

**федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Самарский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

Кафедра химии фармацевтического факультета

А.В. Воронин, И.В. Сынбулатов

**ОСНОВЫ СУДЕБНО-ХИМИЧЕСКОЙ ЭКСПЕРТИЗЫ И
ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА
«ЛЕКАРСТВЕННЫХ ЯДОВ»**

Часть 1

Учебное пособие

**Самара
2020**

УДК 615.3+547.2/.9+615.07(075.8)
ББК 52.821.73
И 22

Рецензенты:

Малкова Тамара Леонидовна - заведующий кафедрой токсикологической химии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России, доктор фармацевтических наук, профессор;

Катаев Валерий Алексеевич – заведующий кафедрой фармации ИДПО ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, доктор фармацевтических наук, профессор.

И 22 **Воронин, А.В., Сынбулатов И.В.**

Основы судебно-химической экспертизы и химико-токсикологического анализа «лекарственных ядов» Часть 1: учебное пособие / А.В. Воронин, И.В. Сынбулатов; ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. – Самара: СамГМУ, 2020. – 102 с.

В учебном пособии рассмотрены вопросы анализа наиболее значимых «лекарственных» ядов - основных групп наркотических средств и психотропных веществ (опиатов, каннабиноидов, фенилалкиламинов, производных 1,4-бензодиазеина, производных тропана). Рассматриваются токсикокинетика и метаболизм, методические подходы к пробоподготовке, предварительные и подтверждающие методы исследования в различных объектах. Особое внимание уделено современным аналитическим методам: газовой, высокоэффективной жидкостной хроматографии, а также хромато-масс-спектрометрии.

Учебное пособие предназначено для студентов, обучающихся по образовательным программам высшего образования по специальности 33.05.01 «Фармация», а также при подготовке кадров высшей квалификации в ординатуре по специальности 33.08.03 «Фармацевтическая химия и фармакогнозия».

УДК 615.3+547.2/.9+615.07(075.8)
ББК 52.821.73

Утверждено и рекомендовано к печати Центральным координационным методическим советом ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России (протокол №2 от 30.09.2020 г.).

Оглавление

Введение	4
1. Нормативно-правовой статус объектов аналитического контроля в химико-токсикологическом анализе и судебно-химической экспертизе	6
2. Классификация «лекарственных» ядов - лекарственных средств, наркотических и психотропных веществ. Основные направления анализа	10
3. Структура химико-токсикологического исследования.....	14
4. Опиаты. Токсикокинетика, метаболизм. Методы анализа.....	16
5. Фенилалкиламины. Токсикокинетика, метаболизм. Методы анализа.....	31
6. Каннабиноиды. Токсикокинетика, метаболизм. Методы анализа	47
7. Производные 1,4-бензодиазепа. Токсикокинетика, метаболизм. Методы анализа	61
8. Производные тропана. Токсикокинетика, метаболизм. Методы анализа	75
Рекомендуемая литература	91
Список использованной литературы	92
Приложение. Уровни концентраций токсикологически важных веществ в сыворотке или плазме крови человека.....	94

Введение

В настоящее время в связи с объективными причинами, к числу которых относится обострение ситуации с незаконным оборотом наркотиков, актуальным направлением токсикологической химии является анализ наркотических средств и психотропных веществ.

Основная задача учебного пособия заключается в том, чтобы сформировать у студентов и ординаторов понимание следующих элементов: структуры исследования биологического материала, объектов небиологического происхождения на наркотические средства и психотропные вещества; возможностей применяемых аналитических методов; основ биотрансформации некоторых химических групп наркотических средств и психотропных веществ – «классических» лекарственных ядов.

В ФГБОУ ВО СамГМУ Миздрава России утверждены рабочие программы «Токсикологическая химия» (33.05.01 Фармация - уровень специалитета), а также «Токсикологическая химия» и «Химико-токсикологическая экспертиза» (33.08.03 Фармацевтическая химия и фармакогнозия – подготовка кадров высшей квалификации в ординатуре). Утвержденные программы дисциплин и практик предусматривают подготовку по разделу «Лекарственные яды».

В компактной и доступной форме авторы попытались осветить основные направления анализа «классических» групп лекарственных ядов (опиатов, каннабиноидов, фенилалкиламинов, производных 1,4-бензодиазепина, кокаина): судебно-химический, клинический химико-токсикологический и химико-токсикологический анализ при медицинском освидетельствовании.

Безусловно, пособие не претендует на исчерпывающее представление всех сведений, касающихся токсикокинетики, метаболизма и методов анализа вышеперечисленных групп наркотических средств и психотропных веществ в различных объектах, тем не менее, в нем предпринята попытка изложения наиболее важных и интересных из них.

Немаловажную роль в формировании идеи написания и структуры данного издания сыграло непосредственное знакомство с деятельностью Регионального испытательного центра «Фарматест», Московского областного бюро судебно-медицинской экспертизы, 111-го Центра Судебно-медицинских и

криминалистических экспертиз МО РФ, химико-токсикологической лаборатории 17-й Клинической наркологической больницы г. Москвы, химико-токсикологической лаборатории НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского.

Авторы с благодарностью примут критические замечания и пожелания к данному учебному пособию и надеются, что в нем присутствует их собственный критический взгляд на вопросы анализа наркотических средств и психотропных веществ.

1. Нормативно-правовой статус объектов аналитического контроля в химико-токсикологическом анализе и судебно-химической экспертизе

В соответствии с законом Российской Федерации «О наркотических средствах и психотропных веществах», вступившем в силу 8 января 1998 г. (в последней редакции на момент выхода данного пособия от 26.07.2019), наркотическими средствами и психотропными веществами называются вещества синтетического или естественного происхождения, препараты, растения, включенные в «Перечень наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, подлежащих контролю в Российской Федерации», в соответствии с законодательством Российской Федерации, международными договорами Российской Федерации. При этом к наркотическим средствам (НС) причисляются вещества и средства, перечисленные в Единой конвенции ООН о наркотических средствах 1961 г., а к психотропным веществам (ПВ) – Конвенции ООН о психотропных веществах 1971 г.. В соответствии с Конвенцией ООН о борьбе против незаконного оборота наркотических средств и психотропных веществ 1988 г. в указанный Перечень внесены прекурсоры наркотических и психотропных средств – вещества, часто используемые при производстве, изготовлении и переработке наркотиков. Действующий в настоящее время Перечень утвержден постановлением Правительства Российской Федерации №681 от 30 июня 1998 г. С момента создания Перечень подвергся 59 редакциям, на момент публикации данного пособия последняя редакция датирована 29.07.2020 г. Необходимость редакции Перечня заключается в постоянной «гонке» нормативной базы и выходом на рынки новых психоактивных веществ. Новое психоактивное вещество – химическое соединение, имеющее наркогенный потенциал, но по каким-либо причинам ещё не включенное в Перечень, то есть не имеющее соответствующий статус НС или ПВ. В связи с отсутствием на территории Российской Федерации Перечня разрешенных к обороту веществ, новые психоактивные вещества являются не контролируемыми. Данные особенности осложняют процесс проведения химико-токсикологических исследований в части интерпретации данных, полученных в результате анализа. Все возможные изменения и уточнения в Перечне проводятся по предложениям Министерства здравоохранения и Министерства внутренних дел Российской Федерации.

Рассматриваемый Перечень состоит из четырех списков, на которые разбиты включенные в него вещества в соответствии с уровнем контроля над ними.

Наркотические средства и психотропные вещества, оборот которых запрещен (Список I). Содержит 160 наименований. В их число входят производные: морфинана; фенилалкиламина и амфетамина; фенилпиперидина; вещества типа метадона; типа фентанила; типа индола; все соединения типа фенциклидина. В список включены растения и продукты их переработки: 1) мак снотворный (*Papaver somniferum*), а также другие виды маков, содержащие морфин, кодеин, тебаин или орипавин; млечный сок (опий); маковая солома и экстракт маковой соломы, содержащие вышеуказанные алкалоиды; ацетилированный опий, героин; 2) конопля (*Cannabis sativa*); каннабис (марижуана); гашиш (анаша, смола каннабиса); масло каннабиса (гашишное масло); тетрагидроканнабинолы (все изомеры); 3) кат (молодые побеги с листьями вечнозеленого кустарника кат съедобный) (*Cata edulis*); 4) кокаиновый куст (*Erythroxylon coca*); лист кока; кокаиновая паста; 5) плодовые тела грибов, содержащих псилоцин и псилоцибин. Сюда же отнесены все смеси указанных объектов, их изомеры, соли, эфиры, если существование таковых возможно. Использование объектов Списка I допускается только по специальным лицензиям в качестве стандартных образцов в научной, учебной работе, экспертной практике и оперативно-розыскной деятельности.

Наркотические средства и психотропные вещества, оборот которых ограничен (Список II) и психотропные вещества, оборот которых ограничении в отношении которых допускается исключение некоторых мер контроля (Список III).

В указанные списки включены широко распространенные лекарственные средства: бупренорфин, кодеин, морфин, кокаин, пентазоцин, промедол, просидол, амобарбитал, кетамин, оксибутират натрия и т.п. (более 60 соединений), а также их соли, существование которых возможно. Работа с этими средствами проводится по специальным лицензиям, а разработка, производство, ввоз, вывоз, распределение и уничтожение – только специальными государственными предприятиями и организациями.

Список прекурсоров, оборот которых ограничен (Список IV). В него входят: ангидрид уксусной кислоты, антраниловая кислота, п-ацетилантраниловая кислота, ацетон, изосафрол, красный фосфор, лизергиновая кислота, п-метилэфедрин, 3,4-метилендиоксифенил-2-пропанон, метилэтилкетон, норпсевдоэфедрин, перманганат калия, пиперональ, пиперидин, псевдоэфедрин, сафрол, серная кислота, исключая ее соли, соляная кислота, исключая ее соли, толуол, фенилуксусная кислота, фенилпропаноламин, 1-фенил-2-пропанон, эргометрин, эрготамин, этиловый эфир, эфедрин, включая соли, если образование таких солей возможно. В настоящее время уточняется порядок работы с этими реагентами и растворителями, чтобы избежать сложностей на предприятиях, в лабораториях сферы бытовой химии.

Кроме веществ и средств, приведенных в Перечне, в соответствии с законодательством России действуют список сильнодействующих (СДВ) и ядовитых (ЯВ), утвержденный Постановлением Правительства Российской Федерации №964 от 29.12.2007 (в редакции от 08.11.2019 г.).

В список сильнодействующих веществ включено свыше 100 наименований индивидуальных веществ и лекарственных средств, среди которых некоторые виды лекарственного растительного сырья: рожки спорыньи (*Secale cornutum*), трава эфедры (*Herba Ephedrae*) и растворители, в том числе, часть прекурсоров: пиперидин, толуол, хлороформ, этиловый эфир. В этом списке доминируют лекарственные средства, содержащие производные бензодиазепина, барбитуратов, эфедрина, псевдоэфедрина и их аналогов. Кроме того, в список включены клофелин, мепробамат, теофиллин, циклодол и др. Оборот сильнодействующих веществ регулируется нормативными документами Министерства здравоохранения России, а вся деятельность с ними осуществляется при наличии лицензий.

Список ядовитых веществ включает: соли ртути, соли мышьяка, цианиды, дозированные лекарственные формы натрия арсената, промерана, стрихнина нитрата, а также следующие растения, животные и продукты их переработки: аконит (различные виды *Aconitum*) и основной алкалоид аконитин; сумма алкалоидов красавки (*Atropa belladonna*) и основные алкалоиды гиосциамин, скополамин; экстракт чилибухи (*Strychnos nux vomica*) и его основные

алкалоиды бруцин и стрихнин; яд змеиный и пчелиный, а также продукты их переработки и др.

Таким образом, всего по Перечню и всем приведенным выше спискам проходит около 300 индивидуальных соединений, а также все возможные их соли, простые и сложные эфиры, природные и искусственные смеси, содержащие эти вещества, более 10 видов высших растений и грибов, их части, а также продукты кустарной и промышленной переработки.

Закрепленный в международных конвенциях «списочный подход» к решению проблемы отнесения веществ к контролируемым приводит к ситуации, характеризующейся некоторыми особенностями. Во-первых, само по себе наличие у какого-либо средства или вещества стимулирующего, седативного или галлюциногенного действия на организм человека, даже приводящее к немедицинскому его употреблению, не является полноценным основанием для отнесения данного средства или вещества к наркотикам. Для этого необходимо, чтобы масштабы угрозы, создаваемой этим средством, достигли уровня социально значимой, способной потрясти устои общества. Во-вторых, существует промежуток времени между появлением в незаконном обороте нового наркотического средства и осознанием обществом его опасности, другими словами, внесением в какой-либо список или перечень контролируемых веществ. Продолжительность указанного периода времени в значительной степени зависит от продуманности и действенности законодательства, оперативности принятия решения исполнительными органами и обычно составляет от нескольких месяцев до нескольких лет.

Описанная ситуация приводит к появлению в незаконном обороте новых высокоактивных наркотических средств и психотропных веществ, являющихся структурными аналогами или гомологами уже известных наркотиков, что обуславливает близкие химические, физико-химические и фармакологические свойства, не только между контролируемыми веществами, но даже и лекарственными препаратами, доступными без ограничений.

2. Классификация «лекарственных» ядов - лекарственных средств, наркотических и психотропных веществ. Основные направления анализа

Вышеперечисленные вещества органической природы – лекарственные средства, наркотические средства и психотропные вещества, сильнодействующие и ядовитые вещества относятся к группе токсикологически важных соединений, известной под названием «лекарственные» яды. Очевидно, что данное определение весьма условно, использование классификационной характеристики «группа токсикологически важных веществ, изолируемых из биологического материала экстракцией и сорбцией» в большей степени подчеркивает особенности рассматриваемых веществ, несмотря на то, что методы изолирования постоянно совершенствуются.

В настоящее время наиболее объективным следует считать общее определение, предложенное профессором Б.Н. Изотовым – «вещества, изолируемые экстракцией (с молекулярной массой более 150 а.е.м.)», а в рамках этой группы рассматривать «лекарственные» яды и пестициды.

Основными направлениями анализа «лекарственных» ядов являются:

- судебно-химическая экспертиза (судебно-химический анализ) – основной задачей данного вида анализа следует считать установление причин летальных отравлений;
- клинический химико-токсикологический анализ (экспресс-диагностика острых отравлений);
- анализ наркотических средств и психотропных веществ при медицинском освидетельствовании (химико-токсикологический анализ) – определяющее значение в данном направлении анализа, осуществляемого в рамках деятельности наркологической службы, имеет идентификация вещества и доказательство факта его употребления;

Органы и службы, осуществляющие перечисленные виды анализа, имеют различную ведомственную подчиненность, неодинаковые материально-технические ресурсы и кадровый состав сотрудников, в этой связи часто целесообразно их взаимодействие с целью более оперативного и эффективного решения поставленных задач.

