, выделенного из биологического материала, наносят на хроматографическую пластинку, покрытую тонким слоем силикагеля. Пятна нанесенных растворов подсушивают на воздухе, а затем пластинку вносят в камеру, насыщенную парами системы растворителей (циклогексан — бензол — диэтиламин (75 : 15 : 10). Пластинку выдерживают в камере для хроматографирования до тех пор, пока жидкость поднимается на 10 см выше линии старта. После этого пластинку вынимают из камеры, высушивают на воздухе и опрыскивают реагентом Драгендорфа, модифицированным по Мунье.

При наличии новокаина на пластинке появляются оранжево-коричневого цвета пятна ($R_f = 0,16\ldots0,18$). Дикаин в этих условиях имеет $R_f = 0,33\ldots0,35$, а кокаин — $R_f = 0,60\ldots0,63$.

Приготовление хроматографических пластинок (см. Приложение 2, способ 6).

Обнаружение новокаина по УФ- и ИК-спектрам. Водный раствор новокаина имеет максимум поглощения при 290 нм. Новокаин в 0,2 н. растворе серной кислоты имеет максимумы поглощения при 228, 272 и 279 нм. В ИК-области спектра новокаин (диск с бромидом калия) имеет основные пики при 1274, 1690, и 1605 см⁻¹.

ДИКАИН



Дикаин (аметокайн, тетракайн, пантоқайн и др.) представляет собой гидрохлорид β -диметиламиноэтилового эфира α -бутиламиноцензойной кислоты. Это белый или желтоватый кристаллический порошок, который применяется в медицине и имеет определенное токсикологическое значение. Дикаин растворяется в воде (1:8), хлороформе (1:22), этиловом спирте (1:40), не растворяется в диэтиловом эфире.

Дикаин экстрагируется органическими растворителями из щелочных водных растворов.

Применение. Действие на организм. Дикаин применяется для анестезии гортани при интубации, при бронхо- и эзофагоскопии, бронхографии, для перидуральной анестезии, в офтальмологии и г. д.

Дикаин представляет собой сильное местноанестезирующее средство, которое по активности превосходит новокаин и кокаин. Однако дикаин более токсичен, чем новокаин и кокаин. Дикаин в 2 раза токсичнее кокаина и в 10 раз — новокаина.

Метаболизм. В организме дикаин подвергается метаболизму. Его метаболитом является α -аминобензойная кислота.

Обнаружение дикаина

Для обнаружения дикаина применяются реакции окрашивания, микрокристаллоскопические реакции, методы хроматографии и спектроскопии.

Реакция Витали — Морена. При нагревании дикаина с азотной кислотой образуется остаток желтоватого цвета, от прибавления к которому спиртового раствора щелочи появляется кроваво-красная окраска. Выполнение этой реакции описано выше.

Реакция с раствором нитрита натрия. К 1—2 каплям исследуемого раствора прибавляют каплю 30%-го раствора нитрита натрия. При наличии дикаина в растворе образуется осадок, состоящий из тонких раздвоенных на концах призм.

Обнаружение дикаина методом хроматографии. Для обнаружения дикаина методом хроматографии в тонком слое силикагеля применяют методику, которая описана для обнаружения новокаина. Пятна дикаина на хроматограмме имеют оранжево-коричневую окраску ($R_f = 0,33\ldots 0,35$).

Обнаружение дикаина по УФ- и ИК-спектрам. Дикаин в 0,1 н. растворе серной кислоты имеет максимумы поглощения при 229, 281 и 312 нм; В ИК-области спектра основание дикаина (диск с бромидом калия) имеет пики при 1598, 1270 и 1166 cm^{-1} .

АМИНАЗИН



Аминазин (хлорпромазин, плегомазин, хлоразин, ларгактил и др.) представляет собой белый или белый с кремоватым оттенком мелкокристаллический порошок. Аминазин гигроскопичен, темнеет под влиянием света, хорошо растворяется в воде, этиловом спирте и хлороформе. Он практически не растворяется в диэтиловом эфире. Растворы аминазина имеют кислую реакцию.

Аминазин экстрагируется органическими растворителями из щелочных растворов.

Применение. Действие на организм. Аминазин принадлежит к числу основных нейролептиков. Он оказывает сильное седативное действие. При больших дозах аминазин вызывает сон. Он усиливает действие снотворных, наркотических и местноанестезирующих веществ. Аминазин имеет противорвотное действие и успокаивает икоту. Он уменьшает проницаемость сосудов, снимает страх, тревогу, напряжение у больных психозами и неврозами. Аминазин применяется для лечения бессонницы, зудящих дерматозов. Он назначается при ряде психических заболеваний и т. д.

Метаболизм. Метаболизм аминазина довольно сложный. При метаболизме происходит гидроксилирование, сульфоокисление, N-деметилирование, разрыв боковой цепи и другие изменения в молекулах аминазина. По данным литературы, до настоящего времени выделено около 20 метаболитов аминазина. Главными метаболитами аминазина у человека являются: 7-оксипроизводное этого препарата, десмонометиламиназин и соответствующие сульфоксиды указанных метаболитов. Перечисленные выше метаболиты выделяются с мочой. Некоторое количество этих метаболитов выделяется с мочой в виде конъюгатов с сульфатами и глюкуроновой кислотой. С мочой выделяется и

часть неизмененного аминазина. В моче был найден еще ряд метаболитов, которые до сих пор не идентифицированы.

Выделение аминазина из биологического материала (по Е. М. Саломатину). 100 г измельченного биологического материала трижды настаивают по 2 ч с этиловым спиртом, подкисленным 10 %-м спиртовым раствором щавелевой кислоты до pH = 2...3. Соединенные кислые спиртовые вытяжки на водяной бане (при 40 °C) упаривают до густоты сиропа. Примеси, содержащиеся в сиропообразных остатках, осаждают 96 % этиловым спиртом и фильтруют. Затем, спиртовые вытяжки выпаривают досуха. Сухой остаток растворяют в 100 мл воды, нагретой до 40—60 °C. Жидкость охлаждают и фильтруют. Фильтрат переносят в делительную воронку, доводят 5 %-м раствором щавелевой кислоты до pH = 2...3 и дважды взбалтывают с диэтиловым эфиром (по 50 мл). Водную фазу подщелачивают 50 %-м раствором гидроксида натрия до pH= 13 и взбалтывают с 3—4 новыми порциями диэтилового эфира по 5 мин (объем прибавляемого диэтилового эфира для каждой экстракции должен составлять третью часть объема водной фазы). Объединенные эфирные вытяжки взбалтывают с 0,5 н. раствором серной кислоты (по 10, 10, 10, 5 и 5 мл) в течение 5 мин.

Кислые водные вытяжки соединяют и нагревают 3 мин на водяной бане, нагретой до 50—60 °C, для удаления диэтилового эфира. Освобожденные от диэтилового эфира кислые водные вытяжки используют для обнаружения аминазина.

Выделение аминазина из крови. В колбу вместимостью 100 мл, снабженную обратным холодильником, вносят 5—10 мл крови и прибавляют 30—50 мл этилового спирта, подкисленного 10 %-м спиртовым раствором щавелевой кислоты до pH = 2...3. Колбу нагревают на кипящей водяной бане в течение 10 мин, а затем охлаждают. Спиртовую вытяжку сливают и выпаривают на водяной бане досуха. К сухому остатку прибавляют 50 мл воды, нагретой до 40—60 °C, и взбалтывают. После охлаждения раствора до комнатной температуры его фильтруют, собирая фильтрат в делительную воронку, в которую дважды прибавляют по 20 мл диэтилового эфира, и взбалтывают по 5—10 мин, а затем отделяют эфирный слой. Оставшуюся в делительной воронке кислую водную фазу подщелачивают 50 %-м раствором гидроксида натрия до pH= 13 и взбалтывают с 3—4 порциями диэтилового эфира (по 10 мл). Эфирные вытяжки соединяют и исследуют на наличие аминазина.

Выделение аминазина из мочи. В колбу вносят 50—200 мл мочи, подкисляют 25 %-м раствором серной кислоты до pH = 2...3, нагревают на кипящей водяной бане в течение 5 мин, а затем охлаждают до комнатной температуры. Эту жидкость переносят в делительную воронку и взбалтывают в течение 5—10 мин с двумя новыми порциями диэтилового эфира по 50 мл. Оставшуюся в делительной воронке кислую водную фазу исследуют на наличие аминазина, как указано при описании способа выделения этого препарата из биологического материала.

Предварительные пробы на наличие аминазина в моче.

1. К 1 мл мочи прибавляют 1 мл реактива, состоящего из 80 мл 10 %-го раствора серной кислоты и 20 мл 5 %-го раствора хлорида железа (III). При наличии аминазина и других производных фенотиазина в моче раствор приобретает розовато-лиловую окраску.
2. К 1 мл мочи прибавляют 1 мл реактива ФПН. Появление розовой окраски указывает на наличие аминазина или других производных фенотиазина в моче.

Обнаружение аминазина

Реакция с концентрированной серной кислотой. Аминазин с концентрированной серной кислотой дает пурпурно-красную окраску.

ОНДҮСТИК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Казақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	55/ 1 стр из 65

Реакция с концентрированной азотной кислотой. При взаимодействии аминазина с концентрированной азотной кислотой возникает пурпурно-фиолетовая окраска.

Реакция с концентрированной соляной кислотой. Аминазин с концентрированной соляной кислотой дает розовато-фиолетовую, переходящую в красно-фиолетовую окраску.

Реакция с реагентом Марки. Аминазин под влиянием реагента Марки приобретает пурпурную окраску.

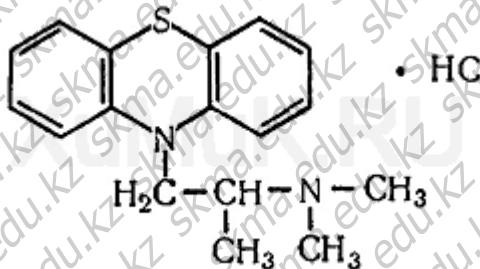
Реакция с реагентом Манделина. Аминазин с этим реагентом дает зеленую окраску, переходящую в пурпурную.

Обнаружение аминазина методом хроматографии. На хроматографическую пластинку наносят исследуемый раствор и раствор «свидетель» (спиртовой раствор аминазина). Пластинку подсушивают на воздухе, а затем вносят в камеру для хроматографирования, насыщенную парами системы растворителей (смесь бензола, диоксана и аммиака 75 : 20:5). После того как жидкость поднимется на 13 см выше линии старта, пластинку вынимают из камеры высушивают на воздухе и опрыскивают реагентом Марки или свежеприготовленной смесью концентрированной азотной кислоты и этилового спирта (1:9). При наличии аминазина пятна на пластинке приобретают розово-фиолетовую окраску.

Обнаружение аминазина по УФ- и ИК-спектрам. Аминазин в 0,1 н. растворе серной кислоты имеет максимумы поглощения при 255 и 307 нм. Сульфоксид аминазина, являющийся метаболитом этого препарата, в 0,1 н. растворе серной кислоты имеет максимумы поглощения при 239, 274, 300 и 341 нм.

В ИК-области спектра основание аминазина (диск с бромидом калия) имеет основные пики при 1561, 1455, 1402, 1240, 747 см⁻¹.

ДИПРАЗИН



Дипразин (пипольфен, прометазин, протазин и др.) — белый кристаллический порошок, легкорастворимый в воде (1 : 0,6) и этиловом спирте (1 : 9), хлороформе (1:2), почти не растворим в диэтиловом эфире.

Дипразин экстрагируется органическими растворителями из щелочной среды.

Применение. Действие на организм. Дипразин имеет выраженную противогистаминную активность. Он обладает седативным действием, усиливает действие наркотических, снотворных и анальгезирующих средств. Дипразин применяется для лечения аллергических заболеваний, зудящих дерматозов, хореи, энцефалита и др.

Метаболизм. Главным метаболитом дипразина является сульфоксид этого препарата.

Часть дипразина в неизмененном виде выделяется в моче. Кроме этого, с мочой выделяется и сульфоксид дипразина, который можно обнаружить в моче даже через 14 сут после приема указанного препарата.

Выделение дипразина из биологического материала. Дипразин выделяют из биологического материала так, как и аминазин.

Обнаружение дипразина

Реакция с концентрированной серной кислотой. Дипразин с концентрированной серной кислотой дает пурпурно-красную окраску.

Реакция с концентрированной азотной кислотой. При взаимодействии дипразина с концентрированной азотной кислотой появляется бледная пурпурно-красная окраска, переходящая в желтую.

Реакция с концентрированной соляной кислотой. Дипразин с концентрированной соляной кислотой дает розовато-фиолетовую окраску, переходящую в пурпурно-фиолетовую.

Реакция Витали — Морена. Дипразин дает реакцию Витали — Морена (см. гл. V, § 42).

Реакция с реагентом Марки. Диазин с реагентом Марки дает пурпурную окраску.

Реакция с реагентом Манделина. Реактив Манделина с дипразином дает зеленую окраску, переходящую в пурпурную.

Обнаружение дипразина методом хроматографии. Дипразин можно обнаружить методом хроматографии, как указано выше (см. гл. V, § 54).

Обнаружение дипразина по УФ- и ИК-спектрам. Дипразин, растворенный в смеси воды и этилового спирта (1:1), имеет максимумы поглощения при длинах волн, равных 252 и 301 нм; в 0,01 н. растворе соляной кислоты имеет максимум поглощения при 249 и около 300 нм; в ИК-области спектра дипразин (диск с бромидом калия) имеет основные пики при 1459, 1222 и 757 см^{-1} .

ТИЗЕРЦИН



Тизерцин (левомепромазин, левопромазин, метотримепразин и др.) — белый кристаллический порошок, слаборастворимый в воде, хорошо растворяется в этиловом спирте, диэтиловом эфире и хлороформе.

Тизерцин экстрагируется органическими растворителями из щелочных растворов

Применение. Действие на организм. Тизерцин обладает адренолитической и противогистаминной активностью, проявляет анальгезирующую действие. Под влиянием тизерцина быстро наступает седативный эффект. Поэтому он применяется при острых психозах. Этот препарат применяется при психомоторном возбуждении различной этиологии (в том числе и при алкогольных психозах), бессоннице, зудящих дерматозах и ряде других заболеваний.

Метаболизм. Часть принятой дозы тизерцина выделяется из организма с мочой в неизмененном виде. Около 10 % тизерцина выделяется с мочой в виде сульфоксида или глюкуронида. Некоторое количество тизерцина выделяется с калом в неизмененном виде.

Выделение тизерцина из биологического материала. Тизерцин выделяется из биологического материала так, как и аминазин.

Обнаружение тизерцина

Реакции с реактивами Марки и Фреде. Тизерцин с реактивами Марки и Фреде дает синевато-красную окраску.

Реакция с реагентом Манделина. К 1 мл исследуемого раствора прибавляют 0,1 мл реагента Манделина. Жидкость взбалтывают и охлаждают в ледяной воде. К жидкости

ОНДҮСТІК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Қазақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	55/ 1 стр из 65

прибавляют 5 мл концентрированной серной кислоты. При наличии тизерцина раствор приобретает красно-фиолетовую окраску.

Обнаружение тизерцина методом хроматографии. На хроматографическую пластинку наносят каплю исследуемого раствора. Нанесенное пятно подсушивают на воздухе. Затем пластинку вносят в камеру для хроматографирования, насыщенную парами системы растворителей (смесь раствора аммиака и этилового спирта (1 : 1), этилацетата и ацетона (4:90:45). После хроматографирования пятна тизерцина на пластинках проявляют 50 %-м раствором серной кислоты в этиловом спирте. Затем пластинку на 3—5 мин помещают в сушильный шкаф, нагретый до 100 °C.

Приготовление хроматографических пластинок (см. Приложение 2, способ 9).

Обнаружение тизерцина по УФ- и ИК-спектрам. Раствор тизерцина в этиловом спирте имеет максимумы поглощения при 255 и 310 нм; тизерцин в 0,1 н. растворе соляной кислоты имеет максимумы поглощения при 251 и 302 нм. В ИК-области спектра основание тизерцина (диск с бромидом калия) имеет основные пики при 1587, 1460, 1269 и 1446 cm^{-1} .

4. Иллюстративный материал: слайды, таблицы

5. Литература: Приложение №1

6. Контрольные вопросы (обратная связь)

1. Что означает направленный анализ на производные 1,4-бензодиазепина, фенотиазина и п-аминобензойной кислоты?
2. Какими методами проводят изолирование производных 1,4-бензодиазепина, фенотиазина и п-аминобензойной кислоты из биологического материала при направленном ХТА?
3. Как проводится ТСХ скрининг на производных 1,4-бензодиазепина, фенотиазина и п-аминобензойной кислоты?
4. Перечислите общие реакции на производных 1,4-бензодиазепина, фенотиазина и п-аминобензойной кислоты.
5. Объясните, почему на барбитураты после проведения общих реакций, проводятся обязательно частные реакции?
6. Перечислите частные реакции на производных 1,4-бензодиазепина, фенотиазина и п-аминобензойной кислоты.

Лекция № 6

1. ТЕМА - Группа веществ, изолируемых из биологического материала экстракцией органическими растворителями

2. Цель: Ознакомить обучающихся с методиками проведения судебно-медицинских экспертиз химико-токсикологических исследований пестицидов из группы фосфорорганических соединений, выделенных из биологического материала, в соответствии с НД.

3. Тезисы лекции

Ядохимикаты широко используются в народном хозяйстве как эффективные средства борьбы с вредителями и болезнями растений, защиты животных от паразитов. Ядохимикаты также применяются для борьбы с грызунами, переносчиками болезней (мalaria, энцефалит, сыпной и возвратный тиф, сонная болезнь и др.). Некоторые

ОНТҮСТІК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Казақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	55/ 1 стр из 65

химические средства применяются как стимуляторы роста растений, как средства, тормозящие прорастание корнеплодов и клубнеплодов при их длительном хранении, и т. д.

Ядохимикаты, применяемые в народном хозяйстве, принадлежат к различным классам химических соединений. Все они объединяются под общим названием пестициды (от лат. *pestis* - зараза и *cido* - убиваю). В настоящее время к пестицидам относятся химические вещества, применяемые для уничтожения различных видов вредных организмов.

Пестициды не только пагубно действуют на различные виды вредных организмов, но многие из них оказывают токсическое действие на людей и животных. Источниками отравления могут быть ядохимикаты, вода, пищевые продукты, загрязненные ядохимикатами. Особенно опасны для людей и животных те ядохимикаты, которые длительно сохраняются в воде, почве, растениях и в некоторых других объектах.

КЛАССИФИКАЦИЯ ЯДОХИМИКАТОВ

Известно несколько классификаций ядохимикатов. Они подразделяются на группы и подгруппы в зависимости от химического состава, назначения, путей проникновения в организм и т. д.

Химическая классификация. Согласно этой классификации, ядохимикаты подразделяют на группы по их химическому составу. Известно большое число групп ядохимикатов, к которым относятся: галогенпроизводные углеводородов, органические соединения фосфора, производные мочевины, органические соединения ртути и др.

Классификация ядохимикатов в зависимости от их назначения. В зависимости от назначения ядохимикаты подразделяют на несколько групп. Назначение ядохимикатов приводится ниже.

Акарициды — для борьбы с клещами.

Альгициды — для уничтожения водорослей и других представителей водной растительности.

Антисептики — для предохранения неметаллических материалов от разрушения микроорганизмами.

Арборициды — для уничтожения нежелательной древесной и кустарниковой растительности.

Бактерициды — для борьбы с бактериями и бактериальными болезнями.

Гербициды — для борьбы с сорными растениями.

Родентициды (зооциды) — для борьбы с грызунами.

Инсектициды — для уничтожения вредных насекомых.

Моллюскоциды (лимациды) — для борьбы с моллюсками.

Нематоциды — для борьбы с круглыми червями (нematодами).

Фунгициды — для борьбы с болезнями растений.

К числу ядохимикатов относятся и другие вещества, применяемые для стимулирования роста растений, удаления листьев (дефолианты), для подсушивания растений перед уборкой (десиканты), а также применяемые для отпугивания насекомых (репелленты) или для их привлечения (аттрактанты).

Классификация ядохимикатов в зависимости от путей поступления в организм насекомых.

В зависимости от путей проникновения ядохимикатов в организм насекомых инсектициды подразделяют на 4 группы:

Контактные инсектициды проявляют действие после соприкосновения их с любой частью геля насекомого.

Кишечные инсектициды оказывают вредное действие на насекомых после попадания их через органы питания в кишку.

Системные инсектициды попадают в насекомых из поедаемых ими растений, обработанных ядохимикатами. Ядохимикаты проникают в растения через листья или через корневую систему, а затем по сосудистой системе распространяются по всему растению. При употреблении таких растений ядохимикаты через органы питания насекомых попадают в их желудок и вызывают отравления.

Фумиганты попадают в организм насекомых через дыхательные пути и вызывают отравления.

Классификация ядохимикатов в зависимости от характера их действия. По характеру действия гербициды подразделяются на 3 группы:

Гербициды контактного действия поражают растения при непосредственном контакте с листьями и стеблями растений. Эти ядохимикаты не передвигаются по сосудистой системе растений, поэтому они оказывают воздействие только на те участки растений, которые были ими обработаны.

Гербициды системного действия после обработки растений проникают в их сосудистую систему, распространяются по всему растению и вызывают его гибель.

Гербициды, действующие на корневую систему растений или на прорастающие семена.

Фосфорсодержащие соединения являются одним из наиболее важных классов ядохимикатов, применяемых в сельском хозяйстве. В настоящее время для указанной цели используется свыше ста представителей этого класса соединений. Они применяются как инсектициды, гербициды, акарициды, нематоциды, дефолианты, фунгициды и т. д.

В фосфорсодержащих органических соединениях связь между фосфором и углеродом может быть различной. Атомы фосфора с углеродом могут быть связаны через атомы кислорода или серы. В некоторых ядохимикатах этого класса фосфор непосредственно связан с углеродом.

Вещества, в которых фосфор непосредственно связан с углеродом, называются фосфорорганическими соединениями (ФОС). Вещества, в которых фосфор связан с углеродом через атомы серы, кислорода или атомы других элементов, называются органическими соединениями фосфора.

Широкое применение фосфорсодержащих ядохимикатов в сельском хозяйстве обусловлено тем, что многие из них имеют ряд ценных свойств и некоторые преимущества перед другими ядохимикатами. Ряд фосфорсодержащих органических соединений обладает высокой инсектицидной и акарицидной активностью. Большинство этих соединений относительно быстро разлагается в организмах людей и животных, поэтому они не накапливаются в больших количествах в органах и тканях теплокровных и почти не вызывают хронических отравлений. Большинство фосфорсодержащих ядохимикатов в растениях, почве и в других объектах внешней среды разлагается в течение нескольких недель.

Недостатком органических фосфорсодержащих ядохимикатов является их относительно высокая токсичность. Некоторые органические соединения фосфора могут проникать в организм через неповрежденную кожу, не вызывая на ней каких-либо видимых изменений. Поступившие таким образом в организм фосфорсодержащие органические соединения вызывают острые отравления. Поэтому при работе с этими веществами необходимо строго соблюдать соответствующие меры предосторожности.

Высокая токсичность фосфорсодержащих органических соединений объясняется угнетающим действием этих веществ на ферментные системы людей и животных. Особенно сильно они угнетают ацетилхолинэстеразу, которая играет важную роль в регуляции физиологических процессов организма. Фосфорсодержащие органические соединения фосфорилируют активные центры ацетилхолинэстеразы, в результате чего она

ОНТҮСТІК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Казақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	55/ 1 стр из 65

теряет способность регулировать процессы разложения ацетилхолина, что приводит к нарушению ряда функций организма.

Действие фосфорсодержащих органических соединений на организм нельзя объяснить только влиянием их на ацетилхолинэстеразу. Очевидно, в организме имеются и другие чувствительные к этим веществам биохимические системы. Это подтверждается тем, что ряд хорошо очищенных фосфорсодержащих соединений (карбофос, тиофос и др.) в условиях эксперимента (в пробирках) не вызывает угнетения ацетилхолинэстеразы, но после введения в организм проявляют высокую токсичность.

Способность фосфорсодержащих органических соединений снижать активность ацетилхолинэстеразы можно использовать для аналитических целей. С помощью ацетилхолинэстеразной пробы можно установить принадлежность исследуемых веществ к группе фосфорсодержащих органических соединений. Необходимо отметить, что активность ацетилхолинэстеразы подавляет и ряд других органических веществ, которые не содержат фосфора (карбарил, эзерин и др.).

Холинэстеразная пробы является общей для обнаружения большинства фосфорсодержащих органических ядохимикатов, которые понижают активность ацетилхолинэстеразы.

Ацетилхолин под влиянием ацетилхолинэстеразы разлагается с образованием уксусной кислоты, в результате этого изменяется pH смеси ацетилхолинэстеразы и ацетилхолина. Эти изменения можно зафиксировать с помощью раствора бромтимолового синего или других индикаторов. При изменении pH среды (от нейтральной до кислой) синяя окраска бромтимолового синего переходит в желтую. Если к смеси растворов ацетилхолина и бромтимолового синего прибавить ацетилхолинэстеразу и фосфорсодержащее органическое соединение, являющееся ингибитором ацетилхолинэстеразы, то ацетилхолин не разлагается ацетилхолинэстеразой и окраска индикатора не изменяется. При выполнении холинэстеразной пробы к смеси реагирующих веществ можно прибавлять не ацетилхолинэстеразу, а плазму крови или лошадиную сыворотку, содержащую этот фермент. В этом случае плазма крови или сыворотка служит источником ацетилхолинэстеразы.

Выполнение холинэстеразной пробы. Берут две фарфоровые чашки. В одну вносят каплю индикаторной смеси, каплю раствора фосфорсодержащего органического соединения и через 10 мин каплю раствора ацетилхолина. При этом окраска раствора не изменяется. Это свидетельствует о задержке разложения ацетилхолина ацетилхолинэстеразой сыворотки, входящей в состав индикаторной смеси.

Во вторую фарфоровую чашку вносят каплю индикаторной смеси и каплю раствора ацетилхолина (не прибавляя фосфорсодержащего органического соединения). Через несколько минут синяя окраска раствора переходит в желтую. Изменение окраски жидкости во второй фарфоровой чашке и отсутствие изменения окраски в первой чашке указывает на наличие фосфорсодержащего органического соединения (ингибитора холинэстеразы) в исследуемой пробе.

Обнаружение фосфора в фосфорсодержащих ядохимикатах

Объектами химико-токсикологического анализа могут быть не только органы трупов и биологические жидкости, но и ядохимикаты в виде порошков, растворов, эмульсий и т. д. Прежде чем приступить к анализу соответствующих объектов на наличие ядохимикатов, необходимо установить принадлежность их к определенному классу химических соединений.

Для установления принадлежности исследуемых веществ к фосфорсодержащим органическим соединениям проводят холинэстеразную пробу и определяют наличие

ОНТҮСТІК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Казақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	55/ 1 стр из 65

фосфора в этих соединениях. Чтобы определить наличие фосфора в исследуемых соединениях вначале их подвергают минерализации. Затем в минерализатах определяют соединения фосфора с помощью соответствующих реакций.

Минерализация фосфорсодержащих органических соединений. Для этой цели может быть использовано несколько методов: метод минерализации оксидом кальция, смесью концентрированных серной и азотной кислот, смесью карбоната натрия и пероксида натрия и другие методы. Ниже описан один из этих методов.

Минерализация карбонатом натрия и пероксидом натрия. В тигель вносят 0,2—0,3 г смеси, состоящей из двух частей безводного карбоната натрия и пяти частей пероксида натрия, и 0,005—0,010 г исследуемого вещества. Если на исследование поступают растворы фосфорсодержащих органических соединений или вытяжки из соответствующих объектов, то к смеси карбоната и пероксида натрия прибавляют несколько капель исследуемой жидкости. Тигель осторожно нагревают до выпаривания жидкости. После этого усиливают нагревание тигля и нагревают его до тех пор, пока не расплывится смесь. Затем тигель охлаждают, его содержимое переносят в небольшую фарфоровую чашку, прибавляют немного карбоната натрия и 10 мл воды. Полученную смесь хорошо растирают и фильтруют.

В зависимости от состава исследуемого вещества в минерализатах могут быть фосфаты, арсенаты, сульфаты и галогениды.

Для обнаружения фосфора образовавшиеся фосфат-ионы переводят в молибденовую синь. Этой реакции мешает наличие арсенатов в растворе. Для удаления арсенатов минерализат подкисляют соляной кислотой до pH = 0,5. Затем пропускают сероводород. При наличии арсенатов выпадает желтый осадок (или образуется муть) сульфида мышьяка, который отфильтровывают. Фильтрат используют для обнаружения фосфат-ионов.

Обнаружение фосфат-ионов. В пробирку вносят 3—5 капель минерализата (свободного от арсенатов) и прибавляют 5 капель раствора молибдата аммония. Смесь подкисляют 10 %-м раствором азотной кислоты. При наличии фосфат-ионов появляется желтая окраска. К этому раствору прибавляют 3—5 капель насыщенного водного раствора гидрохлорида бензидина. Затем прибавляют 10 %-й раствор аммиака до щелочной реакции (по лакмусу). При наличии фосфат-ионов в минерализате появляется синяя окраска.

4. Иллюстративный материал: слайды, таблицы

5. Литература: Приложение №1

6. Контрольные вопросы (обратная связь)

1. Токсикологическое занятие группы
2. Методы изолирования
3. Современные методы изолирования из биологических жидкостей
4. Классификация пестицидов
5. Методы идентификации
6. Методы количественного определения.

Лекция № 7

1. ТЕМА - Химико-токсикологический анализ наркотических веществ, изолируемых из биологического материала

2. Цель: Ознакомить обучающихся с методиками проведения судебно-медицинских экспертиз химико-токсикологических исследований опиатов, опиоидов и каннабиноидов, выделенных из биологического материала, в соответствии с НД.

3. Тезисы лекции

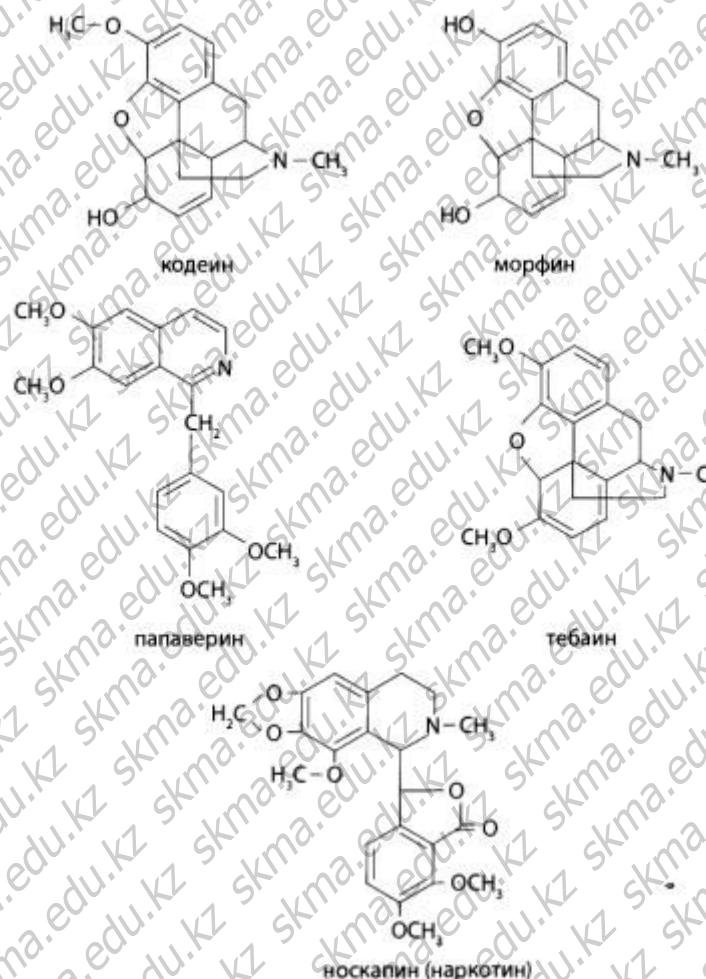
Опиаты и опиоиды

Алкалоиды мака снотворного и их синтетические аналоги

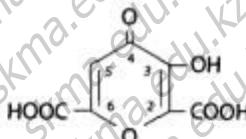
Термин «опиаты» объединяет природные алкалоиды мака снотворного: морфин, кодеин - и полусинтетические производные морфинанового ряда: этилморфин, героин и др.

В группу опиоидов относят различные синтетические вещества, оказывающие однотипное действие с опиатами, причем механизм действия является сходным. Однако наряду с индивидуальными субстанциями опийных алкалоидов или полусинтетических производных морфинанового ряда химику приходится анализировать случаи отравления исходным сырьем, вытяжками из маковой соломки, маковых семян и опия. В этих случаях много информации могут дать результаты определения сопутствующих алкалоидов и других веществ, поэтому в данном разделе рассмотрены не только опиаты, но и другие вещества.

Производящее растение - мак снотворный (Papaver somniferum, семейство Papaveraceae) содержит несколько десятков алкалоидов, главными из которых являются морфин, кодеин, наркотин, папаверин и тебаин.