Основополагающей нормативной базой судебно-химической экспертизы является приказ Министерства здравоохранения СССР №1021 от 25.12.73,

согласно которого обязательному исследованию в лабораториях Бюро судебно-медицинской экспертизы подлежат производные барбитуровой кислоты, алкалоиды – производные пиридина и пиперидина (никотин, пахикарпин), тропана, изохинолина (алкалоиды опия), индола (стрихнин), производные фенотиазина, промедол. Совершенно очевидно, что данный приказ морально устарел и не может быть руководящим документом для химика-эксперта в современных условиях.

Порядок организации и производства судебно-медицинских экспертиз (в том числе судебно-химической) регламентирован приказом Министерства здравоохранения и социального развития РФ №346н от 12.05.2010.

Особое внимание в организации проведения судебно-химической экспертизы должно уделяться валидационной оценке проводимых исследований, на что указывают пункты приказа:

87.9.5. все методы количественного определения должны быть апробированы на той биологической матрице, которая будет использоваться для анализа (кровь, моча, ткани органов), к которой добавляют заведомо известное количество вещества и подвергают исследованию по данной схеме анализа. При этом определяют пределы обнаружения и определения, абсолютный выход при различных концентрациях, диапазон определяемых содержаний по калибровочному графику (подчинение закону Ламберта-Бера), селективность и воспроизводимость анализа. Для повышения точности определения обнаруживаемого вещества проводят не менее двух определений для каждого объекта;

87.9.6. следует убедиться в химической чистоте используемых для анализа реактивов; при этом на чистоту реактивы проверяют в тех максимальных количествах, в которых они будут употреблены для анализа, и теми же методами, и реакциями, которые будут применены в ходе судебно-химического исследования;

87.9.7. для обеспечения высокого качества проведения экспертного исследования рекомендуется производить внутрилабораторный и внешний контроль качества, ориентированный как на метод, так и на определяемое вещество;

В положении об организации деятельности химико-токсикологической лаборатории отделения острых отравлений, утвержденного приказом Министерства здравоохранения РФ от 08.01.2002 №9, приведен обязательный минимум исследований, включающий следующие основные группы и отдельные препараты:

- этанол и алифатические спирты (метанол, этанол, изо- и н-пропанола, изо- и н-бутанола, изо- и н-пентанола);
- хлорированные углеводороды (хлороформ, четыреххлористый углерод, трихлорэтилен, перхлорэтилен, дихлорэтан);
- ароматические углеводороды (бензол, толуол), диэтиловый эфир, ацетон, этилацетат;
- алкалоиды опийной группы (морфин, кодеин);
- амфетамины (амфетамин, метамфетамин);
- производные барбитуровой кислоты (групповая идентификация);
- производные 1,4-бензодиазепина (групповая идентификация);
- производные фенотиазина (групповая идентификация);
- трициклические антидепрессанты (амитриптилин);
- димедрол;
- лепонекс.

В качестве справочной информации в приложении к учебному пособию представлены уровни концентраций (терапевтической, токсической и летальной) ряда токсикологически важных веществ различных химических групп, опубликованной С. L. Winek, W. W. Wahba, C. L. Winek Jr, T. W. Balzer [13].

Приказом Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 27.06.2006 №40 «Об организации проведения химико-токсикологических исследований при аналитической диагностике наличия в организме человека алкоголя, наркотических средств, психотропных и других токсических веществ» и Приказом Министерства здравоохранения РФ от 30.06.2016 г. № 441н «О порядке проведения медицинского освидетельствования на наличие медицинских противопоказаний к владению оружием и химико-токсикологических исследований наличия в организме человека наркотических

средств, психотропных веществ и их метаболитов» регламентированы химико-токсикологические исследования при медицинском освидетельствовании.

Следует отметить, что за последнее время все большее значения приобретают дизайнерские наркотические средства. Дизайнерскими наркотическими средствами являются психоактивные вещества, разрабатываемые с целью обхода действующего законодательства, полностью или частично воспроизводящие наркотические свойства какого-либо природного соединений. Часто являются производными НС и ПВ, уже включенными в Перечень, что позволяет взять под контроль распространение таких соединений по принципу производных. Например, позиция «Производные N-метилэфедрона» в Списке I Перечня позволяет полностью запретить не только любые уже существующие производные, но и все потенциально возможные. Данный подход оказался весьма действенным, однако процесс включения химического соединений в Перечень занимает определенное время. В первой части учебного пособия будут рассмотрены «классические» группы «лекарственных» ядов, а проблемы анализа дизайнерских наркотических средств будут рассмотрены во второй части.

Для удобства рассмотрения вопросов, связанных непосредственно с анализом «классических» групп «лекарственных» ядов целесообразно воспользоваться их классификацией по химической структуре:

- 1) Опиаты и опиоиды;
- 2) Фенилалкиламины;
- 2) Каннабиноиды;
- 3) Производные тропана;
- 5) Другие наркотические, лекарственные средства, психотропные и прочие вещества (барбитураты, производные 1,4-бензодиазепина, производные фенотиазина и др.).
- 6) ЛСД (d-лизергиновой кислоты диэтилаид, лизергид, ЛСД-25, ЛСД-36).

3. Структура химико-токсикологического исследования

Процесс взаимодействия аналитика (судебный химик, врач клинической лабораторной диагностики) и заказчика (судебно-медицинского эксперта, врача-токсиколога, врача-нарколога) – аналитический цикл:

1. Общая постановка задачи;
2. Постановка конкретной аналитической задачи;
3. Выбор методики;
4. Пробоотбор;
5. Пробоподготовка;
6. Измерение (собственно анализ);
7. Обработка результатов;
8. Интерпретация результатов (выводы и отчет).

В системе химико-токсикологического анализа аналитик в большинстве случаев включается в вышеуказанный цикл на этапе пробоподготовки; постановка задачи и конкретной аналитической задачи определяется учреждением, в котором функционирует лаборатория, кроме того, сложившиеся в лаборатории методические подходы, как правило, исключают возможность выбора методики. Пробоотбор в химико-токсикологическом анализе (для трупного материала и биологического материала живых лиц) регламентирован вышеуказанными нормативными документами.

В связи с этим целесообразным является представление структуры химико-токсикологического исследования в следующем виде:

1. Пробоотбор;
2. Пробоподготовка;
3. Собственно анализ:
 - 3.1. Предварительное исследование;
 - 3.2. Подтверждающее исследование;
4. Обработка результатов;
5. Интерпретация результатов.

При наличии конкретных указаний на цель химико-токсикологического анализа проводится исследование на отдельное вещество или группу токсикологически важных веществ – направленный (частный) химико-токсикологический анализ.

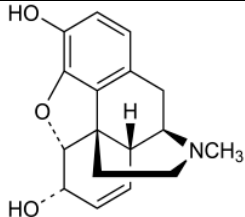
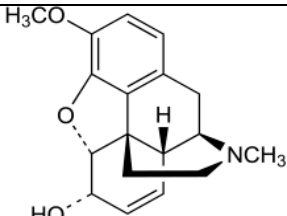
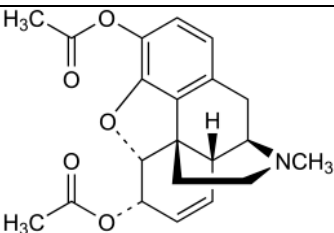
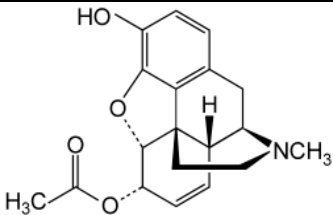
При отсутствии конкретных указаний необходимо проводить полный (общий, ненаправленный) химико-токсикологический анализ, однако в настоящее время отсутствуют нормативные документы, регламентирующие указанную процедуру, поэтому полный химико-токсикологический анализ осуществляется исходя из методических возможностей лаборатории.

4. Опиаты. Токсикокинетика, метаболизм. Методы анализа

По международной классификации термин «опиаты» определяет вещества, близкие по химической структуре к морфину, а термин «опиоиды» – вещества, обладающие морфиноподобными фармакологическими эффектами, но не обязательно имеющие структурное сходство с последним. В соответствии с данной классификацией, в группе опиатов рассматриваются следующие наркотические средства: морфин, кодеин, дионин (этилморфин), а также полусинтетические аналоги – героин и его основной метаболит 6-моноацетилморфин (табл. 1). Среди опиоидов наибольшее значение имеют фенциклидин, метадон, фентанил и его аналоги, кетамин, некоторые аналоги орипавина, например, бупренорфин.

Таблица 1.

Химическая структура опиатов

	Морфин (5а, 6а)-7,8-дидегидро-4,5-эпокси-17-метилморфинан-3,6-диол $C_{17}H_{19}NO_3$ Mr = 285,4
	Кодеин (5а, 6а)-7,8-дидегидро-4,5-эпокси-3-метокси-17-метилморфинан-6-ол $C_{18}H_{21}NO_3$ Mr = 299,4
	Героин (5а, 6а)-7,8-дидегидро-4,5-эпокси-17-метилморфинан-3,6-диола диацетат $C_{21}H_{23}NO_5$ Mr = 369,4
	6-МAM (6-моноацетилморфин) (5а, 6а)-7,8-дидегидро-4,5-эпокси-17-метилморфинан-3,6-диола ацетат $C_{19}H_{21}NO_4$ Mr = 327,4

Понятие «опиаты» не следует отождествлять с понятием «алкалоиды опия», химическая классификация которых представлена в таблице 2.

Таблица 2.

Химическая классификация алкалоидов опия

<i>Группа</i>	<i>Гетероцикл, лежащий в основе структуры</i>	<i>Представители</i>
Группа морфина	Фенантреновый цикл	Морфин, кодеин, тебаин, псевдоморфин, неопин
Группа папаверина	Бензилизохинолиновый цикл	Папаверин, лауданозин
Группа наркотина	Фталилизохинолиновый цикл	Наркотин, нарцеин
Группа протопина	Фталилизохинолиновый цикл	Протопин, криптопин

Токсикокинетика и метаболизм опиатов. При внутривенном введении морфина максимальный эффект достигается через несколько минут, при подкожном и внутримышечном введении – через 15 минут. Около 80% введенной дозы выделяется с мочой в течение 8 часов. Однако следы морфина можно обнаружить в моче спустя 72-100 часов. Время полувыведения морфина составляет 2-3 часа.

Основные пути метаболизма морфина конъюгация с глюкуроновой и серной кислотами с образованием морфин-3- и морфин-6-глюкуронидов, а также 6- и 3-сульфатных конъюгатов; деметилирование с образованием норморфина; 3-О-метилирование – продукт реакции кодеин; N-окисление (рис. 1).

После парентерального введения морфина за 24 часа выделяется с мочой до 85-90% введенной дозы, из которых 2-12% свободного морфина; 65-70% – глюкуронидов морфина; до 10% сульфатных конъюгатов; 1% норморфина и 3% глюкуронида норморфина.

При рассмотрении продуктов метаболизма морфина следует учитывать тот факт, что данное вещество образуется в значительных количествах при метаболизме других опиатов: кодеина, героина, дионина.

Кодеин метаболизирует в печени в результате О- и N-деметилования до морфина и норкодеина соответственно, кроме того, активно идет процесс конъюгации с глюкуроновой кислотой. Основные метаболиты – норкодеин, морфин и их конъюгаты, 6-О-глюкуронид кодеина. В следовых количествах образуется гидрокодон, норгидрокодон, 6 α - и 6 β -гидрокодол.

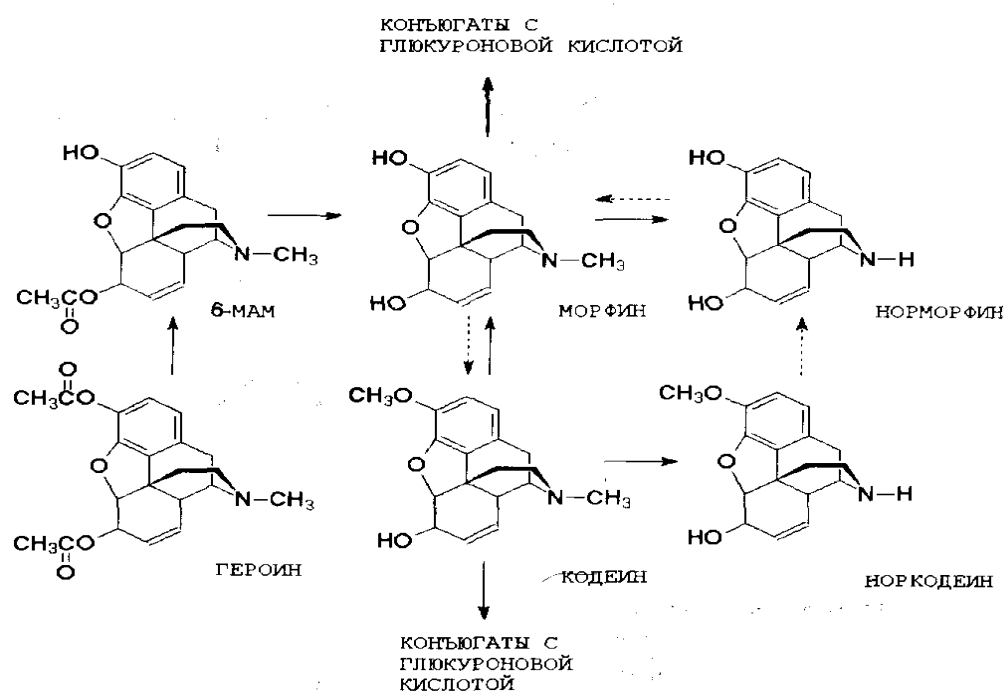


Рис. 1. Основные пути метаболизма морфина, кодеина и героина.

Около 80% принятой перорально дозы кодеина выделяется с мочой в виде свободного вещества (5-17%), конъюгатов (32-64%), конъюгатов норкодеина (10-21%) и конъюгатов морфина (5-13%). Кроме того, в моче обнаруживаются небольшие количества свободного морфина и норкодеина. В начальный период выведения кодеина в моче обнаруживаются в основном конъюгаты кодеина, однако через 20-40 часов их заменяют конъюгаты морфина. Спустя 2-3 дня после приема кодеина в моче обнаруживается морфин.

Героин в крови быстро гидролизруется до 6-О-моноацетилморфина (6-МММ), а затем до морфина. Период полувыведения героина составляет 3 минуты. Основными метаболитами героина в моче являются 6-МММ, морфин и морфин-3-глюкуронид. В небольших количествах обнаруживаются норморфин и его глюкурониды, морфин-6-глюкуронид, 6-ацетил-3-глюкуронид.

До 80% введенной дозы героина выделяется с мочой за 24 часа, основную массу составляет морфин-3-глюкуронид (50-60%), морфин (5-7%) и около 1% 6-МAM.

Объекты исследования при судебно-химическом и химико-токсикологическом исследованиях на опиаты. Судебно-медицинская экспертиза летальных отравлений опиатами в значительной мере основывается на судебно-химическом исследовании биологических жидкостей трупа, в частности цельной крови, анализ которой дополняет и расширяет оценку результатов исследования мочи. При этом следует иметь в виду, что моча является более информативным объектом для идентификации и определения главных целевых анализируемых веществ при отравлении опиатами: героина – преимущественно в виде его знакового метаболита 6-МAM, а также морфина (в т.ч. как метаболита героина) и кодеина. При невозможности отбора мочи кровь является одним из важных объектов исследования на опиаты.

При судебно-химических исследованиях анализируют, как правило, цельную кровь как наиболее представительный объект. Морфин, например, преимущественно распределяется в эритроциты, глюкурониды морфина аккумулируются в плазме. Кроме того, получение сыворотки и плазмы из-за гемолиза и гнилостных изменений не всегда возможно.

При химико-токсикологическом анализе на опиаты и их метаболиты преимущественно исследуют плазму и/или сыворотку крови живых лиц. На этих объектах наиболее полно изучена токсикокинетика опиатов, в частности – уровни их концентраций и их токсикологическая оценка. В таблице 3 приведены уровни концентраций морфина и кодеина в плазме крови их токсикологическая оценка.

Таблица 3.

Уровни концентраций морфина и кодеина в плазме крови их токсикологическая оценка

<i>Токсикологическая оценка уровня концентрации</i>	<i>Морфин, нг/мл</i>	<i>Кодеин, нг/мл</i>
Терапевтическая	80-120	10-250
Токсическая	150-500	300-500
Летальная	50-4000	1600

Выбор методики судебно-химического анализа крови определяется в значительной мере данными фармакокинетики и метаболизма опиатов в организме человека, а также разрешающими возможностями методов идентификации и количественного определения.

Анализ литературных данных показывает, что доминирующими анализируемыми веществами при судебно-химическом исследовании крови в связи с отравлениями опиатами являются морфин и кодеин, определяемые в виде общего морфина и общего кодеина (что включает сумму свободных и связанных в виде конъюгатов соединений), а также 6-МAM как знаковый метаболит героина, который исследуется по специальной методике.

Определение общего морфина и общего кодеина наиболее объективно отражает действительный уровень концентрации в трупном материале в сравнении с выявлением свободных форм морфина и кодеина.

Концентрации свободных морфина и кодеина значительно уступают концентрациям общего морфина и кодеина и сильно варьируют у разных людей. При целевой задаче установить наличие или отсутствие морфина и кодеина в крови определение свободных форм этих опиатов теряет значение. В то же время, при расширении поставленных перед экспертом задач, специальное определение свободных морфина или кодеина в крови может стать желательным. Например, делаются попытки подойти к ориентировочному установлению времени смерти от отравления по соотношению концентраций глюкуронидов морфина и свободного морфина.

Для идентификации и определения 6-МAM, как главного маркера отравления героином, кровь является наименее удовлетворительным объектом исследования в отличие от мочи, поскольку 6-МAM очень быстро метаболизируется до морфина. Период полувыведения 6-МAM в крови около 40 минут. Из-за высокой эстеразной активности крови даже после смерти, 6-МAM в крови может быть обнаружен в течение очень короткого времени после введения героина и в трупной крови выявляется редко. Например, из 50 образцов исследованной крови при отравлении героином только в одном (на уровне 7 нг/мл) был идентифицирован 6-МAM, в то время как в моче – в 41 случае. В настоящее время, перспективными объектами при исследовании на опиаты считаются кожа, ее придатки – волосы и ногти, а также потожировые

выделения. Факт накопления опиатов в ногтях был установлен в 1991 году Е.А. Симоновым.

Химические экспресс-тесты на опиаты. При проведении оперативных мероприятий по обнаружению и изъятию наркотических средств группы опиатов из незаконного оборота важную роль играет быстрое их выявление в исследуемой выборке объектов. Данное исследование может быть осуществлено при помощи набора экспресс-тестов, который позволяет проводить капельные цветные реакции:

1. *Реакции образования окрашенных соединений в результате конденсации и других процессов, выполняемые в среде концентрированной серной кислоты* – в анализе опиатов основными реакциями этой категории можно назвать реакции с общеалкалоидными реактивами Марки (смесь концентрированной серной кислоты и формальдегида), Фреде (раствор молибдата аммония в концентрированной серной кислоте), Манделина (раствор ванадата аммония в концентрированной серной кислоте), Мекке (раствор селеновой кислоты в концентрированной серной кислоте), Эрдмана (смесь концентрированных азотной и серной кислот) (табл. 4);

2. *Цветные окислительно-восстановительные реакции* – реакция морфина с гескацианоферратом (III) калия.

Все экспресс-тесты носят предположительный характер и не могут быть интерпретированы в качестве безусловных и окончательных заключений.

Таблица 4.

Характер окрашивания опиатов с некоторыми общеалкалоидными реактивами*

<i>Вещество</i>	<i>Реактив Марки</i>	<i>Реактив Мекке</i>	<i>Реактив Фреде</i>
Героин	Пурпурно-фиолетовый	Темно-зеленый	Пурпурный→серый/пурпурный
Морфин	Пурпурно-фиолетовый	Темно-зеленый	Пурпурный→серый/пурпурный
Кодеин	Пурпурно-фиолетовый	Зеленый/синий	Синий/зеленый
6-моноацетилморфин	Пурпурно-фиолетовый	Темно-зеленый	Желтый/зеленый
Ацетилкодеин	Пурпурно-фиолетовый	Темно-зеленый	Пурпурный→палевый

* – чувствительность реакций составляет 0,25-0,5 мкг.

Исследование на опиаты методом тонкослойной хроматографии (ТСХ). Наличие широкого ассортимента аналитического оборудования позволяет достаточно гибко подбирать оптимальный вариант оснащения судебно-химических, химико-токсикологических и криминалистических лабораторий в соответствии с конкретной потребностью, однако региональные подразделения, не имеющие возможности приобрести хромато-масс-спектральное оборудование могут успешно в подавляющем большинстве использовать различные варианты ТСХ.

Международная Ассоциация Судебных Токсикологов рекомендует к использованию для анализа опиатов следующие хроматографические системы («рекомендованные системы»):

- 1) толуол - ацетон - этанол - аммиак (45:45:7:3);
- 2) этилацетат - метанол - аммиак (85:10:5);
- 3) метанол - аммиак (100:1,5);
- 4) хлороформ - гексан - триэтиламин (9:1:1);
- 5) хлороформ - ацетон - этанол - аммиак (20:20:3:1).

Перед проявлением пластины должны быть высушены при температуре не выше 120⁰С, или в токе горячего воздуха. Одной из основных целей этой процедуры является удаление с пластины следов аммиака, который может влиять на окраску продуктов цветных и осадительных реакций при проявлении.

Проявление рекомендовано по следующей схеме:

- 1) УФ-свет при длине волны 254 и 366 нм;
- 2) обработка реактивом Драгендорфа – опиаты дают кирпично-красные пятна на желтом фоне;
- 3) обработка 10% раствором серной кислоты при нагревании – устраняет окраску фона;
- 4) обработка 1% раствором перманганата калия;
- 5) обработка подкисленным раствором иодплатината калия – дает синие или пурпурные пятна опиатов.

Альтернативным способом проявления является обработка пластины реактивом Марки.

В руководстве по химико-токсикологическому анализу наркотических и других одурманивающих средств под редакцией профессора Б.Н. Изотова

«Анализ наркотических средств» предложены частные системы для опиатов, сходные по составу и близкие по количеству компонентов с «рекомендованными системами»:

- 1) толуол - ацетон - метанол - аммиак (45:45:7,5:7,5);
- 2) этилацетат - этанол - аммиак (9:1:0,5).

Все вышеперечисленные хроматографические системы используются в химико-токсикологическом анализе биологических жидкостей, а также при криминалистическом исследовании маковой соломы, опия-сырца, ацетилированного опия и др.

Исследование на опиаты методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ). Денситометрия в УФ-области света хроматографических зон, полученных на пластинках для высокоэффективной тонкослойной хроматографии, а также некоторые методические подходы к нанесению пробы позволяют проводить помимо идентификации и количественное определение опиатов.

Для разделения опиатов на пластинках фирмы «Merck» марки HPLTC G60 используются следующие хроматографические системы:

- 1) толуол - ацетон - этанол - аммиак (45:45:7:3);
- 2) хлороформ - ацетон - этанол - аммиак (20:20:3:1);
- 3) толуол - диэтиламин - этанол (9:1:1).

После удаления остатков растворителя пластинки денситометрируют при длине волны 280 нм на приборе «TLC-SCANNER III» фирмы «CAMAG» (Германия). Разработана методика для определения героина и компонентов опия вышеуказанным методом, результаты определения при использовании которой совпадают в пределах 5% ошибки с результатами газохроматографического исследования.

Морфин можно анализировать методом ВЭТСХ на уровне долей нг, после обработки дансилхлоридом для получения флуоресцирующих продуктов (рис. 2). Количественное определение производится на основании сравнения интенсивности флуоресценции хроматографических зон, анализируемого и стандартного образцов, визуально или с применением денситометра.

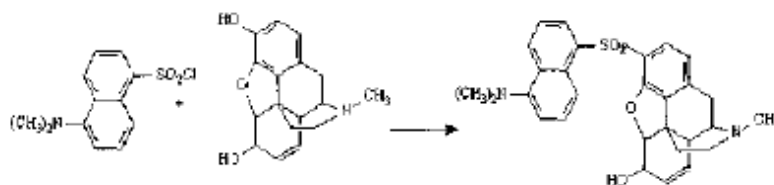


Рис. 2. Реакция образования дансилморфина

Получение дансильных производных морфина может производиться несколькими способами: дансирование сухих остатков после экстракции исследуемых объектов; прямое (непосредственное) дансирование водных растворов или биологических жидкостей; экстрактивное дансирование.

Данная методика может использоваться при исследовании смывов, полученных с поверхности рук и лица, биологических жидкостей, волос и ногтей, а также смывов с поверхности различных предметов.

Схема проведения исследований на опиаты биологических объектов.

Исследование биологических объектов (трупного материала, биологических жидкостей живых лиц) на опиаты включает следующие этапы:

- 1) пробоподготовка:
 - гомогенизация (для тканей и органов);
 - гидролиз;
 - экстракция;
- 2) предварительное исследование;
- 3) подтверждающее исследование;
- 4) интерпретация полученных результатов.

При исследовании на опиаты одним из определяющих моментов является пробоподготовка. При определении общего морфина и общего кодеина она включает: первичную обработку (гемолиз, гидролиз конъюгатов, депротеинизация) для последующего экстракционного выделения и собственно процесс экстракции, который может осуществляться методом жидкость-жидкостной экстракции (ЖЖЭ) или твердофазной экстракции (ТФЭ). Применение ЖЖЭ при контролируемом значении pH среды (8,5-9,0) обеспечивает изолирование из цельной крови до 70-80% морфина и 70-98% кодеина. Морфин является амфотерным соединением (с pK_a 9,72 и 8,14), этим объясняется использование узкого диапазона значений pH при экстракции.

Оптимальными экстрагентами признаны смеси галогенуглеводородов со спиртами C₃-C₄: изопропанол - хлороформ (1:9) и н-бутанол - хлороформ (1:9), а также изопропанол - этилацетат (1:9).

Несмотря на недостатки ЖЖЭ, к которым относятся образование эмульсий, применение больших объемов органических растворителей, при судебно-химическом исследовании крови на «лекарственные» яды методом ГХ/МС именно этому методу отдают предпочтение перед ТФЭ. Это определяется особенностями матрицы: вязкостью, способностью эритроцитов к агглютинации, наличием клеточных элементов, составом соэкстрактивных веществ.

Метод ТФЭ с использованием наиболее распространенных неполярных сорбционных материалов – модифицированных силикагелей C₂, C₈ и C₁₈ с гидрофобными функциональными группами, а также модифицированных сорбентов со смешанными функциями – широко разрабатывается и применяется для скринингового анализа «лекарственных» ядов, в том числе опиатов, преимущественно в моче, реже – в плазме, сыворотке крови, а также цельной крови живых лиц. Сообщения о применении ТФЭ к анализу трупной крови носят единичный характер. Ограничения к использованию ТФЭ для изолирования анализируемых веществ из крови обусловлены блокированием колонок компонентами этой матрицы, что требует обязательной первичной обработки проб, обеспечивающих гемолиз и депротеинизацию крови, что по трудоемкости ставит метод в один ряд с ЖЖЭ. Применение метода ТФЭ требует соответствующего оборудования для вакуумирования и дорогостоящих колонок (картриджей) одноразового использования.

В качестве примера достаточно наглядна схема пробоподготовки (изолирования) при исследовании трупной крови на морфин и кодеин:

- 1) кислотный гидролиз – с применением концентрированной соляной кислоты (100° С, 30 мин);
- 2) осаждение белков трихлоруксусной кислотой;
- 3) отделение осадка центрифугированием (4000 об/мин в течение 10 мин);
- 4) очистка кислого водного супернатанта экстракцией гексаном;
- 5) отделение кислой водной фазы и доведение ее до pH 8,5-9,0;

- 6) экстракция анализируемого вещества из водного извлечения органическим экстрагентом (смесью галогенуглеводородов со спиртами C_3-C_4);
- 7) центрифугирование экстракта (при необходимости);
- 8) отделение органической фазы и доведение до определенного объема;
- 9) отбор аликвотных частей экстракта для анализа.

Данный вариант пробоподготовки является простым и универсальным, что делает возможным ее применение в аппаратурных хроматографических методах.

Исследование на опиаты биологических объектов методом газовой хроматографии. Методы газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с пламенно-ионизационным (ПИД), электрон-захватным (ЭЗД), азотно-фосфорным (термоионным (ТИД)) детекторами, а также газожидкостная хроматография с масс-селективным детектированием (хромато-масс-спектрометрия, ГХ/МС) позволяют разделять и определять только свободные опиаты (героин, морфин, кодеин, 6-МAM). Находящиеся в конъюгированной форме соединения должны быть подвергнуты гидролизу (кислотному или ферментативному) и выделены в свободном состоянии. При анализе метаболитов героина – 6-МAM и 3-МAM используют пробы, не подвергавшиеся гидролизу.

Благодаря высокой селективности и высокой чувствительности, в настоящее время одним из основных методов идентификации опиатов является метод ГХ/МС с ионизацией электронным ударом. Особое его преимущество, в отличие от ГХ/МС с химической ионизацией, состоит в наличии и доступности библиотек масс-спектров лекарственных, наркотических и других веществ, что упрощает идентификацию неизвестных анализируемых соединений.

Хроматографическое разделение опиатов, в том числе и их дериватов, осуществляют обычно на кварцевых капиллярных колонках с полярными или слабополярными неподвижными фазами: 5% фенил – 95% диметилполисилоксан. Температурные режимы термостата колонок программируются с начальной температурой 50-150⁰ С до конечной 280-300⁰ С со скоростью 10-50⁰ С/мин; в изотермическом режиме поддерживается температура 230-240⁰ С. Температура инжектора поддерживается на уровне 250-280⁰ С, чтобы не допустить конденсации компонентов пробы. В качестве газа носителя используют гелий.