Кроме того, в составе опия характерным компонентом является меконовая кислота, которая в химико-токсикологическом анализе служит основным критерием выявления причины отравления: опиумом, опионом или индивидуальным алкалоидом.

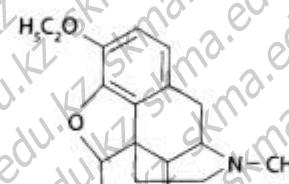


3-окси-4-пирон-2,6-дикарбоновая кислота
(меконовая кислота)

Полусинтетические производные морфина – героин, этилморфин (дионин), орипавин



диацетилморфин (героин)



этилморфин (дионин)



орипавин

Полусинтетические производные морфина - героин, этилморфин (дионин), орипавин

Токсикологическое значение опиатов

Прежде всего, необходимо остановиться на токсикологическом значении опия. Опий, наиболее доступный для наркоманов продукт, представляет собой сгущенный млечный сок, получаемый из недозревших головок мака снотворного. Высущенный сок является опием-сырцом. В состав опия-сырца входит более 50 алкалоидов, содержание которых доходит до 20% общей массы. Остальную часть составляют углеводы, кислоты, жиры, аминокислоты.

Опий как таковой принимают в виде смеси для курения. Чаще всего из него готовят вытяжки для внутривенного введения. Опий действует на организм подобно омнопону.

Омнопон получают следующим образом. Водную вытяжку из опия обрабатывают раствором щелочи.

При этом часть алкалоидов выпадает в осадок, который отделяют и обрабатывают хлороводородной кислотой. Щелочной фильтрат экстрагируют органическим растворителем и органическую фазу взбалтывают с хлороводородной кислотой. Обе кислые вытяжки объединяют, выпаривают досуха.

Таким образом, омнопон представляет собой смесь гидрохлоридов алкалоидов опия. В его состав входят 48-50% морфина и 32-35% других алкалоидов. Это порошок от кремового до желто-коричневого цвета, хорошо растворимый в воде. Водный раствор при взбалтывании сильно пенится. Медицинские показания для применения омнопона такие же, как и для морфина. При отравлении опием и омнопоном проявляются признаки, характерные для морфина.

Острое отравление опием и омнопоном развивается постепенно, так как эти препараты медленно всасываются. Появляется головокружение, тошнота, рвота, наступает сонливость, а затем непробудный сон. Зрачки узкие, не реагирующие на свет. Дыхание поверхностное, замедленное, иногда Чайна-Стокса. Пульс малый, еле прощупывается. Лицо бледное с синюшным оттенком. Глубокое угнетение ЦНС заканчивается параличом дыхательного центра. Смертельный исход наступает при явлениях

ОНТҮСТІК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Казақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	55/ 1 стр из 65

нарастающего отека легких Дифференциальная диагностика отравления опиумом и омнопоном с отравлением морфином затруднена.

При судебно-химическом анализе, в случае обнаружения в исследуемом объекте морфина, меконовой кислоты, наркотина и других алкалоидов делают заключение об отравлении опиумом. Иногда в содержимом желудка и в кишечнике обнаруживают семена опийного мака. При обнаружении в исследуемых объектах только морфина, наркотина и других алкалоидов опия делают заключение об отравлении омнопоном.

Объектами исследования при отравлении опиумом (омнопоном) являются: желудок с содержимым, почки, моча, печень с желчным пузырем, селезенка, легкие в случае ингаляционного отравления.

Морфин - наиболее фармакологически активный алкалоид опийного мака. Содержащиеся в маке алкалоиды представлены солями меконовой, яблочной и серной кислот. Опий был известен уже за много веков до нашей эры. Название «опион» по-гречески означает «растительный сок». Первые справки о маковом соке «меконион» восходят к Теофрасту (III век до н.э.). До XIX в. употребляли только экстракты опия и сырец опия. В 1805 г. Сертурнер выделил морфин в чистом виде.

Морфин - один из основных представителей группы наркотических анальгетиков, используемых в медицинской практике. Это сильное болеутоляющее средство, действие которого обусловлено стимуляцией μ -, δ - и %-опиатных рецепторов. Морфин оказывает противовоспалительное действие при травмах, которое объясняется понижением возбудимости болевых центров. Снотворное действие морфина проявляется при принятии больших доз. Медицинская промышленность выпускает морфин в виде порошка во флаконах по 0,3 г, таблеток по 0,01 г, 1% раствора в ампулах и шприц-тюбиках по 1 мл. При длительных болевых симптомах применяют пролонгированные лекарственные формы, содержащие морфина сульфат. Это таблетки по 0,01, 0,03, 0,06, 0,1 и 0,2 г («МСТ Континус») и капсулы «М-Эсчон».

Морфин способен вызвать эйфорию. При повторном применении развивается пристрастие (морфиномания). Морфинизм имеет судебное и судебно-медицинское значение. Наркоманы начинают с дозы 0,01-0,02 г и постепенно увеличивают ее до 0,3-0,5 г и даже 3-10 г в сутки. Для здорового человека, не употребляющего наркотики, токсическая доза составляет при подкожном введении 0,1 г, а смертельная при приеме внутрь 0,3-1,4 г.

Морфин понижает возбудимость кашлевого центра, тормозит секреторную активность ЖКТ. Одним из характерных действий морфина является угнетение дыхательного центра, что ограничивает его применение как анальгетика.

Малые дозы морфина (5-10 мг) урежают и повышают глубину дыхания, возникает эйфория, оживляются фантазии, острее становится восприятие, выполнение умственной и физической работы сопровождается иллюзией легкости, затрудняется концентрация внимания, уменьшается двигательная активность. Внешний вид морфиниста характеризуется преждевременным старением, трофическими расстройствами, кожа становится сухой, землисто-серого цвета, зубы лишаются эмали, появляется кариес, зрачки сужаются, вместо вен определяются плотные тяжи, лицо одутловатое, нарушаются функция желудочно-кишечного тракта.

Постоянное употребление препаратов опийной группы приводит к психической и физической деградации и ранней гибели больных. При внезапном прекращении приема морфина развивается коллатоидное состояние, опасное для жизни, которое длится от нескольких часов до 5-6 сут.

При остром отравлении морфином подавляются болевые ощущения, исчезает чувство страха, дыхание замедляется, затем угнетается с переходом в дыхание Чейна-Стокса, нарушается сердечная деятельность, артериальное давление падает, парализуется функция капилляров. Причина смерти — паралич дыхания. Патологоанатомическая картина при остром отравлении морфином мало характерна, обнаруживают застойное полнокровие внутренних органов, отек легких и мозга, мелкие множественные кровоизлияния.

Объектами судебно-химического анализа на морфин являются желудок с содержимым, печень, селезенка, почки, легкие, кровь, моча, головной и спинной мозг.

Кодеин — алкалоид, содержащийся в опийном маке. Он выделен из растительного сырья в 1852 г. Его получают также полусинтетическим путем из морфина. По характеру действия на организм кодеин близок к морфину, но болеутоляющий эффект у него выражен слабее. Кодеин способен уменьшать возбудимость кашлевого центра, он в меньшей степени угнетает дыхание, слабее тормозит деятельность ЖКТ, но может вызывать запоры.

ОНТҮСТІК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Казақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии	55/
Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	1 стр из 65

В медицинской практике кодеин назначают для подавления возбуждения кашлевого центра и реже при диарее. Его часто сочетают в лекарственных формах с анальгином, кофеином, фенобарбиталом.

Кодеин способен усилить действие жаропонижающих и анальгезирующих средств. Такие комбинированные лекарственные препараты применяют при головных болях, невралгиях, мигренях и т.п. Максимальные дозы кодеина: разовая — 0,05 г, суточная — 0,2 г. Выпускают кодеин в виде порошка и таблеток (с гидрокарбонатом натрия) по 0,015 г. Кодеин входит в состав комбинированных препаратов «Коделак», «Терпинкод», «Кодтерпин», «Таблетки от кашля», «Пенталгин», «Кодипронт», «Седалгин».

Кодеина фосфат по характеру действия и показаниям аналогичен кодеину (содержит 80% кодеина основания). Он применяется при лечении детей раннего возраста.

При повторном применении кодеина иногда наблюдается пристрастие (кодеиномания). Вначале проявляется психическое влечение к препарату, возрастание толерантности, наркотическая мотивация приема, затем эйфорический эффект препарата падает и наступает общее психическое истощение и социальная деградация личности. Для абстинентного синдрома характерно развитие нервно-сосудистых реакций вплоть до возникновения коллапса.

При приеме больших доз кодеина (0,2-0,3 г) отмечается угнетение дыхательного центра, возбуждающий эффект с подъемом нервно-психического тонуса. Смертельная доза кодеина 0,5 г.

Признаки отравления проявляются через 30-40 мин после приема симптомами сонливости, головной боли, шума в ушах, тошноты, жжения в подложечной области, сухости во рту, заторможенности.

При тяжелом отравлении развивается глубокая кома с полной потерей рефлексов. Смерть наступает от остановки дыхания.

Объектами анализа при отравлении кодеином являются желудок и толстая кишка с содержимым, почки, моча, мозг, печень с желчным пузырем, кровь.

Папаверин — алкалоид опийного мака. В настоящее время его получают синтетическим путем и применяют в виде гидрохлорида. Папаверин оказывает сосудорасширяющее и спазмолитическое действие. В больших дозах уменьшает возбудимость сердечной мышцы и замедляет внутрисердечную проводимость, проявляет слабый седативный эффект. Имеет небольшое токсикологическое значение.

Наркотин (носкагин) — алкалоид, входящий в состав опия и омнопона. Наркотин в медицинской практике применения не находит. Он не обладает наркотическим и анальгезирующим эффектом, не вызывает привыкания. Имеет судебное и судебно-медицинское значение. Обнаружение его во внутренних органах, биологических жидкостях или в кустарно изготовленных наркотических средствах является одним из доказательств отравления опиумом или омнопоном.

Полусинтетические опиаты

Этилморфин (дионин). Этот лекарственный препарат по действию близок к кодеину. Этилморфин применяют (редко) внутрь для уменьшения возбуждения кашлевого центра при хронических бронхитах, туберкулезе легких и как болеутоляющее средство. Его назначают по 0,01—0,03 г на прием.

Максимальные дозы: разовая — 0,03 г, суточная — 0,1 г. Иногда этилморфин используют в офтальмологической практике. Препарат оказывает анальгезирующее действие на глаза при кератите, ириде, инфильтратах роговой оболочки, конъюнктивите, воспалении радужной оболочки и других заболеваниях глаз. В глазной практике применяют этилморфин в виде 1-2% растворов или мази.

Формы выпуска — порошок и таблетки по 0,015 г. Этилморфин оказывает слабое действие на ЦНС, картина отравления этилморфином напоминает картину отравления кодеином.

Героин (Smack, Junk, Horse, Stuff). Это быстродействующий наркотический анальгетик с малым периодом полувыведения. Он относится к числу наиболее опасных наркотических средств. Героин является синтетическим веществом, изготавляемым в подпольных лабораториях. Его получают по реакции ацетилирования из морфина и морфинсодержащего сырья, к числу которого относится морфин-сырец, экстракционный опий, экстракт маковой соломки и др. Продуктом реакции является диацетилморфин. Полученный таким образом героин содержит примеси алкалоидов, не подвергшихся ацетилированию, ацетилкодеин, носкагин, меконин (продукт восстановительного разложения носкапина) и др.

На нелегальный рынок героин часто поступает с добавками (с целью разбавления) прокайна или в виде смеси с кокаином основанием (спидболл), которая предназначена в основном для курения.

Героин используют в виде раствора для подкожных или внутривенных инъекций, порошкообразную форму курят, вдыхают или втягивают носом. Применение героина часто сочетается с приемом алкоголя или депрессантов.

ОНДҮСТІК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Казақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии	55/ 1 стр из 65
Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	

Последствием действия героина на организм является привыкание, которое наступает быстро, иногда с первого раза. Героин вызывает расстройство пищеварения, деятельности внутренних органов. Наблюдается нарушение эндокринного баланса, снижение иммунитета, импотенция, опасное подавление многих реакций организма. Развивается безразличие, депрессия, раздражительность, истерия, психопатические реакции, склонность к гневу, агрессии, суициду. Ухудшается работа мозга, наблюдаются отек мозга, судорожные припадки, необратимые изменения личности, умственная, психическая и физическая деградация, остановка дыхания, потеря сознания, перебои в работе сердца и смерть.

После прекращения приема наркотика характерно эмоциональное напряжение, раздражительность, зрачки расширяются, глаза слезятся, наблюдается слюнотечение, потливость, «гусиная кожа», мышцы спины, рук и ног напрягаются, возникает физическая слабость, аритмия, тахикардия, тошнота, рвота, трепор, появляются выламывающие боли мышц рук, ног, сведение жевательных мышц, икр, нестерпимые боли в животе, пояснице, в области сердца, зуд, жжение

Смесь герона с кокаином (спидболл) используют для внутривенного введения и курения. Присутствие двух веществ усиливает действие на организм каждого из них. Постоянное курение спидболла вызывает болезнь горла, эмфизему легких, бронхиты, респираторные заболевания, теряется интерес к еде и сну, привыкание к наркотику очень быстрое.

Следует отметить, что группа морфиновых анальгетиков постоянно расширяется, и в ближайшем будущем химику, возможно, придется решать новые задачи с новыми опиатами.

Пути метаболизма

Превращение опиатов и их синтетических аналогов в живом организме проходит несколькими путями и включает обе фазы метаболизма.

Морфин, кодеин, этилморфин в I фазе метаболизма подвергаются деалкилированию у атома азота с образованием норпроизводных или у фенольного гидроксила в положении 3 (кодеин, этилморфин). При метаболизме папаверина вначале отщепляется метильная группа в положении 4 бензольного кольца. Во II фазе метаболизма образуются конъюгаты с глюкуроновой кислотой.

Наркотин подвергается восстановлению с образованием меконина и деметилированию в положениях 4 и 8 (I фаза), а затем присоединяет глюкуроновую кислоту к деметилированным продуктам (II фаза). Героин в крови в I фазе метаболизма гидролизуется, образуя 6-моноацетилморфин и морфин, и затем к свободному гидроксилу присоединяется глюкуроновая кислота (II фаза)

Физические свойства

Морфин. Основание морфина — белое или желтоватое вещество, слабо растворимое в воде, эфире, спирте, хлороформе. Соли морфина (ацетаты, гидрохлориды, сульфаты, тартраты) растворимы в спирте и воде, нерастворимы в эфире.

Кодеин. Основание кодеина хорошо растворимо в воде, эфире, хлороформе, спирте. Соли кодеина (гидрохлорид, фосфат, сульфат) хорошо растворимы в воде и плохо растворимы в спирте.

Папаверин. Основание папаверина — белый порошок, хорошо растворим в спирте и хлороформе. Соли папаверина (гидрохлориды) растворимы в воде и хлороформе, нерастворимы в эфире. Сульфат папаверина растворим в воде и спирте.

Наркотин. Основание наркотина нерастворимо в воде, но хорошо растворимо в хлороформе Соли наркотина способны легко гидролизоваться.

Героин — это белая или коричневая пудра, хорошо растворимая в воде и спирте.

Этилморфина гидрохлорид — это белый кристаллический порошок без запаха, горького вкуса. Он хорошо растворим в воде и этиловом спирте и плохо растворим в хлороформе и эфире.

Все вещества проявляют основные свойства (см. табл. 40).

При изолировании из биологических объектов в хлороформный экстракт из водной вытяжки при pH=2-3 переходят частично папаверин, наркотин. Хлороформом из раствора с pH=8-10 экстрагируются морфин, кодеин, этилморфин, наркотин и папаверин. Общими методами, из-за плохой растворимости в хлороформе, морфин изолируется в количестве 1-2%. При анализе трупного материала на морфин был предложен хроматографический метод, основанный на использовании катионита СДВ-3 и элюировании сорбированного морфина 5% раствором аммиака (изолируется до 20% морфина), и метод Крамаренко (можно изолировать до 50% морфина).

ОНДҮСТІК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Қазақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии	55/
Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	1 стр из 65

При проведении общего ТСХ-скрининга (см. раздел 7.1.2) извлеченений из кислого и щелочного растворов папаверин, наркотин, морфин, кодеин, этилморфин, героин обнаружаются в виде оранжевых пятен при обработке пластинки реактивом Драгендорфа.

При проведении аналитического скрининга с использованием общеалкалоидных осадительных реактивов вещества данной группы образуют аморфные осадки (см. раздел 7.1.8).

С реактивом Марки на хроматографической пластинке или в фарфоровой чашке с сухим остатком все вещества дают характерное окрашивание.