При исследовании крови, учитывая высокую полярность морфина и низкие концентрации опиатов, большое значение имеет их анализ в виде дериватов, что позволяет улучшить хроматографическое разделение и увеличить чувствительность детектирования. Анализ литературных данных показывает, что для опиатов интерес представляют следующие способы *дериватизации*:

1) ацетилирование – образование ацетилированных продуктов происходит в ходе реакции с уксусным ангидридом в присутствии безводного пиридина, играющего роль катализатора и акцептора кислых продуктов дериватизации;

2) ацилирование – с использованием трифторуксусного ангидрида (ТФА).

В ряде недавно опубликованных работ для дериватизации опиатов предлагается пропионовый ангидрид.

Силилирующие агенты – N, O-бис (триметилсилил)-ацетамид (БСА), N, O-бис (триметилсилил)-трифторацетамид (БСТФА) и N-метил (N-триметилсилил)-трифторацетамид (МСТФА), использование которых описано в ряде работ по анализу опиатов в биологических объектах, могут загрязнять детекторы (ПИД, ЭЗД, масс-селективный детектор), отлагаясь в виде оксида кремния, кроме того, они легко подвергаются гидролизу, в том числе под действием спирта.

Следует отметить, что дериватизация опиатов ацетилированием не препятствует использованию одной хроматографической колонки для анализа недериватизованных и дериватизованных опиатов. Ограничением ацетилирования для опиатов является невозможность дифференцирования героина, 6-МAM и морфина при их совместном присутствии, а также кодеина и 6-ацетилкодеина, так как они образуют один и тот же продукт – диацетилморфин в первом случае и ацетилкодеин – во втором.

Авторским коллективом Российского центра судебно-медицинской экспертизы предложены методики ГХ/МС-анализа как недериватизованных морфина и кодеина, так и виде ацетил- и ацилпроизводных.

Метод ГХ/МС позволяет идентифицировать выделенные из крови морфин и героин на уровне нанограммовых количеств, например, морфин можно обнаружить на уровне 58 нг/мл. Идентификация осуществляется по

временам удерживания и масс-спектрам (рис. 3) с использованием электронных библиотек масс-спектров: NIST, Wiley, PMW Tox и др.

В практике рутинного судебно-химического и химико-токсикологического анализов количественное определение опиатов методом ГХ/МС не получило достаточно широкого распространения. Среди причин данного явления следует отметить отсутствие персонала, владеющим методом на достаточном уровне, несовершенство нормативной базы, следствием которого является невозможность использовать стандартные образцы исследуемых опиатов.

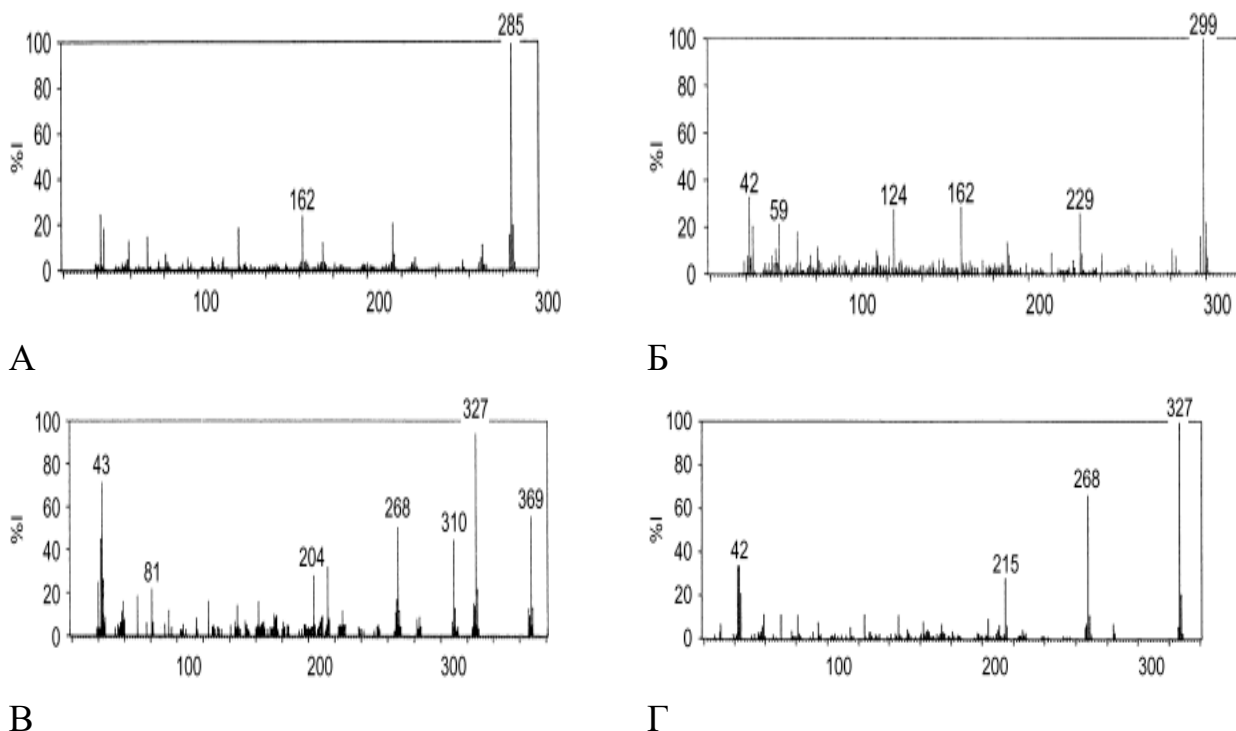


Рис. 3. Масс-спектры морфина (А), кодеина (Б), героина (В) и 6-МAM (Г)

Однако экспертом судебно-химического отделения Челябинского Областного бюро судебно-медицинской экспертизы А.Б. Мелентьевым разработана методика количественного определения морфина и кодеина в крови, которая успешно применяется в рамках деятельности данного бюро. В качестве внутренних стандартов используются гидрохлориды этилморфина и циклизина; дериватизация стандартов и анализируемых веществ производится с использованием пропионового ангидрида; пробы анализируются в режиме селективного ионного мониторинга (SIM). Предел обнаружения по морфину и кодеину составляет 0,02 мкг/мл, предел количественного определения – 0,05

кг/мл. Калибровочные графики линейны в диапазоне концентраций морфина и кодеина 0,05-0,2 мкг/мл.

ГЖХ может использоваться при анализе опиатов только в комбинации с другими методами. С использованием азотно-фосфорного детектора (ТИД) предел обнаружения морфина составляет 300 нг/мл, что значительно уступает методу ГХ/МС. В качестве внутренних стандартов при работе с ПИД используется метилстеарат, с ТИД – дифениламин. При идентификации внутренние стандарты необходимы для корректировки условий хроматографирования (по величине времени удерживания) и последующего входа в компонентную базу. Компонентной базой называется массив данных по временам удерживания стандартных образцов, с которым осуществляется сравнение времен удерживания анализируемых веществ.

При химико-токсикологическом исследовании мочи методом ГЖХ с ПИД с морфином одним пиком элюируется фоновое вещество мочи – дегидроандростерон, который присутствует в любой моче в концентрациях от 80 до 500 нг/мл. Данное явление может привести к массовым ложноположительным результатам при определении морфина методом ГЖХ с ПИД. По мнению С.А. Савчука, метод ГЖХ может быть использован для анализа больших содержаний морфина (от 500 нг/мл) только в сочетании с исследованием на ТИД. При этом обязательным является проверка подтверждающим методом ГХ/МС. Наличие внутренних стандартов позволяет проводить количественный анализ, хорошо воспроизводимые результаты получают при содержании морфина 500 нг и выше.

Исследование на опиаты биологических объектов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Пробоподготовка биологических объектов при исследовании на опиаты методом ВЭЖХ осуществляется, как и в методах газовой хроматографии. Для разделения опиатов рекомендуется использование обращено-фазного сорбента Сепарон C₁₈, а в качестве подвижной фазы – смесь 0,01 М раствора аммония ацетата и ацетонитрила; хроматограммы снимаются в режиме многоволнового детектирования. Количественный анализ проводится с использованием методов добавки, внутреннего и внешнего стандартов. В качестве внутренних

стандартов рекомендуется использовать налорфин, налоксон, дигидроморфинон.

Интерпретация результатов анализа. При оценке полученных результатов следует принимать во внимание возможность поступления опиатов в организм в связи с медицинским применением, а также в результате употребления семян мака в пищевых продуктах. Оценка концентраций морфина и кодеина в этой связи рассмотрена наиболее полно в отношении исследования мочи. В литературе недостаточно данных по исследованию крови людей, употреблявших в пищу семена мака и выпечку, содержащую мак.

Следует иметь в виду, что результаты судебно-химического исследования крови на опиаты во многом зависят от выполнения условий отбора образцов и их хранения. Оптимальные условия включают возможно быстрое замораживание после отбора крови и хранения ее в замороженном состоянии при температуре -20°C до анализа. В процессе анализа исследуемые экстракты следует хранить в холодильнике при температуре не выше 4°C , сухие остатки экстрактов – в морозильной камере. В крови, хранившейся при -20°C в течение нескольких недель, хорошо сохраняется морфин, 6-МAM в данных условиях относительно стабилен одну неделю, затем медленно разрушается (через 14 дней на 6-9%). При 20°C за 4 часа теряется 10-12% 6-МAM, через 7 дней происходит почти полный его гидролиз. В трупной крови преобладающим процессом является гидролиз глюкуронидов с образованием свободного морфина, при этом менее стабильным является морфин-3-глюкуронид. Гидролиз глюкуронидов морфина осуществляется за счет воздействия β -глюкуронидазы крови и ферментов бактерий, попадающих в кровь из желудочно-кишечного тракта после смерти.

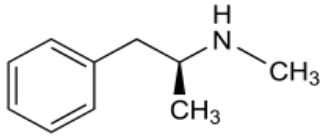
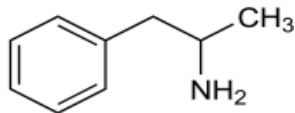
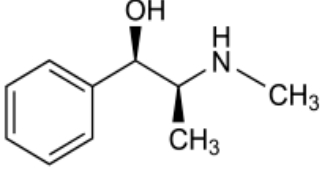
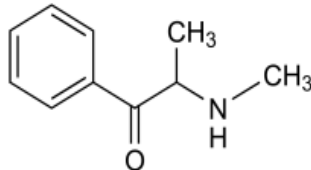
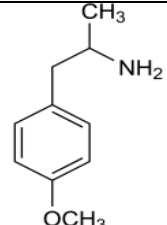
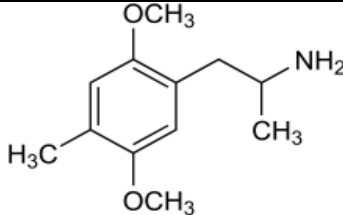
Пролонгирование сохраняемости опиатов в крови возможно с помощью консервантов, в частности натрия фторида в концентрации 1-2%. Показано, что концентрация общего морфина в крови остается стабильной при комнатной температуре в течение 2 лет при консервировании натрия фторидом. Консервирование тканей и биологических жидкостей формалином в РФ запрещено, но известны случаи необходимости судебно-химического анализа опиатов в законсервированных таким образом объектах.

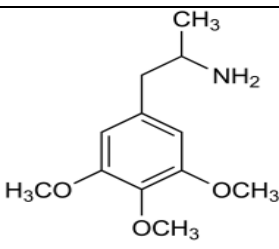
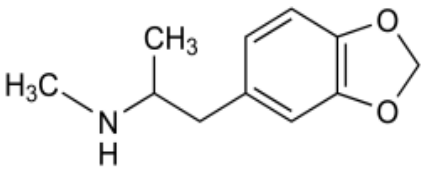
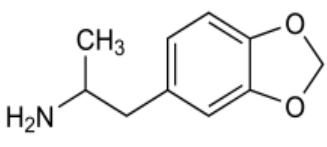
5. Фенилалкиламины. Токсикокинетика, метаболизм. Методы анализа

Наркотические средства и психотропные вещества группы фенилалкиламинов содержат в основе химической структуры фенилэтиламин. Классификация фенилалкиламинов осуществляется: по химическому строению и по источникам происхождения.

Таблица 5.

Химическая структура фенилалкиламинов

	Метамфетамин (αS)-N,α-Диметилбензенэтанамин (Фенилметиламинопропан) $C_{10}H_{15}N$ $M_r = 149,2$
	Амфетамин α-Метилбензенэтанамин $C_9H_{13}N$ $M_r = 135,2$
	Эфедрин (αR)-α-[(1S)-1-(Метиламино)этил]бензенметанол $C_{10}H_{15}NO$ $M_r = 165,2$
	Эфедрон (Меткатинон) 2-(Метиламино)-1-фенил-1-пропанон $C_{10}H_{13}NO$ $M_r = 163,2$
	п-Метоксиамфетамин (ПМА) 4-метокси-α-метилфениламин $C_{10}H_{15}NO$ $M_r = 165,2$
	2-амино-1-(2,5-диметокси-4-метил)-фенилпропан (ДОМ) d,l-2,5-диметокси-4-метиламфетамин $C_{12}H_{19}NO_2$ $M_r = 209,3$

	Триметоксиамфетамин α-Метил-3,4,5-триметоксифенетиламин $C_{12}H_{19}NO_3$ $M_r = 225,3$
	Метилендиоксиметамфетамин (МДМА) N,α-Диметил-1,3-бензодиоксол-5-этанамин (d,l-3,4-метилендиокси-N-α-диметил-фенилэтиламин) $C_{11}H_{15}NO_2$ $M_r = 193,2$
	Метилендиоксиамфетамин (МДА, тенамфетамин) α-Метил-1,3-бензодиоксол-5-этанамин $C_{10}H_{13}NO_2$ $M_r = 179,2$

Классификация фенилалкиламинов по химическому строению:

- 1) фенилалкиламины, замещенные по аминогруппе – метамфетамин, N-метилэфедрин;
- 2) фенилалкиламины, замещенные по алкильному радикалу – амфетамин, эфедрин, эфедрон, катин, катинон;
- 3) фенилалкиламины с заместителями в ароматическом кольце, а также других возможных положениях – в пределах данной группы целесообразно классифицировать фенилалкиламины по характеру замещения в ароматическом кольце:
 - монометоксизамещенные – ПМА (4-метокси- α -метилфениламин);
 - диметоксизамещенные – ДОБ (d,l-2,5-диметокси-4-бромамфетамин), ДОХ (d,l-2,5-диметокси-4-хлорамфетамин), ДОЭТ (d,l-2,5-диметокси-4-этиламфетамин), ДОМ (d,l-2,5-диметокси-4-метиламфетамин);
 - триметоксизамещенные – 3,4,5-триметоксиамфетамин и другие изомеры по положению метоксигрупп, мескалин (3,4,5-триметоксифенилэтиламин);
 - метилендиоксизамещенные – МДМА (d,l-3,4-метилендиокси-N- α -диметил-фенилэтиламин), МБДБ (d,l-метил-1-(3,4-метилендиоксифенил)-2-

бутанамином), МДА (тенамфетамин, 3,4-метилendioксиамфетамин), БДБ (4-метилendioксифенил-2-бутанамином), ММДА (3-метокси-4,5-метилendioксиамфетамин).

Классификация фенилалкиламинов по источникам происхождения:

1) природные фенилалкиламины – эфедрин (трава эфедры *Herba Ephedraea*); катин и катинон (листья и молодые побеги ката съедобного *Catha edulis*); мескалин (кактус пейот *Lophophora williamsii*);

2) синтетические фенилалкиламины – амфетамин, метамфетамин, а также их метокси- и метиленоксизамещенные производные.

Синтетические фенилалкиламины являются производными амфетамина, поэтому термин «амфетамины» будет в дальнейшем использоваться для обозначения всей группы указанных веществ.

Физико-химические свойства. Основания всех фенилалкиламинов (за исключением эфедрина) представляют собой маслянистые труднолетучие жидкости. Их соли с соляной и серной кислотами – белые или слегка кремовые порошки кристаллической структуры, легкорастворимые в полярных растворителях (воде, этаноле, метаноле) и практически нерастворимые в хлороформе и эфире.

Токсикокинетика и метаболизм. Все фенилалкиламины быстро всасываются в желудочно-кишечном тракте после орального введения, максимальная концентрация в крови достигается через 2-3 часа. За 24 часа выводится с мочой 70-90% вещества.

Значение pH мочи значительно влияет на метаболизм и период полувыведения из организма: при значении pH в кислой области максимален выход фенилалкиламинов в неизменном виде с увеличением периода полувыведения; при щелочном значении pH увеличивается количество метаболитов и снижается период полувыведения. В таблице 6 приведены основные токсикокинетические параметры некоторых фенилалкиламинов.

Таблица 6.

**Основные токсикокинетические параметры некоторых
фенилалкиламинов**

Вещество	pK_a	Концентрация в плазме крови, нг/мл			Период полувыведения, ч	Выделение в неизменном виде, %
		Терапевти- ческая	токсическая	летальная		
Амфетамин	9,9	10	200-3000	до 41000	8-12	30-70
Метамфетамин	10,1	10-50	100-2000	до 43000	9	45
Эфедрин	9,6	35-80	150-10000		3-11	55-75
Норэфедрин	9,4	50-120	до 50000		4	90
Эфедрон	9,0		200-30000		3-8	15-20

Эфедрин в неизменном виде выделяется в количестве 55-75% от введенной дозы. Основными метаболитами являются: 8-20% – норэфедрин, 4-13% – бензойная и гиппуровая кислоты (конъюгат бензойной и глюкуроновой кислот), фенилпропандиол. При щелочном значении pH мочи выведение эфедрина снижается до 25-30%, соответственно увеличивается содержание норэфедрина (рис. 4).

Норэфедрин в неизменном состоянии выделяется практически полностью – 90%. В качестве метаболитов обнаруживают малые количества амфетамина, эфедрина.

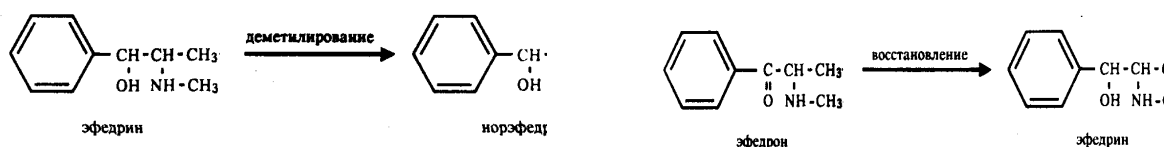


Рис. 4. Основные пути метаболизма эфедрина и эфедрона

Эфедрон – в неизменном виде выделяется 20-30% в течение 12-16 часов. Основным метаболитом является эфедрин (50-60%), который можно обнаружить через 24-36 часов после употребления. Присутствуют также небольшие количества норэфедрина (рис. 4).

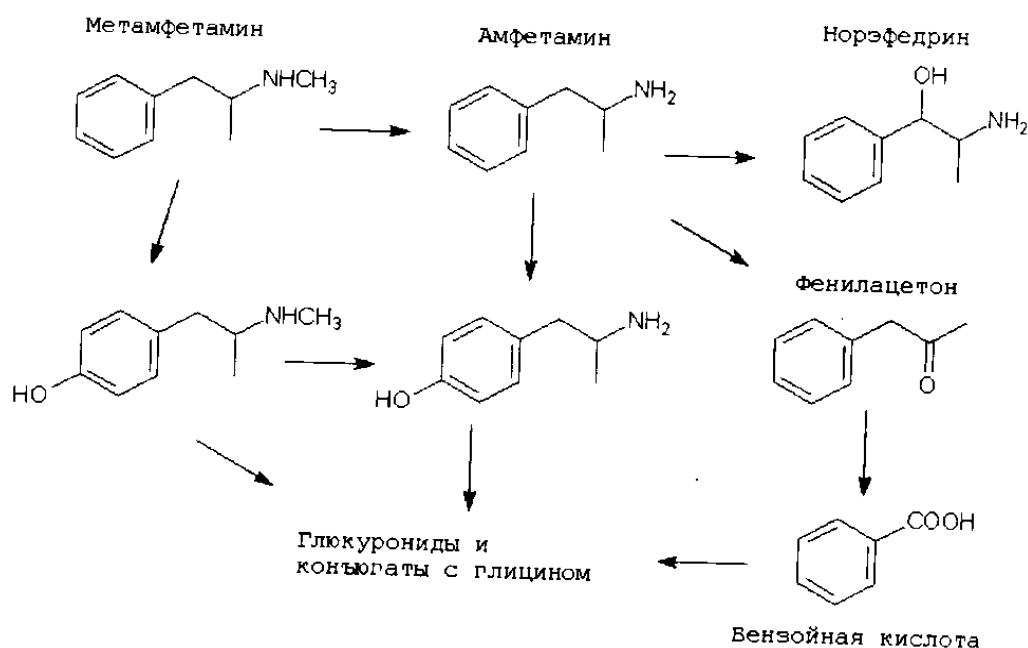


Рис. 5. Основные пути метаболизма амфетамина и метамфетамина

Амфетамин в неизменном виде экскретируется с мочой только на 30%. Его основными метаболитами являются гиппуровая кислота – 16-28%, бензоглюкуронид – 4%, 4-гидроксиамфетамин – 2-4%, норэфедрин – 2%.

Метамфетамин в неизменном виде с мочой выделяется 45% от введенной дозы. Основные метаболиты: амфетамин – 5%, 4-гидроксиамфетамин – 15% (рис. 5).

После приема разовой дозы 10 мг амфетамина или метамфетамина концентрация обоих в моче в течение 24 часов находится на уровне 0,4-5,0 нг/мл. Прием больших доз позволяет обнаруживать амфетамин в моче в течение нескольких дней. Концентрация при этом составляет до 3 мкг/мл.

Рисунок 6 представляет основные пути метаболизма 3,4-метилендиоксипроизводных амфетамина – МДМА, МДА. Метаболизм происходит в две стадии: окисление и образование конъюгатов с серной и глюкуроновой кислотами.

Установлено, что концентрация МДМА в крови на уровне 0,16-0,59 мкг/мл соответствует внешним проявлениям наркотического опьянения, на уровне 0,95-2,0 мкг/мл – смертельны.

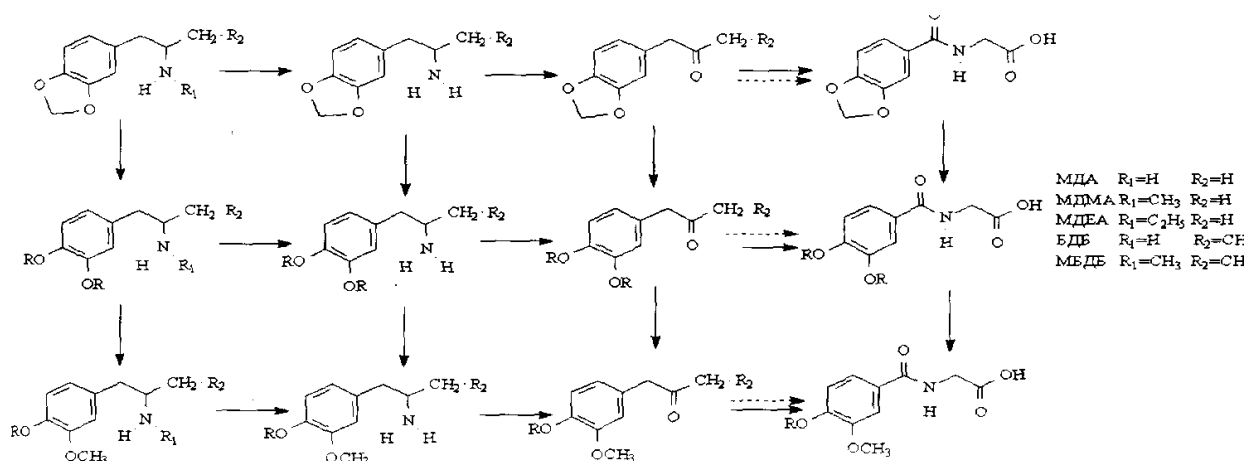


Рис. 6. Основные пути метаболизма 3,4-метилендиоксипроизводных амфетамина

При определении в моче концентрации МДМА и его основного метаболита МДА обнаружено, что нативное соединение содержится в количестве 0,38-96,2 мкг/мл, а метаболит – 0,15-8,6 мкг/мл.

Анализируемые вещества и объекты при судебно-химическом и химико-токсикологическом исследованиях на фенилалкиламины. Характерной особенностью токсикокинетики фенилалкиламинов, в частности амфетаминов, является экскреция достаточно большого количества неизмененного соединения (не менее 30% от введенной дозы). В связи с этим анализ при исследовании на амфетамины направлен на обнаружение нативного соединения.

Наибольшее значение среди объектов исследования имеет моча.

Разработаны и апробированы методики, основанные на использовании нетрадиционных объектов – волос, ногтей, слюны, потожировых выделений.

Химические экспресс-тесты на фенилалкиламины. Фенилалкиламины определяют капельным методом с помощью следующих реакций:

I. Цветные реакции, выполняемые в среде концентрированной серной кислоты:

1. На практике реакция с реактивом Марки получила наибольшее распространение. Амфетамины с данным реактивом образуют продукты, имеющие сначала серую, желтую или коричневую окраску, постепенно переходящую в темные тона (табл. 7). Аналогичные переходы окраски имеют вещества, не относящиеся к наркотическим, например, адреналин, серотонин,

эргометрин и др. Кроме того, многие представители наркотических средств также образуют окрашенные продукты с реактивом Марки.

Таблица 7.

Характер окрашивания некоторых фенилалкиламинов с реактивом Марки

<i>№</i>	<i>Вещество</i>	<i>Переход окраски</i>
1.	МДА	синие-черный → зеленовато-черный
2.	МДМА	синие-черный → зеленовато-черный
3.	ДОМ	желтый
4.	ДОБ	зеленый → изумрудно-зеленый
5.	ДОХ	желто-зеленый
6.	МБДБ	синие-черный → зеленовато-черный
7.	БДБ	синие-черный → зеленовато-черный
8.	ДОЭТ	светло-коричневый → зеленый
9.	Мескалин	оранжевый
10.	Метамфетамин	коричневый

2. Реакция с концентрированной серной кислотой. Согласно Ньюингеру, по реакции с серной кислотой можно дифференцировать амфетамин, метамфетамин от их производных, содержащих заместители в ароматическом кольце. При проведении данной реакции, только замещенные производные дают окрашенные продукты.

II. Цветные экстракционные реакции и реакции, основанные на образовании аддуктов с катионами металлов:

1. Реакция с сероуглеродом и аммиачным раствором сульфата меди. Данную реакцию дают вторичные алифатические или циклические амины при комнатной температуре с образованием коричневых нерастворимых в воде солей меди соответствующих дитиокарбаминовых кислот, которые экстрагируются бензолом, хлороформом и другими органическими растворителями.

Кроме того, для определения эфедрина используется реакция Кен-Чоу, которая проводится в щелочной среде в присутствии сульфата меди. Реакция основана на образовании хелатного комплекса с ионом меди, который

экстрагируется эфиром, окрашивая его в пурпурно-красный цвет или н-бутанолом, окрашивая последний в фиолетовый цвет. Реакция Кен-Чао селективна для фенилалкиламинов с вицинальными амино- и гидроксигруппами (рис. 7).

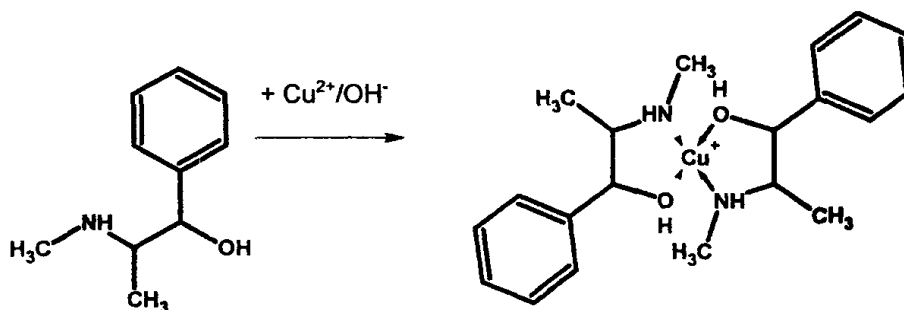


Рис. 7. Реакция Кен-Чао на примере эфедрина

2. Реакция с роданидом кобальта. При большом избытке любого амфетамина возможно образование комплексов с роданидом кобальта, которые окрашены в синий цвет. Эфедрин образует голубые комплексы в концентрированном растворе роданида кобальта, которые разрушаются при добавлении воды.

3. Амфетамины взаимодействуют с кислотными красителями, например, с метиловым оранжевым, тропеолином 00, продукты реакции легко экстрагируются хлороформом. Эфедрин сравнительно слабо экстрагируется из водных растворов в присутствии метилового оранжевого при значении pH 4-6.

III. Реакции образования окрашенных производных при использовании неокрашенных реагентов:

1. Производные амфетамина, не имеющие заместителей в ароматическом кольце, вступают в реакцию Витали-Морена с образованием аци-солей полинитропроизводных, окрашенных в зеленый, пурпурный или синий цвет. Количество добавляемого основания определяет цвет. Метокси- и метиленоксипроизводные амфетамина образуют продукты зеленого цвета, в случае отрицательного результата появляется желтая окраска и выпадает коричневый осадок.

Реакция с реактивом Симона (смесь растворов натрия нитропруссид и ацетальдегида).