Для обнаружения конкретного соединения из группы производных фенантренизохинолиана, бензилизохинолина используют реакции окрашивания, микрокристаллоскопические реакции, хроматографию в тонком слое сорбента, методы ГЖХ, УФ-спектрофотометрию, НК-спектроскопию, хроматомасс-спектрометрию, ВЭЖХ, иммунохимические методы и др.

Хроматография в тонком слое сорбента. Остаток после испарения экстракта из водной вытяжки при pH=2 и pH=8-10 наносят на стартовые линии хроматографических пластинок марки «Силуфол», «Сорб菲尔», «Кизельгель-60 (G)», содержащие флуоресцирующую добавку. Одновременно на пластинку наносят растворы «стандартов» в метаноле с концентрацией 1 мг/мл морфина, кодеина и других опиатов в количестве 5-10 мкл. В качестве частных систем растворителей для опиатов чаще всего используют системы толуол — ацетон — этанол — 25% раствор аммиака (45:45:7:3) или этилацетат — метанол — 25% раствор аммиака (85:10:5). Камеру насыщают парами системы путем обертывания внутренней ее части смоченной в системе фильтровальной бумагой. После подъема системы на высоту 10 см пластинку высушивают и выдерживают в термостате при 120°C в течение 10 мин с целью удаления следов аммиака.

Для проявления пятен на пластинке используют (последовательно):

- освещение УФ-светом при длине волны 254 нм — регистрируют пятна по отсутствию флуоресценции;
- обработку реактивом Драгендорфа — обнаруживают оранжевые пятна на желтом фоне;
- обработку подкисленным раствором йодплатината калия — пятна опиатов темнеют, а пятна морфина переходят в сине-фиолетовый цвет.

Реакции окрашивания. Часть хлороформных экстрактов, полученных из объектов исследования, распределяют на фарфоровых чашках, испаряют до получения сухих остатков и наносят по 2-3 капли реактивов, образующих характерное окрашивание с большинством опиатов. Полученную окраску фиксируют сразу и затем наблюдают ее изменение (переход в другое окрашивание).

Основными реактивами окрашивания для опийных алкалоидов и их аналогов являются реактивы Манделина, Марки, Фреде, Эрдмана.

Кроме использования специальных реактивов проводят характерные реакции окрашивания на отдельные вещества.

Морфин

- При добавлении к остатку, содержащему морфин, хлорида железа (III) наблюдают синее окрашивание за счет свободного фенольного гидроксила в положении 3.
- При добавлении к остатку 1-2 капель концентрированной азотной кислоты морфин дает кроваво-красное окрашивание, переходящее в оранжево-желтое.
- Часть экстракта из объекта испаряют до сухого остатка, который растворяют в 1 мл 10% раствора гидроксида натрия. Полученный щелочной раствор осторожно по стенкам пробирки переливают в раствор диазотированной сульфаниловой кислоты. На месте соприкосновения двух растворов появляется красное окрашивание.

Героин (субстанция)

- При добавлении к наркотическому средству концентрированной серной кислоты наблюдают образование синего окрашивания
- При добавлении к наркотическому средству концентрированной азотной кислоты наблюдают образование желтого окрашивания.
- Реакция этиерификации. К части исследуемого наркотического средства добавляют 1 мл концентрированной серной кислоты, несколько капель этилового спирта и нагревают — ощущают характерный запах уксусноэтилового эфира (яблочной эссенции)

Микрокристаллоскопические реакции. Для проведения реакций хлороформный экстракт из объекта испаряют на предметных стеклах до сухого остатка, добавляют.

ОНТҮСТІК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Қазақстан медицина академиясы» АҚ	 SKMA —1979—	SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии	Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	55/ 1 стр из 65

1. 2 капли 0,1 М раствора хлороводородной кислоты и каплю соответствующего реагтива. Смесь выдерживают во влажной камере 10-15 мин — наблюдают образование кристаллического осадка с характерной формой кристаллов для каждого вещества. В качестве реагентов используют хлорид ртути (II), хлорид кадмия, соль Рейнеке, пикролоновую кислоту, цианид натрия и др. (см. рис. 53-58).

Высокоэффективная жидкостная хроматография. Преимуществом метода ВЭЖХ для анализа опиатов (особенно в моче) является возможность определения основных метаболитов — глюкуронидов и исключения стадии гидролиза при пробоподготовке. проводят в условиях прямого и обращеннофазового анализа в режиме изократического и градиентного элюирования.

Полученные параметры удерживания и спектральные отношения должны совпадать с параметрами стандартных образцов веществ.

ИК-спектроскопия в анализе опиатов. Остаток после испарения экстракта органического растворителя из объекта, очистки с помощью ТСХ растирают с кристаллами бромида калия и регистрируют ИК-спектр. Для каждого из веществ наблюдают несколько наиболее важных характерных полос поглощения. Полосы поглощения исследуемого вещества должны совпадать с полосами поглощения стандартных веществ, приведенных в специальных атласах ИК-спектров

Иммунные тесты для опиатов и других наркотических веществ. Используются для быстрого обнаружения опиатов в моче. Они представляют собой наборы полосок, на которых меченный антиген ковалентно связан с бумажной полоской в тестовой зоне Для анализа требуется небольшой объем мочи (достаточно 150 мкл). В настоящее время используется более 10 видов иммунных тестов. Анализ может проводиться вне лаборатории. Он получил название «on-line» или «on-site», т.е «на месте».

Тестовая полоска опускается в образец мочи, и через несколько минут фиксируется результат.

УФ-спектрофотометрия. Остаток после испарения хлороформного экстракта очищают с помощью тонкослойной хроматографии, как описано в разделе 6.4. Очищенные вещества элюируют с пластинки этиловым спиртом или 0,1 М растворами гидроксида натрия, серной или хлороводородной кислот.

Регистрируют спектры поглощения элюатов с помощью спектрофотометра в области 200-320 нм.

Опиаты обнаруживают максимумы светопоглощения в интервале длины волн 281-313 нм. Например, в этанольном растворе у морфина максимум светопоглощения обнаруживается при 287 нм, у кодеина — при 286 нм, у героина- при 281 нм, у наркотина — при 291 и 310 нм. В растворе морфина в 0,1 М хлороводородной кислоте максимум светопоглощения обнаруживают при 285 нм, у кодеина — при 211 и 285 нм, у гериона — при 278 нм, у папаверина — при 250,284 и 310 нм. При проведении анализа результаты сравнивают со спектрами поглощения растворов стандартных веществ,

Газожидкостная хроматография. Анализ проводят после очистки извлечений из объекта с помощью ТСХ. Обнаружение опиатов и их аналогов основано на измерении соответствующих параметров — времени и индекса удерживания.

При анализе извлечений из мочи после гидролиза глюкуронидов и сульфатов (в процессе пробоподготовки) и экстракции проводят дериватизацию путем ацетилирования или силирирования. Полученные дериваты анализируют. Разделение проводят на кварцевых капиллярных колонках с неполярными или слабополярными фазами, реже на набивных колонках также с неполярными (типа SE-30 или OV-1) или среднеполярными (OV-17) фазами. Детектор чаще всего пламенно-ионизационный, газ-носитель — азот. В качестве внутреннего стандарта рекомендован налорфин.

ГХ/МС в анализе опиатов (по Е.К.Еремину). Метод используется для идентификации и количественного определения опиатов в варианте масс-спектрометрии электронного удара.

Детектор масс-селективный, колонки кварцевые капиллярные с привитыми неполярными или малополярными стационарными фазами: 100% диметилсиликон, 95% ме- тилсиликон или 5% фенилсиликон. Температура термостата колонок программируется с начальной 50-150°C до конечной 280-300°C. Температура интерфейса — 250-290°C. Газ-носитель — гелий со скоростью 1,8 мл/мин.

Для идентификации анализ ведут в режиме сканирования, для количественного определения — в режиме детектирования выбранных ионов. Для заключения об обнаружении определенного вещества необходимо совпадение времен удерживания всех выбранных ионов, а также соответствие интенсивностей этих ионов величинам, полученным для стандартных веществ (допускается отклонение не более $\pm 20\%$).

При количественном определении (см. табл. 45) выбирают один «базовый» («характеристический») ион. Расчеты ведут по калибровочному графику, выражющему зависимость отношения площадей

«количественного иона» анализируемого вещества (АВ) и внутреннего стандарта (ВС) от отношения концентраций АВ и ВС.

Анализ биологических объектов на наличие меконовой кислоты и меконина



Меконин



Меконовая кислота

Анализ проводится в том случае, если в процессе исследования объекта (трупного материала, остатков пищи, мочи, рвотных масс) обнаружены морфин, кодеин, другие алкалоиды опия и подозревается отравление опиумом.

Изолирование из объекта. Биологический объект настаивают со спиртом, подкисленным хлороводородной или серной кислотами. Вытяжку сливают, упаривают до небольшого объема и делят на 2 части. Одну часть исследуют на меконовую кислоту, вторую — на меконин.

Испытание на меконовую кислоту. Раствор выпаривают досуха на водяной бане. Сухой остаток растворяют в воде, нагревают до кипения и добавляют избыток оксида магния, фильтруют и подкисляют 10% раствором хлороводородной кислоты.

Для обнаружения меконовой кислоты используют реакцию с хлоридом железа (III) и УФ-спектрофотометрию.

После изолирования меконовая кислота в растворе будет находиться в виде магниевой соли:



Реакция с хлоридом железа (III). К 1-2 мл полученного раствора прибавляют 2-3 капли 1% раствора хлорида железа (III). Наблюдают появление кроваво-красного окрашивания, которое не исчезает при нагревании, но обесцвечивается при добавлении кислоты.

УФ-спектрофотометрия. После регистрации спектра поглощения раствора, содержащего меконовую кислоту, в спектре обнаруживают 3 максимума светопоглощения при 210, 284 и 303 нм.

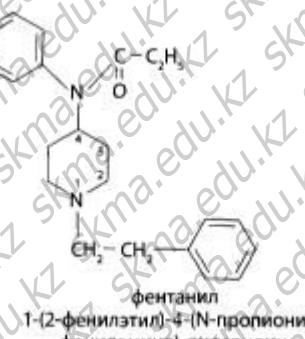
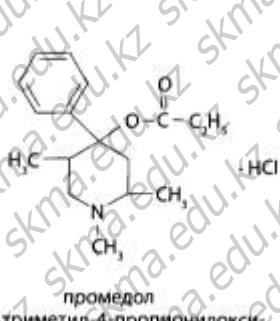
Испытание на меконин. 1/2 часть раствора экстрагируют бензолом. Бензол отделяют от водной фазы и выпаривают досуха. Полученный остаток исследуют на наличие меконина.

Реакция с концентрированной серной кислотой. При добавлении к сухому остатку нескольких капель концентрированной серной кислоты появляется зеленое окрашивание, которое в течение суток переходит в красное. Если полученный при добавлении концентрированной серной кислоты зеленый раствор нагреть, сразу появляется изумруднозеленое окрашивание, переходящее в фиолетовое, а затем в красное.

Опиоиды

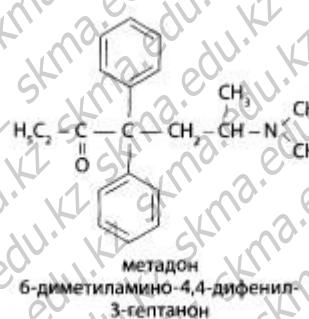
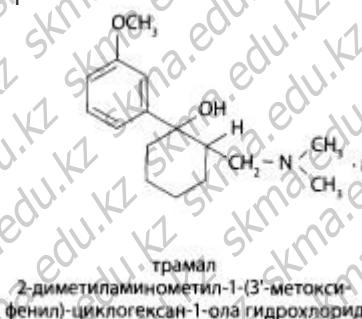
К опиоидным анальгетикам относят фармакологические аналоги морфина: промедол, трамадол, метадон и фенциклидин. Все они обладают сильным анальгетическим действием, но одновременно с этим вызывают привыкание (фенциклидин рассмотрен ранее среди галлюциногенов).

Указанные вещества проявляют аналгезирующую активность в дозах от нескольких мкг до 20 мг.



Промедол является опиоидным анальгетиком, активность которого ниже морфина в 2-4 раза. В отличие от морфина он слабее угнетает дыхательный центр. Его используют при травмах и различных заболеваниях, сопровождающихся болевыми ощущениями. Применяют промедол в виде таблеток по 0,025 г или в виде 1% и 2% растворов подкожно.

Фентанил оказывает сильное аналгезирующее действие. Назначают в виде 0,005% раствора по 1-3 мл при сильных болях.



Трамадол (трамал) дает сильный и быстрый анальгетический эффект, продолжающийся 3-5 ч. Применяют в капсулах по 0,05 г, в виде суппозиториев по 0,1 г или в виде 5% раствора по 1-2 мл.

Метадон существует в двух изомерных формах у левовращающего изомера (левометадона) аналгезирующее действие примерно в 4 раза сильнее, чем у морфина. В некоторых зарубежных фармакопеях приводится рацемический метадон

Токсикологическое значение

При частом применении промедола развивается привыкание и болезненное пристрастие (наркомания). Промедол входит в список №2 Постоянного Комитета по контролю наркотиков, который

предусматривает применение промедола с медицинскими целями под особым контролем.

При приеме фентанила в дозе 50-100 мкг наступает аналгезия и потеря сознания. При регулярном применении фентанила развивается толерантность и физическая зависимость. Фентанил и его производные имеют перекрестное замещение с морфином и обладают наркотической активностью.

Опийные наркоманы воспринимают фентанил как заменитель героина со сходными эффектами. В подпольных лабораториях синтезированы различные производные фентанила, которые превосходят его по активности в тысячу раз и более

Трамал вызывает развитие толерантности и физиологической зависимости при длительном приеме терапевтических доз. Он имеет низкую наркотическую активность, однако имеются сведения о немедицинском использовании больших доз трамала лицами с опиатной зависимостью. При передозировке наблюдаются тахикардия, постуральная гипотензия, коллапс, редко судороги он быстро и полностью всасывается из ЖКТ.

Метадон применяется для лечения лиц с героиновой зависимостью, хотя его использование не является бесспорным и отвергается многими врачами-наркологами. Метадон имеет сильную наркотическую активность, ее потенциал и длительность эйфорического действия сопоставимы с морфином. Смертельные случаи отравления наблюдались при приеме 50 мг метадона

Метаболизм опиоидов

В организме промедол подвергается гидролизу и деметилированию с последующим образованием глюкуронидов

ОНДҮСТИК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Казақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии	55/ 1 стр из 65
Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	

Фентанил является липофильным веществом, поэтому быстро проникает через мембранны и распределяется по всем тканям организма. После внутривенного введения фентанила в плазме крови находится не более 10% введенной дозы. Механизм метаболизма фентанила и его аналогов сходен. На первой стадии происходит отщепление фенилалкильного заместителя от атома азота пиперидинового кольца или гидролиз амидной группы. Частично может происходить гидроксилирование фенильного, пиперидинового или пропионильного радикалов.

После перорального приема трамала в дозе 100 мг пик концентрации в крови в 260 -410 нг/мл достигается через 30-60 мин (по некоторым данным через 1,6-3 ч). Через 12 ч концентрация уменьшается до 50-80 нг/мл и через 24 ч до 10-15 нг/мл. Метаболизм трамала происходит по пути деметилирования и гидроксилирования. Во второй фазе проходит конъюгация гидроксильных производных с глюкуроновой или серной кислотами.

При оральном применении метадона в дозе 15 мг максимальная концентрация в крови обнаруживается в течение 2-4 ч и достигает 70-85 нг/мл. Интервал концентрации в плазме и скорость ее изменения сильно зависят от индивидуальных особенностей организма. Метаболизм метадона происходит по пути деметилирования с последующей циклизацией. Другие пути метаболизма сводятся к гидроксилированию фенильных радикалов. В виде нативного соединения метадон через 24 ч выводится в количестве примерно 33%, в виде основных метаболитов около 50% дозы.

Неконьюгированные соединения составляют 75% введенной дозы. Часть метадона выводится через кишечник.

Физико-химические свойства

Промедол выпускается в виде гидрохлорида, представляет собой белый кристаллический порошок без запаха, легко растворим в воде, спирте, хлороформе, нерастворим в диэтиловом эфире. Промедол является слабым основанием, $pKa=5,20$.

Фентанил — белый кристаллический порошок, очень мало растворим в воде, растворим в метаноле, этаноле и хлороформе.

Трамал выпускается в виде гидрохлорида, представляет собой белый или кремово- тый мелкокристаллический порошок, легко растворим в воде, растворим также в метаноле, этаноле и хлороформе.

Метадон выпускается в виде гидрохлорида. Это белый кристаллический порошок горького вкуса, растворим в воде, спирте и хлороформе, нерастворим в диэтиловом эфире.

Методы изолирования и определения

Для изолирования опиоидов из биологических жидкостей применяют жидкость- жидкостную экстракцию при значении $pH>7$, твердофазную экстракцию в специальных патронах. После испарения растворителя-экстрагента проводят исследования с использованием химических и физико-химических методов.

Хроматография в тонком слое сорбента. Для обнаружения промедола рекомендуется система растворителей этилацетат — этанол — 25% раствор аммиака (9:1:0,5). Используют хроматографические пластиинки «Сорб菲尔». Rf для промедола равно 0,69.

Метадон анализируют, используя систему растворителей бензол — этанол — диэтила- мин (9:1:1). Rf для метадона равно 0,80

Для обнаружения трамала рекомендованы системы растворителей: толуол — этанол — триэтиламин (9:1:1), Rf 0,74, и метанол — 25% раствор аммиака (100:1), $Rr0,55$.

Пятна на пластиинках предложено детектировать путем просматривания в УФ-лучах (254 нм) — на месте расположения опиоидов наблюдают гашение флуоресценции. При последующей обработке пластиинок реагентом Драгендорфа пятна исследуемых веществ окрашиваются в оранжевый цвет.

Реакции окрашивания. Эти реакции проводят с сухими остатками, полученными после испарения экстракта из объекта. К сухим остаткам добавляют реагент и наблюдают образовавшуюся окраску:

- при добавлении реагента Марки промедол дает красно-пурпурное окрашивание, трамал — грязно-коричневое, переходящее в грязно-зеленое, метадон — розовокрасное, переходящее в интенсивно флуоресцирующее;
- при добавлении концентрированной серной кислоты трамал образует ярко- желтое окрашивание;
- при добавлении реагента Либермана метадон образует оранжевое окрашивание;
- при добавлении реагента Манделина (смесь концентрированной серной кислоты и ванадата аммония) метадон образует зеленое, переходящее в голубое окрашивание,

ОНТҮСТІК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Казақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	55/ 1 стр из 65

- при добавлении реагента Фреде (смесь концентрированной серной кислоты и молибдата аммония) метадон дает серо-коричневое окрашивание;
- при добавлении 1% раствора лимонной кислоты в уксусном ангидриде и при нагревании на водяной бане фентанил образует красно-фиолетовое окрашивание.

Метод ВЭЖХ. Для анализа используют условия, описанные при обнаружении опийных алкалоидов. Идентификацию веществ проводят по величинам удерживаемого объема и спектральным отношениям при нескольких длинах волн (см. табл. 46).

Газовая хроматография с масс-спектральным детектированием. Для анализа опиоиды изолируют из объекта жидкость-жидкостной экстракцией. После испарения органического растворителя рекомендуется проводить дериватизацию выделенных веществ с помощью уксусного или перфторуксусного ангидрида. Анализ проводят, используя хроматомасс-спектрометрию электронного удара. Сканирование масс-спектров ведут в диапазоне от 31 до 550 дальтон (дальтон — атомная единица массы, которая равна 1/12 массы атома нуклида ^{12}C).

Микрокристаллоскопическая реакция на промедол. Остаток после удаления органического растворителя обрабатывают 1-2 каплями 0,1 М раствора хлороводородной кислоты и смешивают с одной каплей 0,2% водного раствора ализаринового красного. Через 15-20 мин наблюдают образование сростков из игольчатых и узкопластинчатых кристаллов (рис. 59).

Количественное определение опиатов и опиоидов

Для количественного определения опиатов и опиоидов используют методы ВЭЖХ, УФ-спектрофотометрии, ГЖХ, ГХ/МС, иммунохимические и фотоэлектроколориметрические методы.

Метод ВЭЖХ. Анализ проводится в условиях, приведенных ранее для лекарственных и наркотических веществ. Для расчетов содержания исследуемых соединений используют метод добавок, методы внешнего и внутреннего стандарта.

Метод добавок. Проводят анализ экстракта из мочи и параллельно той же пробы с добавкой в нее 0,2 мл 0,11 мкг/мл стандартного раствора соответствующего опиата (морфина, кодеина, папаверина и т.д.). После получения на хроматограмме пиков исследуемого вещества и «стандарта» концентрацию опиата рассчитывают по формуле, приведенной в разделе 8.1.

Метод внешнего стандарта. Параллельно с анализом экстракта из объекта проводят анализ стандартного раствора соответствующего опиата в одном масштабе регистрации. После получения пиков на хроматограмме концентрацию исследуемого вещества рассчитывают по формуле, приведенной в разделе 8.1.

Метод внутреннего стандарта. К пробе исследуемого объекта до начала пробоподготовки добавляют в качестве «внутреннего стандарта» налорфин. Затем проводят изолирование, очистку извлечений и в полученном остатке определяют опиат с помощью ВЭЖХ по приведенной ранее формуле в разделе 8.1.

УФ-спектрофотометрия. Используется после очистки извлечений из объекта от эндогенных соединений с помощью ТСХ или твердофазной экстракции. Анализ ведут при длинах волн, соответствующих максимумам светопоглощения найденного опиата. Расчет концентрации проводят по калибровочному графику.

ГЖХ Количественное определение опиатов и их аналогов проводят традиционным способом путем измерения высот (площадей) пиков исследуемого вещества и «внутреннего стандарта». Для расчета количества опиата используют калибровочный график.

Иммунохимические методы. Из описанных ранее иммунохимических методов для количественного определения опиатов чаще всего используют поляризационный иммуноанализ на приборах фирмы «Эббот» ТДХ/ТДХ-FL. Особенностью приборов является автоматический режим расчета концентрации с использованием калибровочных графиков.

Фотоколориметрические методы. Среди фагоколориметрических методов для количественного определения опиатов и их аналогов предложены метод непосредственной и экстракционной фотометрии.

Фотоколориметрический метод определения морфина (метод В. Ф. Крамаренко). Сухой остаток после испарения извлечения из объекта растворяют в 2 мл воды очищенной. В мерной колбе смешивают 3 мл 0,11% раствора силиката калия (K_2SiO_3), 2 мл 0,5 М раствора хлороводородной кислоты и 2 мл 5% раствора молибдата аммония. Через 3 мин к полученной смеси реагентов добавляют исследуемый

ОНДҮСТІК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Қазақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии	55/
Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	1 стр из 65

раствор остатка и 5 мл 6% раствора аммиака. Раствор окрашивается в синий цвет. Оптическую плотность измеряют при красном светофильтре в кювете 3 мм. Расчеты ведут, используя калибровочный график.

Метод позволяет определить от 0,2 до 4 мг морфина в исследуемой пробе. **Экстракционно-фотоколориметрический метод** определения кодеина. 1 мл раствора остатка извлечения из объекта вносят в делительную воронку, прибавляют 9 мл ацетатной буферной смеси (рН=4,6), 5 мл 0,1 % водного раствора тропеолина 00 и повторно экстрагируют 5 мл хлороформа. Хлороформные экстракты объединяют и объем доводят до 50 мл. К 5 мл полученного раствора прибавляют 20 мл хлороформа и 2,5 мл 1% раствора концентрированной серной кислоты в метиловом спирте. Оптическую плотность полученного раствора, окрашенного в фиолетово-красный цвет, определяют, используя фотоэлектроколориметр, зеленый светофильтр и кювету 10 мм. Расчет концентрации ведут по калибровочному графику.

Метод позволяет определить от 0,2 до 2,0 мг кодеина в пробе.

Аналогичные методы экстракционной фотоколориметрии предложены для количественного определения этилморфина (с бромфеноловым синим при рН=2,86), папаверина (с эозинатом натрия при рН=4,5), промедола, морфина (с тропеолином 00 при рН=4,6).

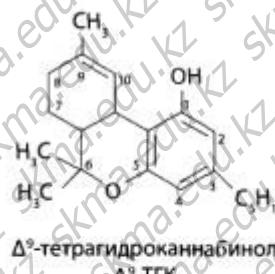
Каннабиноиды

К этой группе относят вещества, находящиеся в различных частях конопли посевной (*Cannabis sativa*). В конопле идентифицировано более 30 различных каннабиноидов. Наркоманы употребляют препараты конопли чаще всего в виде марихуаны и гашиша. Действие гашиша на организм в 5 раз сильнее, чем действие марихуаны.

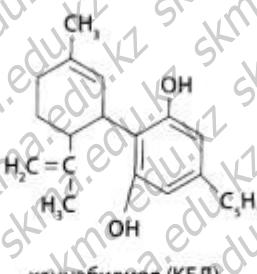
Конопля распространена повсеместно. Ее используют с давних пор как сельскохозяйственную культуру. Однако ее эйфоригенное действие известно так же давно. До нашей эры Геродотом было описано это растение и его использование: «В скифской земле произрастает конопля — растение, очень похожее на лен, но гораздо толще и крупнее. Ее таи разводят, но встречается и дикорастущая конопля. Взяв конопляное семя, скифы подлезают под войлочную юрту, бросают его на раскаленные камни. От этого поднимается такой сильный дым и пар, что никакая элинская паровая баня не сравнится с такой баней. Наслаждаясь ею, скифы громко вопят от удовольствия. Это было частью культового обряда. Сжигаемые в юрте стебли конопли и семена производили дым, вызывающий опьянение. Люди и шаманы приходили в экстаз».

С XV до XX века в фармакопеи некоторых стран входили препараты конопли. В Китае смолу каннабиса рекомендовали в качестве анестетика. В Европе и США использовали как лекарственное и психоактивное средство и свободно продавали в аптеках. До 1992 г. в США в медицинской практике марихуана ограниченно использовалась для лечения больных СПИДом, онкологическими заболеваниями и глаукомой. С 1992 г. в США и Германии используется тетрагидроканнабинол для лечения глаукомы и токсикоза раковых больных, прошедших курс химиотерапии.

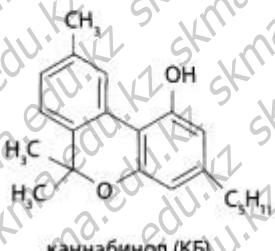
Основными каннабиноидами являются 5 соединений:



Δ⁹-тетрагидроканнабинол
Δ⁹-ТГК



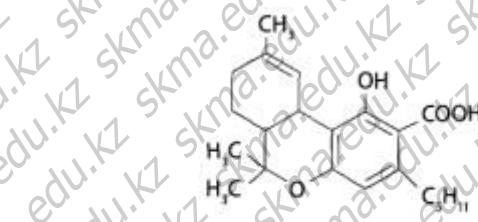
каннабидиол (КБД)



каннабинол (КБ)



Δ⁸-тетрагидроканнабинол
(Δ⁸-ТГК)



Δ⁹-тетрагидроканнабинол-2-карбоновая кислота (Δ⁹-ТГК-кислота)

В настоящее время каннабис, его препараты и все изомеры ТГК входят в список № 1 Постоянного Комитета по контролю наркотиков РФ, что запрещает их использование с любыми, в том числе и медицинскими целями.

Токсикологическое значение

В XX столетии (1960-1970-е гг.) употребление марихуаны молодежью США и других стран достигло больших масштабов. Ее курят, смешивая с табаком, принимают внутрь, жуют, добавляют в сладости, напитки. Многими исследованиями было установлено, что марихуана постепенно вызывает наркотическое пристрастие, способствует переходу молодежи к другим «тяжелым» наркотикам: героину, кокаину, опио. В связи с этим отношение общества к проблеме свободного использования марихуаны коренным образом изменилось.

Наибольшее распространение на нелегальном коммерческом рынке получили следующие формы наркотических средств из конопли.

Марихуана — высушенная и измельченная верхняя часть растения с листьями и цветками.

Содержание психоактивных веществ в марихуане доходит до 13-15%.

Гашиш (hash) — смола (смолка), производимая каннабисом (*Cannabis sativa*) в определенный период развития растения. Имеет зеленый, темно-коричневый или черный цвет. Содержание ТГК составляет 2-10%.

Гашишное масло — экстракт растительного материала или смолы каннабиса, полученный извлечением органическими растворителями. Это темная, жидккая, вязкая масса. Содержание ТГК колеблется от 10 до 60%.

В зависимости от способа изготовления полученные наркотические средства из конопли на черном рынке получили названия: «анаша», «харас», «хирус», «марихуана», «травка», «план», «киф», «дагга», «маханга» и др.

Способы употребления наркотических средств из конопли:

- Курение (вдыхание дыма). С этой целью используют сигареты с добавкой гашиша или гашишного масла. Наркотический эффект появляется через несколько минут.

ОНТҮСТІК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Казақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии	55/
Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	1 стр из 65

• Оральное употребление. Чаще всего жевание, заварка, напитки, конфеты с добавкой марихуаны и т.д. Наркотический эффект появляется через 0,5-1 ч. Действие одной дозы длится 3-5 ч, иногда 12 ч и более. При употреблении марихуаны, по описанию Э. А. Бабаяна, физиологическое действие на организм напоминает действие опия. Развивается эйфория, которая сопровождается двигательным и речевым возбуждением (появляется необходимость быстро ходить, прыгать, бегать, танцевать), яркими красочными галлюцинациями, ощущением беззаботности и веселья. В таком состоянии человек высказывает свои сокровенные мысли. Любые действия окружающих вызывают неудержимый смех, внимание отвлекается, ассоциации возникают легко и быстро. Возникает гипертрофия собственного «Я» (субъект считает себя высшим человеческим существом), раздвоение личности. Появляется чувство ужаса перед любым шумом (навязчивое ощущение тикания часов, жужжания комара). Нарушается представление о времени и пространстве. Расстояние между двумя рядом стоящими предметами кажется настолько огромным, что рука никогда не дотягивается до рядом стоящего стакана, а вертикальная лестница у стены «тянется до самого неба». Наблюдается обострение эмоциональных переживаний (давно пережитые сцены прошлого оживают перед глазами в мельчайших деталях с острыми эмоциональными переживаниями). Затем наступает общая слабость, вялость, плаксивость и долгий, глубокий сон с замедлением пульса и понижением температуры тела. Характер действия гашиша зависит от особенностей организма, принятой дозы и активности наркотического средства. Длительное применение наркотических средств из конопли снижает умственные способности человека. Каннабиноиды поражают легкие, сердце, снижают содержание тестостерона (у мужчин), накапливаются в женских репродуктивных органах, вызывают токсическое действие на развитие плода, тяжелое течение родов и раннюю смерть младенцев. При смертельных отравлениях гашишем (в эксперименте на животных) в мозге выявляются тяжелые деструктивные нарушения (венозный застой, различная деструкция ганглиозных клеток вплоть до их гибели). В сердечной мышце отмечены очаговая дистрофия, кровоизлияния, в легких — полнокровие, массивные кровоизлияния, эмфизема, острая токсическая пневмония, в печени — тяжелая дистрофия.

Биотрансформация и пути метаболизма

При курении каннабиноиды быстро всасываются в кровь. Вследствие разложения веществ возрастает количество физиологически активных соединений КБ и Δ9-ТГК. Концентрация ТГК в крови достигает максимума через 5-30 мин.

Метаболитические процессы проходят активно. Известно около 50 метаболитов каннабиноидов. При введении каннабиноидов через рот за счет плохой растворимости концентрация в крови нарастает медленно и достигает максимума в зависимости от формы приема через 1-3 ч.

Накапливаются и подвергаются различным процессам метаболизма каннабиноиды в печени. Δ9-ТГК хорошо растворим в жирах, поэтому локализуется, в основном, в печени, почках, легких, мозге, селезенке, костном мозге.

Δ9-ТГК образует неактивный метаболит 11-норкарбокси-Δ9-ТГК, который затем связывается в виде конъюгата с глюкуроновой кислотой. Метаболиты каннабиноидов выводятся с мочой, калом, секретом слюнных и молочных желез. В зависимости от введенной дозы наркотического средства, содержащего Δ9-ТГК, 80-90% выводится за 5 дней, из них 20% с мочой и 65% с калом. Основным метаболитом каннабиноидов является ТГК-кислота, которая на 80% выводится в виде конъюгатов с глюкуроновой и серной кислотами. С калом выводится Δ9-ТГК и ТГК-кислота, конъюгированные с желчными и жирными кислотами.

Физические свойства

Δ9-ТГК и Δ9-ТГК-кислота хорошо растворимы в этиловом спирте и ацетоне, практически нерастворимы в воде. Δ9-ТГК-кислота плохо растворима в хлороформе, диэтиловом эфире и нерастворима в бензоле, петролейном эфире. Это слабая кислота, она имеет рРа=10,6.