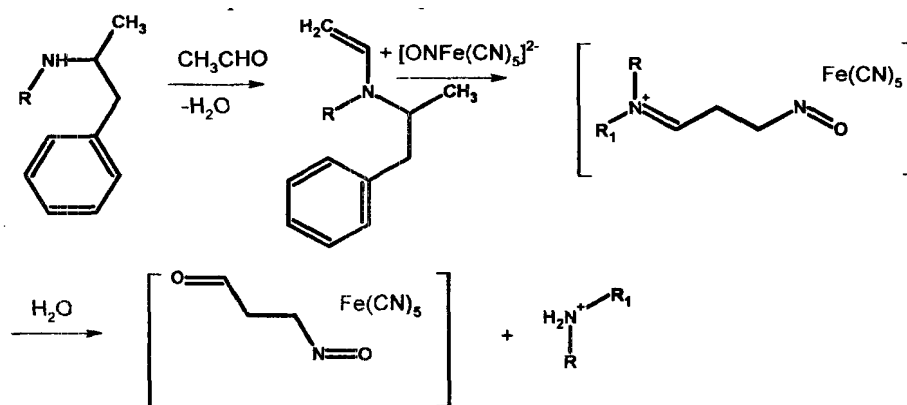


Рис. 8. Реакция фенилалкиламинов, содержащих вторичную аминогруппу, с реактивом Симона

Вторичные амины, например, метамфетамин, могут быть идентифицированы с помощью реактива Симона с образованием синего комплекса Симона-Ауэ. Амин и альдегид образуют енамин, который частично реагирует с нитропруссидом натрия с образованием продукта, который гидролизуется и образуется окрашенный комплекс Симона-Ауэ (рис. 8). Если ацетальдегид растворить в ацетоне, то реакция пойдет преимущественно с первичными аминами и образуются продукты, окрашенные в пурпурный цвет.

Как показала практика, при использовании данного реактива ложноположительные результаты могут давать многие вещества, содержащие аминогруппу.

Исследование на фенилалкиламины методом ТСХ. Метод ТСХ используется в качестве метода предварительного при исследовании биологических проб, а также таблетированных форм метилendioксипроизводных амфетамина – наиболее распространенных форм нелегального употребления данных наркотических средств.

Для хроматографирования используют «рекомендованные системы» следующего состава:

- 1) хлороформ - ацетон- этанол - аммиак (20:20:3:1) (система 1);
- 2) толуол - этанол - триэтиламин (9:1:1) (система 2).

Также известно использование систем состава (в практической деятельности химико-токсикологической лаборатории Клинической наркологической больницы №17 г. Москвы):

- 1) этилацетат - метанол - аммиак (85:10:5);

2) метанол - аммиак (100:1,5).

Проявление рекомендовано по следующей схеме:

1) УФ-свет при длине волны 254 и 366 нм;

2) обработка раствором нингидрина – первичные амины дают фиолетовое, розовое или пурпурное окрашивание, вторичные амины – желтое;

3) обработка реактивом Марки – амфетамин, метамфетамин дают оранжево-коричневое окрашивание, метилendioксипроизводные амфетамина – ярко-синее окрашивание.

4) обработка раствором черного прочного К (4-(4-нитрофенил)-азо-бензолдiazоний хлорид) – вторичные амины дают оранжевое окрашивание, после обработки 1 М раствором натрия гидроксида первичные амины – фиолетовое окрашивание.

Таблица 8.

**Значения R_f фенилалкиламинов в «рекомендованных системах»,
проявление и пределы обнаружения**

<i>Вещество</i>	<i>Значения R_f</i>		<i>Окрашивание и пределы обнаружения (ПО)</i>			
	система 1	система 2	реактив Марки	ПО, мкг	раствор нингидрина	ПО, мкг
Амфетамин	0,48	-	коричневый	1,0	желтый	0,6
БДБ	0,60	0,48	сине-зеленый → зелено-черный	0,4	желтый	0,6
ДОБ	0,34	0,30	желтый → изумрудно- зеленый	2,0	оранжевый	0,6
ДОМ	0,30	0,32	желтый	2,0	желтый	0,6
ДОХ	0,44	0,31	желто-зеленый	2,0	желтый	0,6
Метамфетамин	0,25	0,36	коричневый	1,0	коричневый	0,6
ДОЭТ	0,36	0,36	желтый	2,0	желтый	0,6
МБДБ	0,26	0,54	сине-зеленый → зелено-черный	0,4	фиолетово- коричневый	0,6
МДА	0,44	0,31	сине-зеленый → зелено-черный	0,4	желтый	0,6
МДМА	0,12	0,36	сине-зеленый → зелено-черный	0,4	фиолетово- коричневый	0,6
Эфедрин	0,18	-	-	-	фиолетовый	0,6

В руководстве по химико-токсикологическому анализу наркотических и других одурманивающих средств под редакцией профессора Б.Н. Изотова «Анализ наркотических средств» предложены частные системы для исследования на эфедрин и эфедрон:

- 1) метанол - аммиак (49:1);
- 2) бензол - диэтиламин - этанол (9:1:1).

Изолирование фенилалкиламинов из биологического материала. При исследовании на фенилалкиламины в подавляющем большинстве случаев объектом является моча, поэтому изолирование фенилалкиламинов проводят:

1) методом ЖЖЭ – при значении pH 10-11, для создания которого применяют концентрированный раствор аммиака, или 1 М раствор натрия гидроксида; экстрагенты – диэтиловый эфир, толуол, бензол, хлороформ;

2) методом ТФЭ – в патронах C₁₈ и их аналогах; элюирование с колонки осуществляют смесью этилацетат - аммиак (98:2).

Полученный органический экстракт подвергают упариванию при комнатной температуре инертного газа или воздуха. Представители группы фенилалкиламинов в виде оснований являются достаточно летучими, поэтому для снижения неконтролируемых потерь на стадии упаривания их необходимо перевести в солевую форму. Для этого используются 5% раствор соляной кислоты в метаноле или 1% раствор уксусной кислоты в этаноле.

Типовая методика изолирования фенилалкиламинов из мочи включает следующие стадии:

- 1) Подщелачивание мочи до значения pH 10-11;
- 2) Экстракция методами ЖЖЭ (диэтиловый эфир, толуол, бензол, хлороформ) или ТФЭ;
- 3) Центрифугирование для разделения органической и водной фаз (в варианте ЖЖЭ);
- 4) Упаривание экстракта.

Исследование на фенилалкиламины методом газовой и высокоэффективной жидкостной хроматографии. Хроматографическое разделение фенилалкиламинов без предварительной дериватизации, осуществляют с применением ПИД на кварцевых капиллярных колонках с полярными или слабополярными неподвижными фазами: 5% фенил-

диметилсиликон (фаза HP-5 или HP-5MS). Разделение можно проводить как при программировании температуры колонки: от 130 °С до 200 °С со скоростью 15 °С/мин при дальнейшем выдерживании в течение 12 мин, так и в изотермическом режиме 130 °С.

ВЭЖХ-анализ также используется при исследовании на фенилалкиламины. В таблице 9 приведены пределы обнаружения некоторых фенилалкиламинов, полученные на хроматографе «Миллихром».

Таблица 9.

Пределы обнаружения некоторых фенилалкиламинов методом ВЭЖХ

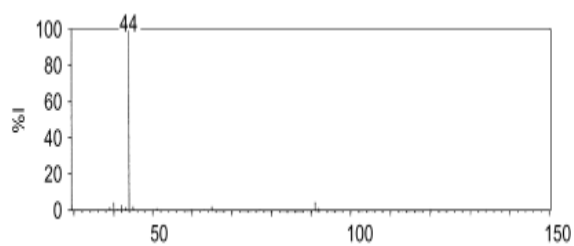
<i>Вещество</i>	<i>Предел обнаружения, нг/мл</i>
Эфедрин	6,0
Эфедрон	10,0
Норэфедрин	3,3
Амфетамин	1,6
Метамфетамин	8,0

При наличии внутренних стандартов проводится количественное определение фенилалкиламинов методами ГЖХ и ВЭЖХ.

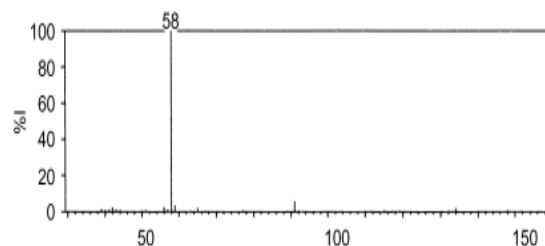
Исследование на фенилалкиламины методом ГХ/МС проводится также с применением кварцевых капиллярных колонок, неподвижная фаза – HP-5 или HP-5MS. Температурная программа термостата колонки: начальная – 80⁰ С; конечная – 280⁰ С, скорость – 20⁰ С/мин; температура инжектора – 240⁰ С. Возможно применение других температурных программ. В качестве газа носителя используют гелий, скорость – 1,2 мл/мин.

Масс-спектры некоторых фенилалкиламинов представлены на рисунке 9.

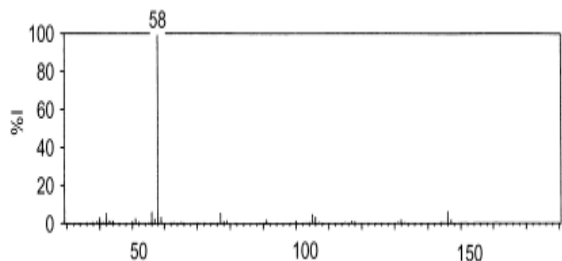
Для улучшения хроматографических свойств фенилалкиламинов используют их дериватизацию с применением ангидрида трифторуксусной кислоты (ТФА). Сухой остаток после удаления органического экстрагента обрабатывают 0,1 мл ТФА при 60 °С в течение 30 мин в закрытой емкости. После охлаждения смесь упаривают досуха в токе воздуха. Сухой остаток растворяют в этилацетате или хлороформе.



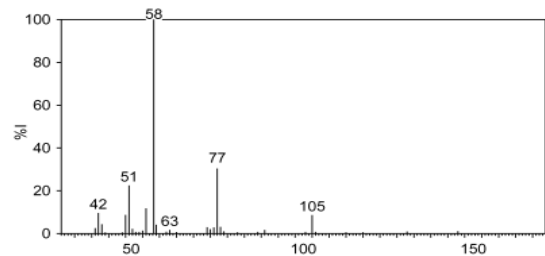
А



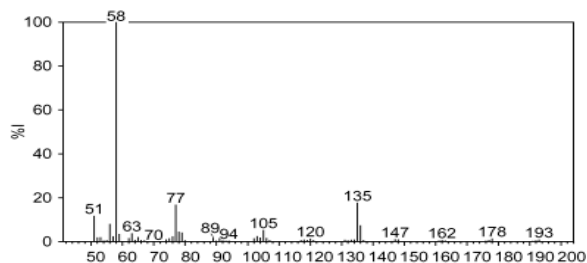
Б



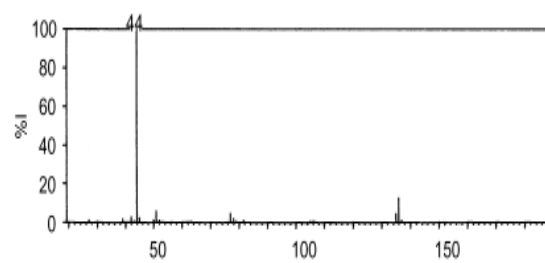
В



Г



Д



Е

Рис. 9. Масс-спектры некоторых фенилалкиламинов: амфетамина (А), метамфетамина (Б), эфедрина (В), эфедрона (Г) и метилendioксипроизводных амфетамина: МДМА (Д), МДА (Е)

Идентификацию фенилалкиламинов можно проводить в режиме сканирования (SCAN) или в режиме селективного ионного мониторинга (SIM), направленного на регистрацию характеристических ионов ТФА-производных фенилалкиламинов, приведенных в таблице 10.

Таблица 10.

Времена удерживания и характеристические ионы трифторуксусных производных некоторых фенилалкиламинов

<i>№</i>	<i>Вещество</i>	<i>Время удерживания (HP5-MS), мин</i>	<i>Характеристические ионы, m/z</i>		
1.	Амфетамин	6,47	140	118	91
2.	Эфедрин	9,21	244	154	110
3.	Метамфетамин	9,30	154	118	110
4.	МДА	11,04	275	162	135
5.	БДБ	11,67	289	176	135
6.	ДОМ	11,93	305	192	165
7.	МДМА	12,01	289	162	154
8.	ДОЕТ	12,31	319	206	179
9.	МБДБ	12,49	303	176	168
11.	Мескалин	12,84	307	194	181
12.	ДОХ	12,71	325	212	185
13.	ДОБ	13,23	369	258	229

Количественное определение фенилакиламинов проводится методом внешнего стандарта по молекулярным ионам ТФА-производных исследуемых веществ. К биологической матрице, заведомо не содержащей наркотических средств, добавляют метанольные растворы анализируемого соединения из расчета 0,2-25,0 нг/мг. Образцы высушивают на воздухе в течение суток и анализируют. Для построения калибровочного графика используют не менее 6 точек.

Чувствительность метода ГХ/МС при исследовании образцов волос на амфетамины составляет 0,5 нг/мг.

Исследование нативных амфетаминов методом ГХ/МС при использовании ионизации электронным ударом связано с определенными трудностями: все они являются близкими структурными аналогами и имеют схожие трудноразличимые масс-спектры. Например, МДМА и БДБ, МБДБ и

метилендиоксиэтиламфетамин (МДЕА) отличаются друг от друга расположением одной метильной группы, а метамфетамин и эфедрин с псевдоэфедрином – наличием или отсутствием одной гидроксильной группы. В масс-спектрах этих веществ нет выраженного молекулярного иона, максимальный пик обычно значительно превышает все остальные по интенсивности и находится в малоинформативном диапазоне от 50 до 90 m/z .

Получение ацильных производных амфетаминов приводит к значительному увеличению информативности масс-спектров. Кроме того, указанные вещества при хроматографическом разделении дают более симметричные пики, что позволяет получать более точные результаты при количественном определении. Рисунок 10 показывает масс-спектры ТФА-производных МБДБ и МДЕА, а также соответствующие им схемы фрагментации.