Объекты анализа на каннабиноиды и их подготовка к исследованию

Смывы с губ, ладоней, пальцев рук. Для взятия проб с губ, ладоней, пальцев рук их протирают смоченным спиртом тампоном из марли или ваты. Из тампонов исследуемые соединения экстрагируют органическим растворителем (тексаном, этилацетатом или петролейным эфиром). Экстракти упариваются до объема 0,2-0,4 мл и подвергаются анализу.

Слюна и смывы со рта. Отбирают 10 мл слюны или ополаскивают рот 50 мл 70% этанола, к которому до насыщения добавлен хлорид натрия (с целью исключения возможности проглатывания).

Каннабиноиды повторно экстрагируют этилацетатом. Полученные экстракти упариваются до объема нескольких капель и анализируются.

ОНДҮСТИК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Казақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии	55/
Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	1 стр из 65

Плазма. 5 мл плазмы экстрагируют смесью петролейного эфира, содержащего 1,5% пентанола по объему. Экстракт упаривают до нескольких капель и исследуют.

Моча. 50 мл мочи подвергают щелочному гидролизу и образовавшуюся $\Delta 9$ -ТГК- кислоту после подкисления экстрагируют органическим растворителем, упаривают, переводят в метиловый эфир и анализируют методами ГЖХ и ГХ-МС.

Образцы наркотических средств (гашиш, марихуана, гашишное масло). Навеску образца берут в количестве 0,5-1 г и экстрагируют в течение 1 ч десятикратным количеством 96% этилового спирта, фильтруют, упаривают до небольшого объема и анализируют. Гашишное масло смешивают с 96% этиловым спиртом в соотношении 1:10 и анализируют.

Методы обнаружения каннабиноидов

Для обнаружения каннабиноидов в извлечениях из объектов используют химический метод, хроматографию в тонком слое сорбента, ГЖХ, ВЭЖХ, ГХ-МС и иммуноферментный метод. При анализе образцов наркотических средств анализ сочетается с микроскопическим исследованием.

Реакции окрашивания (предварительное исследование).

1. Экстракт из объекта в объеме нескольких капель наносят на фильтровальную бумагу, подсушивают и обрабатывают 0,5% раствором прочного синего Б в 10% растворе гидрокарбоната натрия.

Каннабиноиды обнаруживаются на бумаге в виде пурпурнокрасного пятна.

2. К части экстракта добавляют ацетальдегид, раствор ванилина в 96% этиловом спирте, концентрированную хлороводородную кислоту и 1 мл хлороформа. При встряхивании слой хлороформа окрашивается в фиолетовый цвет.

Реакциям придают судебно-химическое значение при получении отрицательного результата.

Хроматография в тонком слое сорбента. Анализ проводят на хроматографических пластинках «Силуфол». На стартовую линию хроматограммы наносят экстракт, полученный из слюны, плазмы крови, смывов со рта, мочи и помещают в систему растворителей петролейный эфир — дистилловый эфир (4:1). Хроматографирование осуществляют двукратно. После подсушивания пластинку обрабатывают 0,5% раствором прочного синего Б в 10% растворе карбоната (или гидрокарбоната) натрия. Каннабиноиды на пластинке проявляются в виде окрашенных полос или пятен красного, пурпурного, оранжевого цвета (каннабинол образует пятно с R_f 0,76 пурпурного цвета, тетрагидроканнабинол — с R_f 0,84 красного цвета).

Иммуноферментный метод. Этот метод отличается простотой выполнения и высокой чувствительностью. С его помощью можно обнаружить многие метаболиты каннабиноидов. У лиц, хронически употребляющих каннабиноиды, после последнего употребления этим методом можно их обнаружить в течение 77 дней, а у периодически употреблявших — в течение 29 дней.

Метод ГЖХ. Используется хроматограф Agilent 6890N, с капиллярными колонками длиной до 30 м, режимом постоянного давления 17 пси. Объем вводимой пробы — 1 мкл. Температура термостата колонок программируется от 200 до 280°C (10°C/мин). Температура детектора — 300°C, поток водорода — 30 мл/мин. Температура испарителя — 270°C. Время удерживания $\Delta 9$ -ТГК составляет в данных условиях 7,57 мин.

Метод ВЭЖХ. Этот метод отличается большей селективностью, чем ТСХ и реакции окрашивания. Для обнаружения используется жидкостный хроматограф «Милихром А-02» в условиях, приведенных ранее (см. раздел 8.3). Обнаружение каннабиноидов ведут по удерживаемому объему или времени удерживания и по спектральным отношениям при нескольких длинах волн (табл. 35).

Метод газовой хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией. После подготовки пробы мочи к анализу и метилирования $\Delta 9$ -ТГК-кислоты пробы вводят в хроматомасс-спектрометр. Разделение веществ и их обнаружение проводят по методике, описанной ранее (см. раздел 7.2.3). Метиловый эфир $\Delta 9$ -ТГК-кислоты имеет характерные отношения масса/заряд (m/z): 372, 357 и 313. Для $\Delta 9$ -ТГК характерны масс-фрагменты m/z 314, 299, а для метилового эфира $\Delta 9$ -ТГК — фрагменты с отношением m/z 328, 313.

Анализ образцов наркотических средств (гашиш, марихуана) и частей конопли, изъятых из содержимого желудка

Для отделения твердых включений при осмотре объектов (содержимого желудка) рекомендуется смешать их с водой очищенной, слить в конический сосуд или отцентрифугировать в пробирке и выделившийся осадок подвергнуть микроскопическому исследованию. Характерными признаками присутствия в объекте частей конопли являются наличие нежелезистых волосков, многоклеточных и одноклеточных железистых волосков трех форм: сидящих на одноклеточной ножке, длинных на

ОНДҮСТІК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Қазақстан медицина академиясы» АҚ	 SKMA —1979—	SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	55/ 1 стр из 65	

многоклеточной ножке, небольших железистых с одноклеточной ножкой, пыльцевых зерен округлой формы, скоплений клеток, выделяющих смолу.

Количественное определение

Для количественного определения каннабиноидов в анализируемом объекте предложены методы газовой хроматографии и высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Метод газовой хроматографии. Определение проводят по площади или высоте пика анализируемого вещества и внутреннего стандарта. В качестве внутреннего стандарта используют аналог исследуемого вещества, меченного стабильным изотопом, в частности, дейтерированные соединения.

Хроматографический внутренний стандарт добавляют в анализируемую пробу непосредственно перед вводом в хроматограф в концентрации, сопоставимой с концентрацией анализируемого вещества.

Чтобы контролировать весь процесс пробоподготовки и анализа, внутренний стандарт часто рекомендуют добавлять к аликовому биожидкости, отобранный для гидролиза или изолирования. В этом случае внутренний стандарт подвергается всем операциям вместе с анализируемым веществом.

В таком варианте использования внутреннего стандарта результаты количественного определения будут более точными и воспроизводимыми.

Содержание каннабиноидов рассчитывают по калибровочному графику, выражающему зависимость высоты (площади) пика ионов анализируемого вещества (внутреннего стандарта) от концентрации в диапазоне 1,0-10,0 мкг/мл.

Высокоэффективная жидкостная хроматография. Определение концентрации каннабиноидов проводят, используя метод добавок, метод внутреннего или внешнего стандарта. Формулы для расчета количества каннабиноидов и методики определения приведены в разделе 8.1.

4. Иллюстративный материал: слайды, таблицы

5. Литература: Приложение №1

6. Контрольные вопросы (обратная связь)

1. Токсикологическое занятие группы
2. Методы изолирования
3. Современные методы изолирования из биологических жидкостей
4. Методы идентификации
5. Методы количественного определения.

Лекция № 9

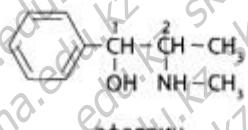
1. Тема - Химико-токсикологический анализ наркотических веществ, изолируемых из биологического материала

2. Цель: Ознакомить обучающихся с методиками проведения судебно-медицинских экспертиз химико-токсикологических исследований наркотических веществ из группы фенилалкиламинов и индолов, выделенных из биологического материала, в соответствии с НД.

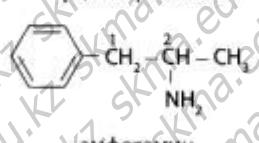
3. Тезисы лекции

В токсикологической химии в этой группе рассматривают природный алкалоид эфедрин, его диастериозомер псевдоэфедрин, а также синтетические производные фенилалкилами- нов: эфедрон, амфетамин и метамфетамин. Наибольшее медицинское применение имеет эфедрин. Он используется в качестве сосудосуживающего и бронхорасширяющего средства. Амфетамин является психостимулятором. Его применение возможно при астенических явлениях после черепно-мозговых травм, после длительного постельного режима.

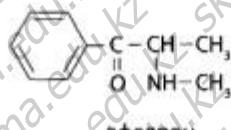
Применение производных фенилалкиламинов, особенно амфетамина и близких ему по химическому строению соединений, ограничено. Это связано с тем, что побочным эффектом их действия является эйфорическое состояние, т.е. эти производные имеют высокий наркоманический потенциал. В данном разделе остановимся на наиболее известных соединениях, имеющих токсикологическое значение.



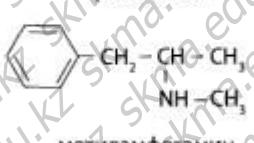
L-эритро-2-метиламино-1-фенилпропанол-1



1-фенил-2-аминопропан



1-метиламиноэтил-фенилкетон



1-фенил-2-метиламинопропан

Амфетамин в виде таблеток по 0,01 г применяется в настоящее время очень редко, что связано с побочными влияниями (нарушение высшей нервной деятельности, повышение артериального давления, аритмии, сонливость, апатия вместо возбуждения, потеря работоспособности, формирование зависимости, увеличение вероятности мозговых кровоизлияний, параноидные психозы). Амфетамин используется с такими же ограничениями, как и любое наркотическое средство. Благодаря стойкости в организме его действие длится от 2 до 8 ч.

За счет повышения настроения, физической активности, работоспособности, снижения усталости амфетамин и метамфетамин использовались в качестве допинговых средств для увеличения спортивных показателей. В настоящее время эти препараты взяты под особый контроль и запрещены для использования спортсменами.

Метамфетамин в РФ перенесен в список № 1 Постоянного Комитета РФ по контролю наркотиков, и оборот его полностью запрещен.

Злоупотребление амфетаминами часто сочетается со злоупотреблением спиртными напитками и снотворными средствами, что приводит к более грубым личностным изменениям, и по клинической картине они близки к кокайнизму. По данным Н.В.Веселовской, амфетамины вначале вызывают прилив сил, эйфорию, потерю аппетита, учащение пульса и дыхания, расширение зрачков. Длительный прием амфетаминов приводит к быстрому снижению веса, иммунитета, разрушению легких, печени, почек, ухудшению зрения, головокружению, потере координации и коллапсу. Психическая зависимость развивается очень быстро — после 3-5 внутривенных инъекций и через 2-3 нед. нерегулярного орального приема. Физическая зависимость характеризуется признаками синдрома отмены. Абстинентный синдром возникает через 9 ч после отмены препарата и может длиться до 10 нед. За счет развивающейся толерантности разовая доза амфетамина может доходить до 1 г, метамфетамина — до 0,8 г.

Прием больших доз («сверхдоза») сопровождается увеличением кровяного давления, появлением лихорадочного состояния, токсическими («амфетаминовыми») психозами, подобными параноидной шизофрении, сердечными приступами и инфарктом. Картину острого отравления амфетамином похожа на острое смертельное отравление кофеином и дополняется нарушением сердечной проводимости.

Эфедрин — алкалоид, содержащийся в различных видах эфедры (*Ephedra*, семейство *Ephedraceae*).

Он применяется в медицинской практике в виде гидрохлорида. Его назначают для стимулирования а- и (3-адренорецепторов, ЦНС, для сужения сосудов и уменьшения воспалительных процессов при ринитах, для повышения артериального давления, при оперативных вмешательствах, при травмах, кровопотерях, при миастении, нарколепсии (непреодолимого желания спать), отравлений снотворными и наркотическими средствами, местно — как сосудосуживающее средство, при бронхоспазмах и для расширения зрачка с диагностической целью. Применяют эфедрин в виде порошка, таблеток, инъекционных растворов. Эфедрина гидрохлорид входит в состав комбинированных лекарственных препаратов («Теофедрин», «Солутан», «Бронхолитин», «Эфатин») и назначается при бронхоспазмах.

К эфедрину может быть привыкание, что приводит к нарушению психики, слуховым и обонятельным галлюцинациям.

ОНТҮСТІК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Казақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии	55/
Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	1 стр из 65

В судебно-медицинской практике отравления эфедрином встречаются при использовании его в качестве гипертензивного препарата для искусственного повышения артериального давления. Клиника острого отравления (1-5 мг/кг) характеризуется вначале бессонницей, головокружением, трепором конечностей, сердцебиением, повышением артериального давления, аритмией, затем возникают тошнота, рвота, задержка мочеиспускания, возбуждение ЦНС, резкое психическое и двигательное беспокойство, отек легких, повышенная возбудимость дыхательного центра и его истощение.

Эфедрон (марчефаль, джеф) — продукт окисления эфедрина. Его использование наблюдалось в основном в России. Злоупотребление этим веществом носит название «эфедроновой наркомании». Эфедрон отнесен Постоянным Комитетом РФ по наркотикам к списку №1 и оборот его в нашей стране запрещен.

Эфедроном начинают злоупотреблять подростки. Вводится эфедрон с наркотической целью от 2 до 80 мл кустарно изготовленного средства в сутки неопределенной концентрации. С повышением толерантности число инъекций может доходить до 10 раз в сутки и более. Наркотический эффект развивается сразу или через 15-20 мин и длится 6-8 ч. Состояние опьянения характеризуется чувством эйфории, прилива энергии, легкости тела, ясности мысли, повышенной трудоспособности. Больные многословны, суетливы, деятельность их непродуктивна, свое состояние они оценивают как «состояние счастья, безмерной радости». При введении наркотика наблюдаются вегетативно-сосудистые изменения: возникает ощущение ползанья мурашек, «волося встают дыбом на голове», развивается тахикардия, сухость во рту, повышается артериальное давление. У больных наблюдаются тяжелые неврологические и психические расстройства. Психозы характеризуются бредом преследования, ревности, тревогой, страхом, больные боятся людных мест, не могут переходить улицу, пользоваться метро и т.д. Одновременно они ищут общения и отличаются многословием, непоследовательностью, суетливостью, неусидчивостью.

Метиленоксипроизводные амфетамина. Эта группа соединений получила широкое распространение в настоящее время во многих странах, в том числе и в РФ, за счет их способности вызывать легкую эйфорию и особое психическое состояние, для которого характерно обострение эмоционального восприятия, возрастание силы эмоций и ощущений. Долгое время считалось, что эти вещества безопасны, их применяли в психиатрии для снятия беспокойства пациентов. При изучении последствий применения этих препаратов появились сообщения о вредных побочных эффектах, психических отклонениях и серьезных мозговых нарушениях. Все соединения этой группы по Конвенции ООН и Постоянным Комитетом по контролю наркотиков РФ запрещены для употребления и введены в список № 1.

Популярным наркотиком в увеселительных заведениях является метилендиокси- мегамфетамин — МДМА («уличное» название «экстази»). Это белые, красные, розовые таблетки круглой формы с вдавленным рисунком (серп и молот, торговый знак «мерседес», стилизованный зайчик и т.д.). У человека, принявшего препарат, сердце бьется быстрее в такт современной музыки, человека переполняет радость и счастье. Молодежь не считает это вещество наркотиком. Чтобы не уставать на дискотеке всю ночь, подростки принимают 3—4 таблетки, через 2 дня организм требует 6, затем 10, 12 таблеток и т.д. В состоянии эйфории человек теряет потребность в пище, он живет за счет внутренних резервов. За ночь человек худеет примерно на 6 кг.

Последствия применения таблеток «экстази» — психозы, депрессии, необратимое разрушение личности, отмечены многочисленные случаи тяжелых психических заболеваний. Этому способствует окружающая обстановка дискотек и вечеринок, большое скопление людей, повышенная температура помещений, длительная и интенсивная физическая нагрузка. При незначительной передозировке возможен летальный исход. Смерть наступает в результате осложнений сердечно-сосудистой системы, острой сердечной недостаточности, остановки сердца, отказа почек, гипертермии (до 40-42 °C). При патологоанатомическом исследовании погибших отмечают значительные изменения печени, почек, мозга.

Пути метаболизма. Препараты группы фенилалкиламинов быстро всасываются из ЖКТ после орального применения. Они легко преодолевают гематоэнцефалический барьер. В метаболизме фенилалкиламинов можно выделить следующие основные процессы. В I фазе метаболизма проходит окислительное дезаминирование, гидроксилирование ароматического кольца, деалкилирование у азота боковой цепи. Во II фазе метаболизма гидроксилированные метаболиты образуют конъюгаты с глюкуроновой и серной кислотами.

ОНДҮСТІК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Казақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии	55/
Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	1 стр из 65

В неизмененном виде амфетамин и эфедрон выводятся с мочой в количестве 20-30%, метамфетамин — около 45%, эфедрин — 55-75%, норэфедрин — 90%.

Физико-химические свойства фенилалкиламинов. В виде солей хлороводородной кислоты это белые кристаллические вещества без запаха, легкорастворимы в воде, этаноле, практически нерастворимы в диэтиловом эфире и хлороформе. Все производные фенилалкиламинов — вещества основного характера (табл. 31).

Основания этих веществ, за исключением эфедрина, представляют собой маслянистые, труднолетучие жидкости. Они хорошо растворимы в этаноле, хлороформе, диэтиловом эфире. Основание эфедрина хорошо растворимо в воде.

При изолировании из биологических объектов общими методами (ненаправленный анализ) производные фенилалкиламинов экстрагируются хлороформом в виде оснований из водных вытяжек при pH=8-10. При направленном анализе производные фенилалкиламинов экстрагируют из водных вытяжек при pH=12 диэтиловым эфиром или хлороформом. Рекомендуется для изолирования производных фенилалкиламинов из мочи использовать твердофазную экстракцию. Для очистки извлечений предложена реэкстракция при разных значениях pH.

При проведении общего ТСХ-скрининга фенилалкиламины обнаруживают на хроматографических пластинах с помощью реактива Драгендорфа.

С осадительными реактивами фенилалкиламины образуют аморфные или кристаллические осадки. Для обнаружения производных фенилалкиламинов используют хроматографию в тонком слое сорбента, УФ-спектрофотометрию и ИК-спектроскопию, ВЭЖХ, ГЖ, ГХ/МС и химический метод.

Хроматография в тонком слое сорбента. Остаток после испарения экстракта из водной вытяжки при pH=11-12 наносят на пластиинки «Сорб菲尔». Параллельно на стартовую линию наносят спиртовые растворы «стандартов» (по 10-15 мкг) эфедрина, эфедро-на, метамфетамина. Пластиинки помещают в системы растворителей бензол — этанол — диэтиламин (9:1:1), хлороформ — ацетон — этанол — 25% раствор аммиака (20:20:3:1) или толуол — этанол — триэтиламин (9:1:1). После пробега фронта растворителя на расстояние 10 см пластиинку вынимают, высушивают и фенилалкиламины обнаруживают путем обработки пластиинки реактивом Драгендорфа — появляются оранжевые пятна.

При опрыскивании пластиинки раствором нингидрина в ацетоне (или н-бутаноле) и при нагревании в сушильном шкафу при 70-80°C эфедрин и эфедрон образуют пятна на пластиинке, окрашенные в синий или сине-фиолетовый цвет, амфетамин — пятна голубого цвета, метамфетамин — желто-коричневого. При анализе с использованием системы растворителей бензол — этанол — диэтиламин (9:1:1) Rf для эфедрина составляет $0,41 \pm 0,02$, для эфедрона — $0,65 \pm 0,02$, для метамфетамина — $0,42 \pm 0,02$.

УФ-спектрофотометрия используется после очистки извлечений (экстрактов) из объектов с помощью хроматографии в тонком слое сорбента и элюировании с пластиинки очищенных соединений 0,1 М раствором хлороводородной кислоты. Эфедрин, амфетамин и метамфетамин в среде хлороводородной кислоты имеют три полосы поглощения с максимумами при 251, 257 и 263 нм. В УФ-спектре раствора эфедрона обнаруживается одна полоса с максимумом при длине волны 251 нм.

ИК-спектроскопия. Остаток после испарения хлороформного экстракта очищают с помощью тонкослойной хроматографии, с пластиинки фенилалкиламины элюируют этанолом, который испаряют досуха. Сухой остаток растирают с бромидом калия, прессуют и анализируют в ИК-спектрометре.

Высокоэффективная жидкостная хроматография. Для обнаружения фенилалкиламинов с помощью ВЭЖХ рекомендуются следующие условия (С.К.Еремин): прибор «Милихром», колонка 62x2 мм, сорбент обращеннофазовый «Сепарон С-18» (5 мкм), подвижная фаза (элюент) — смесь водного 0,2 М раствора ортофосфорной кислоты, метанола и диэтиламина 75:20:1, детектирование при 210 нм, скорость элюирования — 50 мкл/мин, объем вводимой пробы — 7 мкл, масштаб чувствительности — 0,4 е.о.п.

Обнаружение производных фенилалкиламинов проводят по времени (объему) удерживания.

Обнаружение производных фенилалкиламинов проводят по времени (объему) удерживания и по спектральным отношениям.

Газохроматографический анализ в сочетании с масс-спектрометрией (ГХ/МС). Проводится после получения фторпроизводных с использованием детектора по захвату электронов.

Сухой остаток после испарения экстракта из водной вытяжки с pH= 11-12 растворяют в 0,5-1 мл толуола и добавляют соответствующий реагент для перевода фенилалкиламинов в летучее фторпроизводное по методике, описанной ранее в разделе 7.2.3. Смесь нагревают до 60°C 30 мин. После охлаждения добавляют 5% раствор гидрокарбоната натрия и верхнюю фазу, содержащую

ОНДҮСТИК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Казақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	55/ 1 стр из 65

фторпроизводные, вводят в газовый хроматограф, соединенный с масс-спектрометром. Обнаружение фенилалкиламинов проводят по времени удерживания и характерным линиям, выражющим отношение m/z в масс-спектре.

Химический метод. Из химических реакций для обнаружения производных фенилалкиламинов используют реакции окрашивания, комплексообразования и микрокристаллоскопические.

Реакции окрашивания. Проводятся на фарфоровых чашках с сухими остатками, полученными после испарения экстрактов из биологических объектов.

Реакция с реагентом Марки. На сухой остаток наносят реагент Марки. При наличии амфетамина наблюдают оранжевое окрашивание, переходящее постепенно в коричневое. При наличии метамфетамина образуется желто-зеленое окрашивание.

Реакция с нингидрином. При добавлении к сухому остатку гидроксида натрия до $pH=8,5$, раствора нингидрина и последующем нагревании эфедрин образует синефиолетовое окрашивание, эфедрон — фиолетовое, амфетамин — розово-оранжевое, метамфетамин — зеленое.

Микрокристаллоскопические реакции. Из производных фенилалкиламинов кристаллические осадки образует с различными реагентами только эфедрин. На сухой остаток наносят каплю 0,1 М раствора хлороводородной кислоты и каплю соответствующего реагтива. Через 10-15 мин наблюдают кристаллы характерной формы при рассматривании под микроскопом.

Реакция с реагентом Драгендорфа в модификации А. С. Тищенко. Состав используемого реагтива: 1,5 г висмутата натрия ($NaBiO_3$), 7,5 г йодида калия (КJ) растворяют в 100 мл 2% раствора серной кислоты. Эфедрин с данным реагентом образует игольчатые кристаллы и кристаллы в виде пластинок неправильной формы и сростки из них (рис. 42). По этой реакции можно обнаружить 0,5 мкг эфедрина в пробе при предельном разбавлении 1:16 000. По данным М.Д.Швайковой, микрокристаллоскопическая реакция эфедрина с реагентом Драгендорфа специфична.

Реакция с платинохлороводородной кислотой и йодидом калия (А. С. Тищенко). К капле исследуемого раствора на предметном стекле добавляют каплю 0,5% раствора платинохлороводородной кислоты (H_2PtCl_6) и несколько кристаллов йодида калия. Через 15-20 мин. наблюдают образование красно-фиолетовых кристаллов в виде пластинок неправильной формы, собранных в сростки, напоминающие по форме ветки и розетки.

Экспресс-анализ производных амфетаминов

Анализ проводится с образцами изъятых вещественных доказательств (таблетки, порошки, капсулы и т.п.).

Обнаружение с реагентом Марки. На исследуемый образец наносят реагент. Наблюдают появление окрашивания (цвета образующихся продуктов описаны ранее).

Реакция с концентрированной серной кислотой. Характерного окрашивания не образуют амфетамин и метамфетамин. Реакция используется для отличия амфетамина и метамфетамина от других производных.

Реакция с реагентом Симона. При добавлении к испытуемому образцу 1 капли смеси равных объемов 10% раствора ацетальдегида и 1% раствора нитропруссида натрия, а затем 2 капель 2% раствора карбоната натрия в присутствии метамфетамина появляется голубое окрашивание.

Реакция с модифицированным реагентом Симона. При добавлении к образцу 1 капли 1% раствора нитропруссида натрия в 5% водном растворе ацетона и 1 капли 2% раствора карбоната натрия в присутствии амфетамина появляется пурпурная окраска.

Результатам реакций экспресс-анализа можно придать судебно-химическое значение только при получении отрицательного результата в связи с их неспецифичностью. Положительный результат реакций требует подтверждения с помощью физико-химических методов.

Количественное определение

Для количественного определения фенилалкиламинов используют фотометрический метод и высокоэффективную жидкостную хроматографию.

Экстракционно-фотометрический метод используется для определения эфедрина в моче. 5 мл мочи подщелачивают 0,5% раствором гидроксида натрия до $pH=12$ и экстрагируют 3 раза 20 мл диэтилового эфира. Эфирные экстракты объединяют и испаряют досуха. Остаток переносят в колориметрическую пробирку, добавляют до насыщения кристаллический сульфат натрия и смешивают с 1 мл аммиачного раствора сульфата меди и 3 мл 5% раствора сероуглерода в бензole.

ОНДҮСТІК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Казақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	55/ 1 стр из 65

Слой бензола окрашивается в желтый цвет. Оптическую плотность измеряют с помощью спектрофотометра или фотоэлектроколориметра при длине волны 440 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Расчет количества эфедрина в моче проводят по калибровочному графику.

Высокоэффективная жидкостная хроматография. Условия определения описаны в разделе «Обнаружение фенилалкиламинов». Для количественного анализа применяют метод добавок. С этой целью проводят анализ экстракта из биологического объекта с добавлением в него известного количества обнаруженного фенилалкиламина.

Метод внешнего стандарта. Вначале проводят анализ экстракта из биологического объекта, а затем анализ эталонного раствора обнаруженного вещества с концентрацией, близкой к концентрации исследуемого соединения в экстракте. Расчет ведут по формуле.

Метод внутреннего стандарта. К объекту добавляют известное количество вещества, принятого за «стандарт».

4. Иллюстративный материал: слайды, таблицы

5. Литература: Приложение №1

6. Контрольные вопросы (обратная связь)

1. Клиническая токсикология, задачи и основные разделы.
2. Распространенность острых отравлений, характер, причины.
3. Организация оказания специализированной помощи при острых отравлениях.
4. Методы дезинтоксикационной терапии.
5. Какими документами регламентируется аналитическая диагностика острых отравлений?

Лекция № 10

1. Тема - Химико-токсикологический анализ наркотических веществ, изолируемых из биологического материала

2. Цель: Ознакомить обучающихся с методиками проведения судебно-медицинских экспертиз химико-токсикологических исследований наркотических веществ из группы тропана и ЛСД, выделенных из биологического материала, в соответствии с НД.

3. Тезисы лекции

Производные индола — галлюциногены

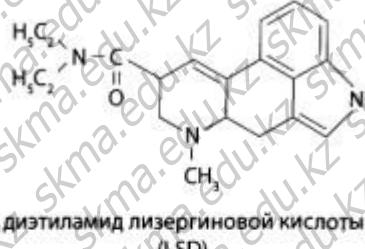
В группу галлюциногенов включены вещества различного химического строения, объединенные по признаку токсического воздействия на организм человека, главным образом по их влиянию на ЦНС.

Галлюциногены способны вызвать изменение настроения и характер мышления человека.

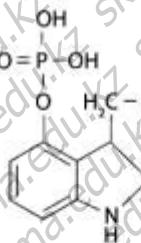
Возбуждение ЦНС, приводящее к сдвигу сознания, эйфории, неадекватному восприятию окружающей среды, нарушению логического мышления, сильной депрессии и деперсонализации, может быть причиной несчастных случаев и даже самоубийства.

По химической классификации галлюциногены можно разделить на производные индола, фенциклин и близкие по структуре соединения, являющиеся производными амфетамина.

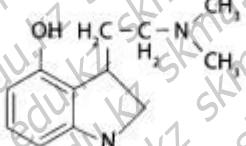
К галлюциногенам относят дигидротиазин-4-карбоновую кислоту (LSD), бутофенин, псилоцибин, псилоцин и др.



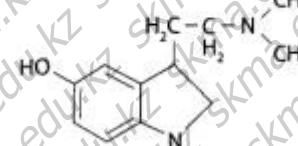
диэтиламид лизергиновой кислоты
(LSD)



псилоцибин
фосфорнокислый эфир-4-гидрокси-
-N-диметилтриптамина



псилоцин
4-гидрокси-N-диметилтриптамин



буфотенин
5-гидрокси-N-диметилтриптамин

Для России наибольшее токсикологическое значение имеет диэтиламид лизергиновой кислоты, поэтому остановимся на рассмотрении его токсикологического значения и анализа.

Токсикологическое значение и анализ LSD

LSD — бесцветное кристаллическое вещество без запаха и вкуса, нерастворимо в воде, растворимо в органических растворителях, химически стабильно. При кипячении в течение 1 ч в 7% водном растворе щелочи гидролизуется до лизергиновой кислоты и диэтиламина. Обладает основными свойствами, образует соли с неорганическими и органическими кислотами.

Диэтиламид лизергиновой кислоты (LSD) был синтезирован в 1938 г. Ф.Гофманом как средство для стимуляции кровообращения и дыхания. Многочисленные попытки применить его для лечения психических нарушений не привели к его использованию в качестве терапевтического средства, так как уже в 1943 г было обнаружено его галлюциногенное действие.

Употребление LSD в качестве наркотического средства началось с 1960-х годов. К концу 1960-х годов применение LSD приняло массовый характер в Российской Федерации распространение и применение LSD и других производных лизергиновой кислоты запрещено. Нелегально LSD распространяется в виде различных его субстратов с сорбентами. Обычно употребляемая доза LSD составляет 30-50 мкг. Однако доза в 10 мкг уже может вызвать эйфорию. Доза 50-200 мкг вызывает галлюцинации. При повторных употреблениях развивается толерантность. Пероральный прием LSD приводит к быстрому всасыванию в кровь, проникновению через гематоэнцефалический барьер и достижению мозга. Длительность действия 8-12 ч. Максимальная концентрация в крови при приеме 50-70 мкг достигается в течение 1 ч. Через 6 ч концентрация снижается до 1,0—1,2 нг/мл и через 24 ч до 0,2 нг/мл крови.

Метаболизм LSD. Метаболизм LSD в организме человека изучен недостаточно. Известно, что около 1% LSD из организма человека выводится с мочой в неизмененном состоянии.

Метаболизм LSD изучался на животных и *in vitro* с микросомами печени человека. В основном метаболизм LSD происходит по путям деалкилирования и гидроксилирования ароматического кольца.

Гидроксипроизводные LSD образуют конъюгаты с глюкуроновой кислотой и в основном так выводятся из организма.

Изолирование, обнаружение и количественное определение LSD. Объектами анализа являются кровь и моча. Время анализа ограничено 72 ч. Основной объект анализа — кустарно изготовленные образцы LSD. Содержание LSD в биологических жидкостях и органах незначительно и составляет десятые доли нанограмма.

Из биологических объектов (крови, мочи) можно экстрагировать следы LSD и его метаболитов не позднее, чем через 72 ч после приема наркотика. После этого времени результаты анализа малодостоверны. Из кустарно изготовленных препаратов и биологических объектов LSD экстрагируют

ОНТҮСТІК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Казақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	55/ 1 стр из 65

органическим растворителем (хлорбутаном или метиленхлоридом в смеси с толуолом). Органический растворитель испаряют и с остатком проводят следующие реакции.

Реакция с реагентом Марки. К части сухого остатка добавляют 2-3 капли реагента Марки.

Образуется оранжево-коричневое окрашивание, переходящее в фиолетовое.

Реакция с п-диметиламинонбензальдегидом в присутствии серной кислоты и хлорида железа (III) (реактив ван-Урка) — образуется красно-фиолетовое или фиолетовое окрашивание. Это труповая реакция на алкалоиды спорыньи.

Менее специфичны реакции с концентрированной серной кислотой, с реагентом Фреде, которые также могут быть использованы для подтверждения наличия LSD.