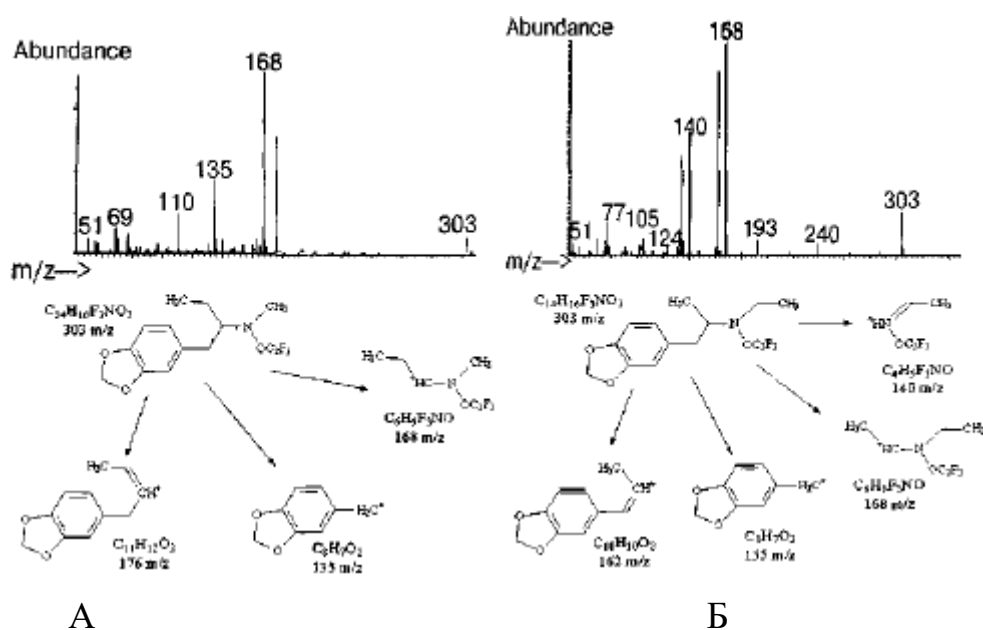


Рис. 10. Масс-спектры и схемы фрагментации МБДБ-ТФА (А) и МДЕА-ТФА (Б)

Аналогичным образом происходит фрагментация ТФА-производных эфедрина и метамфетамина, которые образуют различные между собой масс-спектры (рис. 11).

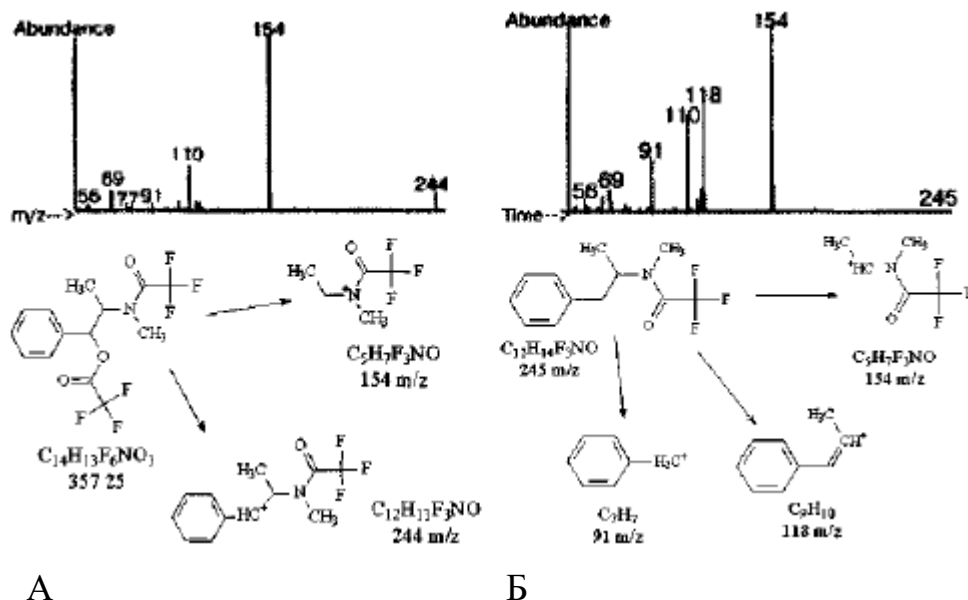


Рис. 11. Масс-спектры и схемы фрагментации эфедрина-2ТФА (А) и метамфетамина-ТФА (Б)

Анализ схемы фрагментации показывает, что гидроксильная группа в молекуле эфедрина значительно изменяет направление фрагментации по сравнению с метамфетамином. У последнего ионы 118 и 91 m/z – одни из самых интенсивных в масс-спектре и практически отсутствует молекулярный ион 245 m/z . Для эфедрина наблюдается обратная картина.

Таким образом, использование в качестве дериватизирующих агентов ангидрида трифторуксусной кислоты при ГХ/МС исследовании амфетаминов позволяет получать достаточную информацию об их строении. У большинства ТФА-производных данных веществ в масс-спектрах присутствует хорошо выраженный молекулярный ион, а также несколько дополнительных ионов, несущих информацию о строении вещества.

6. Каннабиноиды. Токсикокинетика, метаболизм. Методы анализа

Соединения группы каннабиноидов являются биологически активными компонентами растений рода конопля (сем. *Cannabiaceae*). Основными наркотическими средствами, получаемыми из конопли, являются каннабис, марихуана, гашиш, анаша, смола каннабиса и гашишное масло, различающиеся между собой содержанием действующих веществ, консистенцией и наличием примесей. В настоящее время выделено и идентифицировано около 70 различных каннабиноидов. В основе их структуры лежит кислородсодержащее гетероциклическое соединение – дибензопиран (рис. 12).

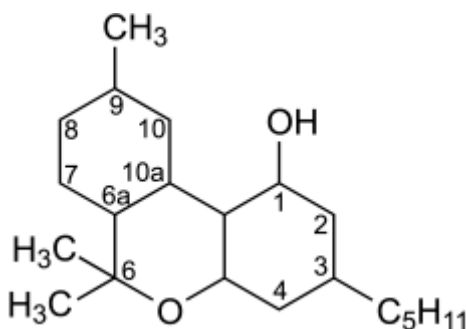


Рис. 12. Структура и нумерация атомов дибензопирана

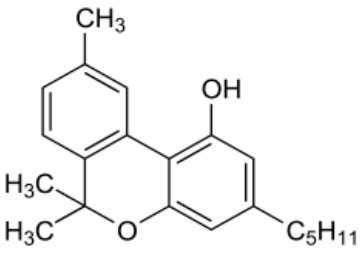
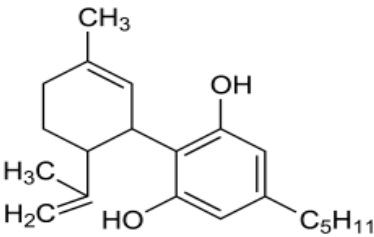
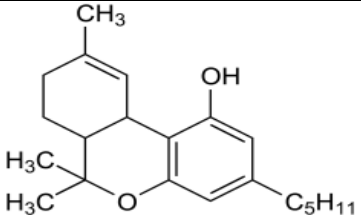
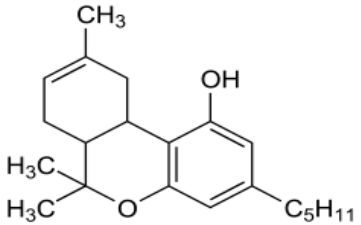
Наибольшее химико-токсикологическое значение из веществ данной группы имеют: каннабидиол (КБД), каннабинол (КБ), (-)-транс- Δ^9 -тетрагидроканнабинол (Δ^9 -ТГК), (-)-транс- Δ^8 -тетрагидроканнабинол (Δ^8 -ТГК).

Уровень Δ^9 -ТГК в марихуане составляет 0,5-5,0%, в гашише – 2,0-10,0% и гашишном масле – 10,0-30,0%.

Физико-химические свойства. Δ^9 -ТГК имеет температуру кипения 200°C, хорошо растворим в этаноле, ацетоне; растворимость в воде – 3 мг/л. Δ^9 -ТГК является слабой кислотой и имеет величину pK_a , равную 10,6.

Таблица 11.

Химическая структура каннабиноидов

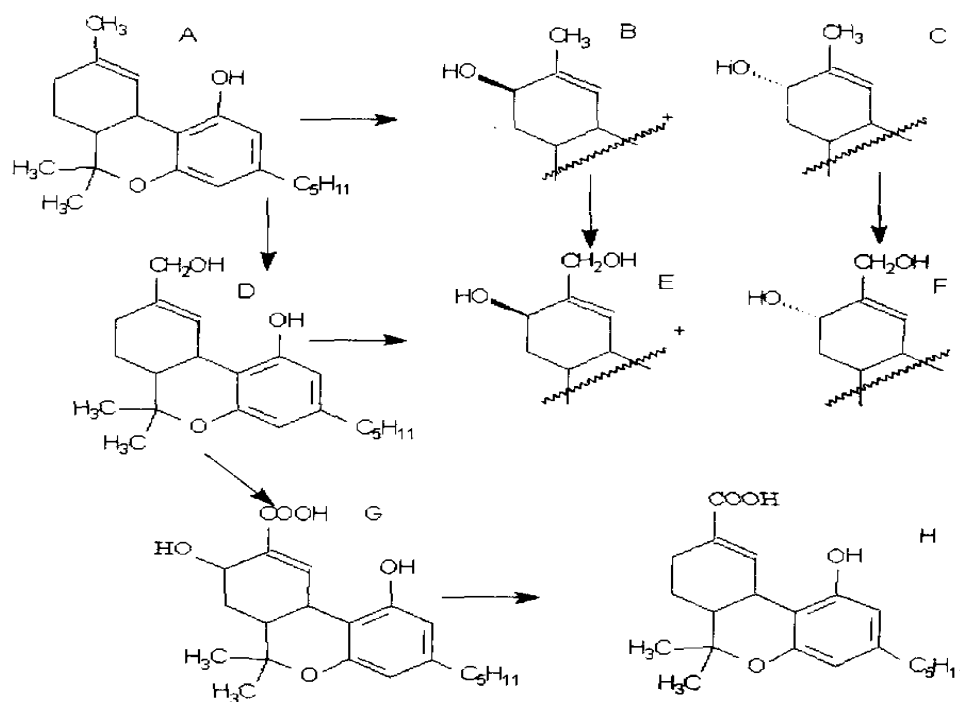
	Каннабинол 6,6,9-триметил-3-пентил-6Н-дибензо[b,d]пиран-1-ол $C_{21}H_{26}O_2$ Mr = 310,4
	Каннабидиол 2-[3-метил-6-(1-метилэтенил)-2-циклогексен-1-ил]-5-пентил-1,3-бензенедиол $C_{21}H_{30}O_2$ Mr = 314,5
	(-)-транс-Δ^9-тетрагидроканнабинол; Δ^1-ТГК*; Δ^9-ТГК $C_{21}H_{30}O_2$ Mr = 314,5
	(-)-транс-Δ^8-тетрагидроканнабинол; Δ^{1-6}-ТГК*; Δ^8-ТГК $C_{21}H_{30}O_2$ Mr = 314,5

* — название с использованием монотерпеноидной нумерации родоначального цикла.

Токсикокинетика и метаболизм. При курении каннабиноиды всасываются в течение нескольких минут, при этом максимальная концентрация Δ^9 -ТГК в крови достигается через 5-30 минут с последующим быстрым снижением за счет распределения по тканям и процессов метаболизма.

При пероральном введении всасывается 90-95% Δ^9 -ТГК, вследствие высокой липофильности и процессов метаболизма в печени только 10-20%

дозы достигает системного кровообращения. Концентрация Δ^9 -ТГК в крови нарастает медленно, достигая максимальных значений через 1,5-3 часа.



- A – Δ^9 -ТГК; В – 8 β -ОН- Δ^9 -ТГК; С – 8 α -ОН- Δ^9 -ТГК;
 D – 11-ОН- Δ^9 -ТГК; E – 8 β ,11-дигидрокси- Δ^9 -ТГК;
 F – 8 α ,11-дигидрокси- Δ^9 -ТГК; G – 8 α -гидрокси- Δ^9 -ТГК-кислота;
 H – 11-нор-9-карбокسي- Δ^9 -ТГК-кислота

Рис. 13. Основные пути метаболизма Δ^9 -тетрагидроканнабинола (ТГК)

Δ^9 -ТГК распределяется в большей степени в тканях, богатых липидами (в печени, почках, легких, мозге; долго задерживается печенью, селезенкой и костным мозгом). Δ^9 -ТГК имеет большой объем распределения, равный 10 л/кг, более 95% его количества, а также метаболитов связываются с белками крови.

Метаболизм каннабиноидов осуществляется преимущественно в микросомах печени с высокой интенсивностью, обнаружено около 75 метаболитов. Пути метаболизма, подчиняясь общим закономерностям, имеют видовые и индивидуальные особенности и отличаются в разных тканях.

Метаболизм Δ^9 -ТГК представлен на рисунке 13.

Основным неактивным метаболитом Δ^9 -ТГК является 11-нор-9-карбокسي- Δ^9 -ТГК-кислота (ТГК-кислота) и ее конъюгат с глюкуроновой кислотой. Некоторые из метаболитов Δ^9 -ТГК активны, например, 11-ОН- Δ^9 -ТГК является

основным активным метаболитом, превосходящим исходное вещество, также активен 8β -ОН- Δ^9 -ТГК.

Для Δ^9 -ТГК около 80-90% дозы выводится за 5 дней после приема, причем 20% экскретируется с мочой и 65% – с калом. Количество выводимого вещества зависит от дозы и путей введения.

При пероральном приеме Δ^9 -ТГК присутствует в плазме крови в виде глюкуронида ТГК-кислоты; при курении – в виде свободной ТГК-кислоты.

С мочой каннабиноиды выводятся в виде метаболитов, основным из которых является ТГК-кислота, связанная на 80% с глюкуроновой (в виде глюкуронидов и диглюкуронидов) и серной кислотами. С фекалиями в большей степени выводятся Δ^9 -ТГК и ТГК-кислота, конъюгированная с желчными и жирными кислотами.

Метаболит $8\beta,11$ -дигидрокси- Δ^9 -ТГК выводится с мочой в виде глюкуронидов и может быть обнаружен после гидролиза. Его присутствие в моче на уровне более 15 нг/мл указывает на вероятное употребление марихуаны не более чем за 6 часов до момента отбора пробы мочи.

Анализируемые вещества и объекты при химико-токсикологическом исследовании на каннабиноиды. Анализ каннабиноидов представляет собой определенные трудности вследствие их высокой липофильности и низкой концентрации в анализируемых биологических жидкостях – моче и крови. Поэтому часто содержание каннабиноидов устанавливается в смывах с рук, лица и ротовой полости курильщиков. Обнаружение каннабиноидов только в смывах не является подтверждением факта употребления марихуаны или гашиша.

Несмотря на объективные методические трудности, каннабиноиды возможно обнаруживать в волосах и ногтях лиц, постоянно употребляющих марихуану.

При исследовании на каннабиноиды основными анализируемым веществом, на обнаружение которых направлен анализ, являются: в моче – 11-нор-9-карбокси- Δ^9 -ТГК-кислота (ТГК-кислота), а в крови – ТГК. У хронических наркоманов в моче определяется более 20 нг/мл ТГК-кислоты в течение месяца, а у «легких» потребителей – в среднем 13 дней после последнего употребления.

Содержание ТГК в моче составляет до 113 нг/мл; временной интервал определения – 5-6 часов, в плазме крови – 72 часа.