Тонкослойная хроматография. Анализ проводится с извлечением из биологического объекта или из кустарно изготовленного препарата LSD. Сухой остаток после испарения органического растворителя растворяют в метаноле и наносят на стартовую линию пластиинки «Силуфол». Хроматографируют в системе хлороформ — ацетон — этанол — 25% раствор аммиака (20:20:3:1). Пластиинку высушивают и детектируют в УФ- свете (366 нм), а затем обрабатывают реагентом Эрлиха (п-диметиламинонбензальдегид в кислой среде). Пятно LSD проявляется со значением Rf 0,57.

УФ — спектрофотометрия. Раствор остатка после испарения экстракта из объекта в растворе 0,1 М хлороводородной кислоты обнаруживает максимум при 315 нм; в 0,1 М растворе гидроксида натрия — при 310 нм.

ИК-спектроскопия. Остаток после испарения экстракта из объекта растирают с кристаллами бромида калия и регистрируют ИК-спектр. LSD обнаруживает характеристические полосы с волновыми числами 1626, 1307, 1136, 1066, 1212 и 749 см⁻¹.

Газовая хроматография в сочетании с масс-спектрометрией. Анализ проводят на кварцевой колонке длиной 25 мм и диаметром 0,2 мм с диметилсиликоновой стационарной фазой (хроматограф фирмы «Хьюлетт Паккард») и ионизацией электронным ударом (детектор масс-селективный). LSD обнаруживает характерные пики при соотношении m/z 44, 72, 207, 221, 280, 323.

Метод ВЭЖХ. Этот метод используется для обнаружения и количественного определения LSD.

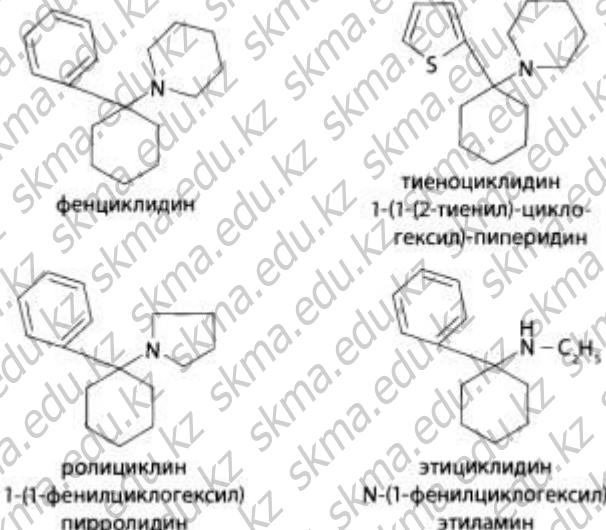
Хроматографирование проводят на колонках КАХ-4 80х2, заполненных сепароном С-18 в приборе «Милихром». Элюентом служит смесь фосфатного буфера и ацетонитрила в соотношении 70:30.

Скорость элюирования 120 мкл/мин. Идентификацию проводят по отношению оптической плотности при длинах волн 230, 270, 304, 350 нм к оптической плотности при длине волны 210 нм. Объем вводимой пробы 10 мкл. Время удерживания LSD — 6 мин, лизергиновой кислоты — 2,5 мин. Расчет содержания проводят по внутреннему стандарту.

Менее чувствительным и поэтому все реже используемым является фотометрический метод по реакции с реагентом Эрлиха (п-диметиламинонбензальдегид в растворе серной или хлороводородной кислоты).

Фенциклидин и его аналоги (галлюциногены)

Фенциклидин синтезирован как средство для внутривенного наркоза. В отличие от опиатов, он не оказывает отрицательного действия на сердечно-сосудистую и дыхательную системы. Однако сильные токсические побочные эффекты, в том числе галлюцинации, ментальные расстройства, депрессии закрыли путь применения фенциклидина в терапевтической практике. В настоящее время в Российской Федерации препарат запрещен к применению. Пути его поступления нелегальны. Наряду с фенциклидином запрещены некоторые его аналоги. Все препараты находятся под международным контролем. Препаратуре этой группы соединений синтезируются только в подпольных лабораториях. Следует отметить, что фенциклидин рассматривается в некоторых зарубежных армиях как возможное боевое отравляющее вещество.



Токсикологическое значение

Фенциклидин — это белый кристаллический порошок, легко растворимый в воде, обладает слабыми основными свойствами ($pK_a=8,5$). На подпольном рынке фигурирует в виде серовато-белой, коричневой сыпучей или вязкой массы.

Фенциклидин наркоманы принимают орально, путем вдыхания или курения. Более 70% фенциклидина применяется путем курения с табаком, марихуаной или другими растениями. При попадании в кровь дозы 1 мг наблюдается эйфория, напоминающая алкогольную интоксикацию. Внутривенное введение фенциклидина в дозе 0,075-0,1 мг/кг вызывает чувство отчужденности, путаницу мыслей, апатию, сонливость, аналгезию. Доза около 1 мг вызывает чувство эйфории, которое длится обычно до 10-12 ч.

Токсическое действие наблюдается при вдыхании и курении 5-15 мг, тяжелые отравления — при дозе 25 мг фенциклидина. При хроническом употреблении наблюдается толерантность и привыкание.

Синдром отмены продолжается несколько дней и сопровождается тяжелой депрессией.

Метаболизм фенциклидина. В организме фенциклидин метаболизируется по пути гидроксилирования циклогексанового и пиперидинового колец с образованием биологически активных метаболитов. Далее гидроксипроизводные фенциклидина связываются с глюкуроновой и серной кислотами и в таком виде удаляются из организма через почки.

При метаболизме может происходить разрыв пиперидинового кольца с образованием фенилциклогексиламиновалериановой кислоты. Число идентифицированных метаболитов фенциклидина достигает 10 и более.

Основное количество фенциклидина выводится в виде конъюгатов (более 70%), часть в виде исходного соединения. В течение 7 ч выводится до 50% начальной дозы. Однако фенциклидин может находиться в крови до 10 и более суток.

В качестве объектов исследования на фенциклидин могут быть направлены образцы наркотического средства, моча, кровь или плазма.

Экспресс-анализ наркотического средства на фенциклидин проводят с использованием реакции окрашивания.

К анализируемому образцу добавляют каплю 16% раствора хлороводородной кислоты и каплю 2,5% раствора тиоцианата кобальта (II) — появляется голубое окрашивание. Реакция неспецифична, такую же окраску дают кокаин и метаквалон.

Изолирование фенциклидина из мочи и плазмы крови проводят с помощью специальных пробирок, содержащих экстрагент для веществ основного характера и электролит как высылающий агент. Слой органического растворителя отделяют, упаривают до небольшого объема и анализируют.

Обнаружение фенциклидина проводят с помощью химических реакций и физикохимическими методами.

Хроматография в тонком слое сорбента. Используют пластинки со слоем силикагеля или со слоем силикагеля, импрегнированного 0,1 моль/л раствором гидроксида калия, и высушенные. В качестве системы растворителей рекомендованы две: этилацетат — метанол — 25% раствор аммиака (85:10:5) и хлороформ — метанол (9:1) для импрегнированных пластинок. Проявителем служит реактив

ОНТҮСТІК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Казақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	55/ 1 стр из 65

Драгендорфа. Фенциклидин и его аналоги образуют окрашенные в оранжевый цвет пятна и имеют разные значения Rf.

Реакция с реагентом Марки. На сухой остаток наносят каплю реагента Марки. В присутствии фенциклидина появляется слабо-розовое окрашивание.

Реакция с реагентом Манделина. На сухой остаток наносят каплю реагента Манделина — наблюдают появление оранжевого окрашивания.

Реакция с реагентом Эрлиха (смесь диметиламинобензальдегида с хлороводородной кислотой). При добавлении к сухому остатку реагента Эрлиха наблюдают красное окрашивание.

Обнаружение с помощью ГЖХ. При проведении общего ГЖХ-скрининга на наркотические и одурманивающие вещества фенциклидин обнаруживают по индексу удерживания.

Для фенциклидина и его аналогов разработана частная методика газожидкостной хроматографии в следующих условиях: газожидкостный хроматограф «Аджилент» или «Кристалл-2000М»; колонка кварцевая капиллярная 30x0,32 мм с фенилметилси- ликоновой стационарной фазой HP-5; температура испарителя — 240°C; температура детектора — 290°C; температура колонки программируется от 100°C по 15°C в минуту до 280°C; газ-носитель — гелий; детектор — пламенно-ионизационный.

Идентификация веществ проводится по индексам удерживания, равным для этици- клидина — 1587, для теноциклидина — 1881, для фенциклидина — 1900, для ролициклидина — 1795.

Обнаружение с помощью масс-спектрометрии. В условиях, описанных ранее (см. раздел 7.2.3), фенциклидин обнаруживает следующие характеристические ионы с соотношениями m/z 243, 214, 200, 186, 166, 158, 84, 77.

Обнаружение с помощью ГХ/МС. При использовании этого метода 1 мл мочи или плазмы крови подщелачивают раствором аммиака до pH=9,6 и экстрагируют гексаном. К экстракту добавляют диметилформамид, упаривают и анализируют. Чтобы определить фенциклидин и его метаболит моногидроксипроизводное, объекты (мочу и плазму крови по 1 мл) подвергают гидролизу, затем доводят pH до 11,8 и экстрагируют 2 мл смеси бутилхлорида и метанола (9:1). Органический растворитель упаривают и проводят дериватизацию с помощью БСТФА — N,O-бис- (триметилсилил) — трифтогацетамида. Полученные дериваты анализируют. Время удерживания фенциклидина — 3,17 мин. Получаемые характеристические ионы с соотношениями m/z, приведенными выше. Предел обнаружения фенциклидина — 0,58 нг/мл.

Высокоэффективная жидкостная хроматография. Идентификацию фенциклидина проводят с помощью ВЭЖХ по удерживаемому объему и спектральным отношениям при нескольких длинах волн. Полученные данные сравнивают с таковыми стандартных растворов (табл. 39).

Количественное определение

Для количественного определения фенциклидина используют метод ВЭЖХ. Определение проводят методом добавок, внешнего или внутреннего стандарта.

4. Иллюстративный материал: слайды, таблицы

5. Литература : Приложение №1

6. Контрольные вопросы (обратная связь)

1. Требования к химико-токсикологическому анализу.
2. Выбор методов. Направленность анализа в зависимости от клинических данных.
3. Особенности проведения направленного анализа.
4. Методы анализа при ХТА наркотических веществ: ИФА, ТСХ-скрининг, ВЭЖХ и ГХ/МС.

ОНТҮСТІК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Қазақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	55/ 1 стр из 65

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

Литература основная:

1. Плетенёва, Т. В. Токсикологическая химия: учебник/ Мин. образования и науки РФ. - - М. : ГЭОТАР - Медиа, 2013. - 513 с.
2. Шүкірбекова, А. Б. Токсикологиялық химия :оқулық . - Алматы : Эверо, 2013.-410 б.
3. Токсикологическая химия. Аналитическая химия: учебник / под ред. Р. У. Хабриева, Н. И. Калетиной. - ; Рек. ГОУ ВПО Моск. мед. акад. им. И. М. Сеченова. - М. : ГЭОТАР - Медиа, 2010. - 752 +эл. опт. диск (CD-ROM).
4. Токсикологическая химия. Метаболизм и анализ токсикантов: учеб. пособие для вузов / под ред. Н. Калетиной. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2008. - 1016 +эл. опт. диск (CD-ROM)
5. Серикбаева, А. Д. Токсикологиялық маңызды дәрілік заттардың химия-токсикологиялық талдауы [Мәтін] : оқу құралы / - Шымкент : [б. и.], 2023. - 144 бет.

дополнительная:

1. Сраубаев, Е. Н. Өндірістік токсикология негізі. Өндірістік улар және уланулар: оқу-әдістемелік құрал /. - Алматы :Эверо, 2014. - 156 бет.
2. Сот-химиялық сараптау және аналитикалық диагностика: оқу-әдістемелік құрал / С. Қ. Ордабаева [ж.б.]. - Алматы :Эверо, 2016. - 280 бет.

ОНТҮСТІК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Қазақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	55/ 1 стр из 65

3. Тулеев, И. Токсикологиядағы гипербариялық оксигенация (ГБО). ГБО-ны үйімдастыру және техникалық қауіпсіздігі [Мjtіn] : оку құралы / И. Тулеев. - Шымкент : "Нұрдана LTD" баспасы, 2018. - 188 бет.
4. Токсикологическая химия. Ситуационные задачи и упражнения: учеб. пособие / под ред. Н. И. Калетиной. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2007. - 352 с.
5. Ильяшенко, К. К. Токсическое поражение дыхательной системы при острых отравлениях: монография / - М. : Медпрактика-М, 2004. - 176

электронные учебники:

1. Химиялық қауіптер мен үйттылықтар. Химиялық зертханадағы қауіпсіздік үстанымдары [Электронный ресурс] : оку құралы = Химические опасности и токсиканты. Принципы безопасности в химической лаборатории : учебное пособие / У. М. Датхав. - Электрон. текстовые дан. (67,9Мб). - М. : "Литтерра", 2016.
2. А.И.Жебентяев Токсикологическая химия. (в двух частях).- уч.пособие[Электронный ресурс]/ А.И.Жебентяев/ Витебск.-Витебск: БГМУ,2015.-415 с. <http://elib.vsmu.by/handle/123/4271>
3. Химические опасности и токсиканты. Принципы безопасности в химической лаборатории [Электронный ресурс] : учебное пособие / Л. В. Евсеева [и др.]. - Электрон. текстовые дан. (47,2Мб). - М. : "Литтерра", 2017. - эл. опт. диск (CD-ROM).
4. Токсикологиялық химиядан сөж үйімдастыру және бағалау барысындағы әдіс-тәсілдер/ Б. А. Урмашев, Д. А. Мурзанова, А. О. Сопбекова // ОҚМФА хабаршысы. - 2014. - №3, Т.2.
5. Байзолданов Т. Токсикологическая химия: учебник . -1 часть.- Алматы: Эверо,2020. - 240 с.https://www.elib.kz/ru/search/read_book/58/
6. Байзолданов Т. Токсикологическая химия: учебник. - 2 часть.- Алматы:Эверо, 2020. - 268 с.https://www.elib.kz/ru/search/read_book/60/
7. Байзолданов Т. Токсикологическая химия: учебник . - 3 часть.- Алматы:Эверо, 2020. – 252 с.https://www.elib.kz/ru/search/read_book/61/
8. Шұқірбекова А.Б. Токсикологиялық химия: оқулық/ А.Б. Шұқірбекова. - Алматы: ЖШС «Эверо», 2020.- 500
[6.https://www.elib.kz/ru/search/read_book/635/](https://www.elib.kz/ru/search/read_book/635/)
9. Baizoldanov T. Toxicological chemistry: Lecture Course: the second ed., added andimproved / S.A. Karpushyna, I.O. Zhuravel, T. Baizoldanov, Baiurka S.V.– Almaty: Evero, 2020.– 216 p.https://www.elib.kz/ru/search/read_book/2800/
10. Е.Н.Сраубаев, С.Р.Жакенова, Н.У.Шинтаева. Фармакология токсикологиясының негіздері. Өндірістік улар және уланулар. Оку-әдістемелік қурал. – Алматы. «Эверо» баспасы, 2020. – 156 бет.https://www.elib.kz/ru/search/read_book/312/

ОНТҮСТІК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY «Оңтүстік Қазақстан медицина академиясы» АҚ	 SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»
Кафедра фармацевтической и токсикологической химии Лекционный комплекс по токсикологической химии-2	55/ 1 стр из 65

11. Немерешина, О. Н. Общие вопросы токсикологической химии. Модуль 1 : учебное пособие к семинарским и лабораторно-практическим занятиям по токсикологической химии. Для студентов специальности 060108.65 – Фармация (8 семестр) / О. Н. Немерешина ; под редакцией А. А. Никоноров. — Оренбург : Оренбургская государственная медицинская академия, 2013. — 81 с.: <https://www.iprbookshop.ru/54287>

<p>ОНТҮСТІК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY</p> <p>«Онтыстық Қазақстан медицина академиясы» АҚ</p>	<p>— 1979 —</p> <p>SKMA</p>	<p>SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY</p> <p>АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»</p>
<p>Кафедра фармацевтической и токсикологической химии</p> <p>Лекционный комплекс по токсикологической химии-2</p>		<p>55/ 1 стр из 65</p>

<p>ОНТҮСТІК QAZAQSTAN MEDISINA AKADEMIASY</p> <p>«Онтыстық Қазақстан медицина академиясы» АҚ</p>	<p>— 1979 —</p> <p>SKMA</p>	<p>SOUTH KAZAKHSTAN MEDICAL ACADEMY</p> <p>АО «Южно-Казахстанская медицинская академия»</p>
<p>Кафедра фармацевтической и токсикологической химии</p> <p>Лекционный комплекс по токсикологической химии-2</p>		<p>55/ 1 стр из 65</p>