Sachs Н. с соавторами исследовали 30 проб волос хронических наркоманов, в которых 23 раза был обнаружен КБД, 22 раза – КБ и 9 раз – ТГК. В случае обнаружения одного из этих трех веществ отмытых от посторонних примесей волосах, авторы указывают на необходимость обязательного проведения исследований на ТГК-кислоту для отделения среди полученных результатов случаев непреднамеренного попадания этих веществ на поверхность волос из окружающей среды, например, с дымом.

Химические экспресс-тесты на каннабиноиды. Каннабиноиды определяют капельным методом с помощью следующих реакций:

I. Реакции образования окрашенных производных с использованием окрашенных реагентов:

1. С реактивом Дюкенуа-Левина (ванилин, ацетальдегид, соляная кислота). Эту реакцию проводят после экстракции исследуемых соединений из образца хлороформом в несколько стадий. Образование фиолетовой окраски хлороформного слоя указывает на присутствие в образце каннабиноидов. Многостадийность и применение высоколетучего и нестабильного ацетальдегида снижает ценность этой реакции для экспресс-диагностики. Чувствительность реакции составляет до 1 мкг суммы каннабиноидов;

2. Со щелочным раствором прочного синего Б. Данная реакция получила широкое распространение во внелабораторной практике. Продукты взаимодействия каннабиноидов с прочным синим Б в щелочной среде экстрагируются из реакционной смеси хлороформом, окрашивая его в оранжево-красный или красный цвет. Указанная реакция достаточно избирательна и обладает высокой чувствительностью (до 100 нг суммы каннабиноидов) для обнаружения каннабиноидов не только в растительном сырье, но также на поверхностях различных предметов, и даже в изолятах из органов трупов.

II. Цветные экстракционные реакции:

Основные красители могут образовывать окрашенные продукты с каннабиноидами. Например, родамин Б образует с ними соединения розового или красного цвета, растворимые в бензоле, пентане.

III. Цветные реакции, выполняемые после простой химической обработки за счет синтеза окрашенных соединений:

Анализ каннабиноидов возможен по реакции п-диметиламинобензальдегидом в присутствии концентрированной серной кислоты, при этом за счет разведения водой происходит переход окраски продукта реакции от красной до синей. Реакция применима для определения КБД, ТГК и ТГК-кислоты. КБ и его производные в данную реакцию не вступают.

Исследование на каннабиноиды методом иммунохимического анализа.

Наиболее распространённым вариантом иммунохимического анализа, применяемым в качестве предварительного анализа, является иммунохроматографический анализ. Достоинством метода является предел обнаружения каннабиноидов 50 нг/мл.

Исследование на каннабиноиды методом ТСХ. Метод ТСХ обычно используется при анализе смывов с пальцев рук, ладоней, губ, полости рта, т.е. мест конденсации продуктов курения. Смывы производят с помощью ватного или марлевого тампона, смоченного этиловым спиртом. Из материала тампона каннабиноиды экстрагируют органическим растворителем – этилацетатом, гексаном, петролейным эфиром. Экстракт упаривают до конечного объема 0,1-0,3 мл. Для хроматографирования используют «рекомендованные системы» следующего состава:

- 1) петролейный эфир - диэтиловый эфир (4:1) (система 1);
- 2) н-пентан - диэтиловый эфир (4:1) (система 2);
- 3) н-гексан - диэтиловый эфир (4:1) (система 3).

Проявление пластин осуществляют путем обработки 0,5% раствором прочного синего Б или ББ в 10% растворе натрия карбоната.

Таблица 12.

Значения R_f каннабиноидов в «рекомендованных системах»

<i>Вещество</i>	<i>Система 1</i>	<i>Система 2</i>	<i>Система 3</i>
Каннабинол (КБ)	0,76	0,93	0,60
Тетрагидроканнабинол (ТГК)	0,84	0,96	0,69
Каннабидиол (КБД)	0,93	0,99	0,81
ТГК-кислота	0	0	0

Изолирование ТГК и его метаболитов из биологического материала.

При исследовании плазмы крови воспроизводимые результаты и высокий выход ТГК получаются после добавления к ней ацетонитрила или метанола с последующей экстракцией толуолом. При этом в большинстве случаев требуется дополнительная очистка от жиров. Для этого используют реэкстракцию, очистку на ионообменниках и патронах для ТФЭ. При использовании для очистки метода ТФЭ даже при исследовании органов и тканей с высоким содержанием жира возможно добиться выхода ТГК около 80%.

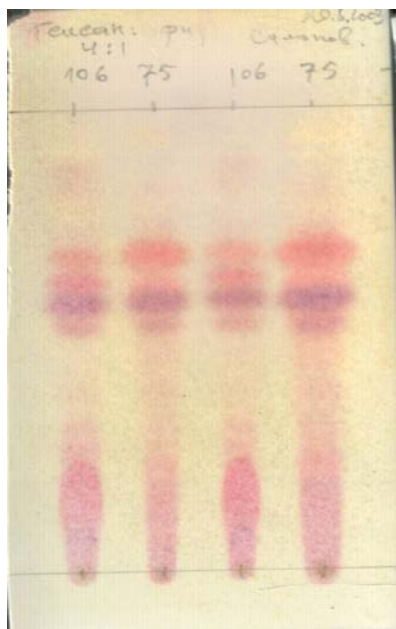


Рис. 14. Хроматограмма каннабиноидов в системе 3

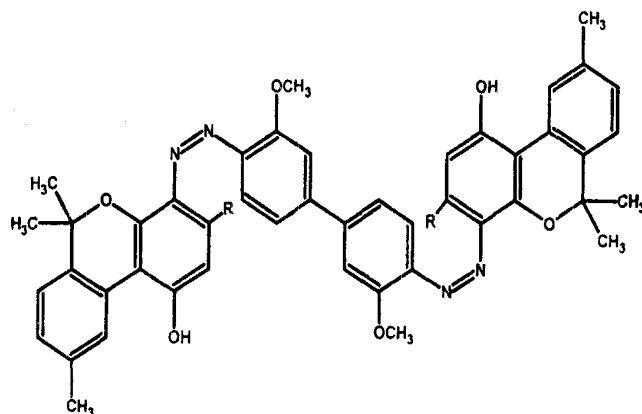


Рис. 15. Продукт реакции каннабиноидов с прочным синим Б

Пробоподготовка для анализа каннабиноидов в моче хроматографическими методами включает стадию гидролиза, в результате которого разрушается связь метаболита с глюкуроновой кислотой и наблюдается увеличение его выхода в 2 раза.

Используются два вида гидролиза: щелочной и ферментативный.

Таблица 13.

Условия щелочного гидролиза при исследовании на каннабиноиды

№	Время, мин	Температура, °C	Концентрация щелочи	Метод экстракции	Выход ТГК- кислоты, %
1.	15	37	1 М раствор КОН	ЖЖЭ	>85
2.	15	60	2 М раствор NaOH (pH 13)	ЖЖЭ	_*
3.	20	50	10 М раствор КОН, после охлаждения до pH 5-6	ТФЭ	90
4.	15	60	10 М раствор КОН, после охлаждения до pH 4-5	ТФЭ	90-94
5.	15	60	10 М раствор КОН, после охлаждения до pH 7	ТФЭ	98-99
6.	15	50	10 М раствор КОН	ТФЭ	50-60
7.	Без отдельной стадии гидролиза		КОН - метанол 1:4	ЖЖЭ	70
8.	5	20	11,8 М раствор КОН	ТФЭ	-
9.	30	60	10 М раствор КОН	ЖЖЭ	-

* – данные отсутствуют.

ТГК-кислота – метаболит ТГК выделяется с мочой в виде глюкуронидов, которые легко гидролизуются в щелочной среде. Например, 100 мкл 6 М раствора натрия гидроксида после добавления к 2 мл мочи полностью гидролизует их в течение 15 мин при комнатной температуре или в течение 5

мин при 50⁰ С. Также предлагаются другие варианты методик щелочного гидролиза, представленные в таблице 13.

Исследование эффективности гидролиза в зависимости от концентрации щелочи показало, что наиболее оптимальной является концентрация с значением 1 М. Использование 3 М растворов дает также высокую эффективность, но при этом ухудшается качество экстрактов и требуется их дополнительная очистка. По мнению профессора Б.Н. Изотова, предельно допустимая концентрация щелочи составляет 0,5 М, превышение данной величины приводит к гомогенизации биологического объекта, что затрудняет его дальнейшую очистку.

Таблица 14.

Условия ЖЖЭ при исследовании на каннабиноиды

<i>№</i>	<i>Соотношение объемов мочи и экстрагента</i>	<i>Экстрагент</i>	<i>pH</i>	<i>Время, мин</i>	<i>Выход, %</i>
1.	1:1 5 мл мочи + 3 мл буферного раствора + 5 мл экстрагента	н-гексан - этилацетат (7:1)	1,8	Э* – 5 ЦФ – 10	85 (ТГК- кислота)
2.	1:4	н-гексан - этилацетат (7:1) – в органической фазе нейтральные соединения; водная фаза до pH 4-5 + н-гексан - этилацетат (7:1) – в органической фазе кислые соединения.	12-13 4-5	Э – 5 Э – 5	60 88 (ТГК- кислота)
3.	1:3 1 мл после гидролиза смесью КОН-метанол	н-гексан - изоамиловый спирт (98,5:1,5);	12-13	Э – 30 ЦФ – 10	70 (ТГК- кислота)

	1:4 + 3 мл экстрагента	органический слой удаляют; н-гексан - этилацетат (5:1); водный слой замораживают		Э – 5 ЦФ – 10	
--	------------------------	---	--	---------------------	--

Э – продолжительность экстракции; ЦФ – продолжительность центрифугирования.

Ферментативный гидролиз осуществляется с использованием β -глюкуронидазы из разных источников: *Escherichia coli*, *Helix pomatia*, *Helix aspersa* и др. Сложноэфирная связь ТГК-кислота-глюкуронид хорошо подвергается ферментативному гидролизу, гидролизуются также и простые эфирные связи ТГК и гидроксилированных метаболитов с глюкуроновой кислотой, не разрушающиеся под воздействием щелочи. Эффективность ферментативного гидролиза зависит от активности фермента, pH среды, источника фермента.

Для изолирования каннабиноидов и их метаболитов из мочи методом ЖЖЭ наиболее часто используется смесь н-гексан - этилацетат (7:1), иногда используются смеси н-гексана с диэтиловым эфиром, изоамиловым спиртом, изооктаном.

Описание методик, представляющих наибольший интерес представлено в таблице 14.

Для изолирования нейтральных и слабоосновных компонентов экстракция из образца, подвергнутого гидролизу, осуществляется при значении pH 12-13, в органической фазе при этом обнаруживаются ТГК, КБ, КБД и гидроксилированные метаболиты. Водная фаза подкисляется до значения pH 4-5 (в некоторых методиках до 2-3), экстрагируется тем же органическим экстрагентом для изолирования кислых каннабиноидов, прежде всего ТГК-кислоты.

Наиболее простая очистка в ходе ЖЖЭ включает экстракцию органическим растворителем, экстракцию в щелочную водную фазу, подкисление и последующую экстракцию органическим растворителем.

Однако, при этом возможно загрязнение экстрактов эндогенными соединениями. Важное значение имеет тщательное разделение водной и органической фаз в ходе ЖЖЭ, необходимо не допускать попадания даже крайне малых количеств воды в конечный органический экстракт. Для более эффективного разделения фаз в некоторых методиках рекомендуется использовать замораживание водного слоя – после экстракции и центрифугирования пробирки помещают в баню со смесью сухого льда и изопропанола, при этом органический слой легко отделяется.

Типовая методика изолирования ТГК-кислоты из мочи включает следующие стадии:

- 1) Щелочной гидролиз;
- 2) Экстракция н-гексаном на стадии гидролиза (очистка от основных и нейтральных веществ мочи);
- 3) Подкисление до pH 2,0 (при ЖЖЭ) или 4,0-5,0 (при ТФЭ);
- 4) Экстракция анализируемого вещества в двух вариантах:
 - А. С использованием ЖЖЭ. Экстракция смесью н-гексан (изооктан) - этилацетат (7:1);
 - Б. С использованием ТФЭ. Проводится в патронах для ТФЭ – C₁₈, Bond Elut и их аналогах. Элюирование ТГК-кислоты проводится смесью н-гексан - этилацетат (4:1);
- 5) Упаривание при температуре не более 40° С.
- 5) Дериватизация.

Одним из необходимых условий для проведения последующего ГЖХ-анализа является дериватизация ТГК и ТГК-кислоты.

Основным способом дериватизации ТГК является ацилирование уксусным или пропионовым ангидридом.

Для ТГК-кислоты возможны следующие варианты дериватизации:

- 1) алкилирование алкилгалогенидами – метил-, этил- и пропилиодидами в сильнощелочной среде;
- 2) алкилирование смесью тетраметиламмония хлорида и иодметана;
- 3) силилирование – с применением N, O-бис (триметилсилил)-трифторацетамида (БСТФА), N-метил-N-(трет-бутилдиметилсилил)-трифторацетамида (МТБСТФА);

4) ацилирование перфторированными аналогами ангидридов алифатических кислот – с применением смеси пентафторпропионового ангидрида и гескафторизопропанола.

Исследование на каннабиноиды методом газовой хроматографии. Для идентификации каннабиноидов методом ГЖХ можно использовать извлечения, приготовленные для ТСХ. Хроматографическое разделение каннабиноидов, в том числе и их дериватов, осуществляют обычно с применением ПИД на кварцевых капиллярных колонках с полярными или слабополярными неподвижными фазами: 5% фенил-диметилсиликон (фаза HP-5 или HP-5MS). Температурные режимы термостата колонок программируются с начальной температурой 100⁰ С (1 мин) до конечной 310⁰ С (5 мин) со скоростью 35⁰ С/мин. Температура инжектора поддерживается на уровне 250⁰ С. В качестве газа носителя используют гелий.

Для количественного анализа каннабиноидов нейтрального характера в марихуане, гашише и гашишном масле в качестве внутренних стандартов используются н-тетрадекан (по рекомендации National Laboratories United Nations International Drug Control), метилстеарат (по рекомендации экспертно-криминалистического центра МВД РФ).

При определении суммы нейтральных (КБ, ТГК, КБД) и кислых (ТГК-кислота) каннабиноидов в виде силильных производных в качестве внутреннего стандарта предлагается анрост-4-ен-3,17-дион.

Исследование на каннабиноиды в моче (ТГК-кислота) методом ГХ/МС проводится также с применением кварцевых капиллярных колонок, неподвижная фаза – HP-5 или HP-5MS. Температурная программа термостата колонки: начальная – 100⁰ С (2 мин); конечная – 275⁰ С, скорость – 30⁰ С/мин; температура инжектора – 260⁰ С. Возможно применение других температурных программ. В качестве газа носителя используют гелий.

Предел обнаружения ТГК-кислоты данным методом составляет 2 нг/мл.

Одним из распространенных способов идентификации и количественного определения каннабиноидов методом ГХ/МС, используемых в рутинном химико-токсикологическом анализе, является их определение в виде метильных производных. Масс-спектры метильных производных каннабиноидов представлены на рис. 16.

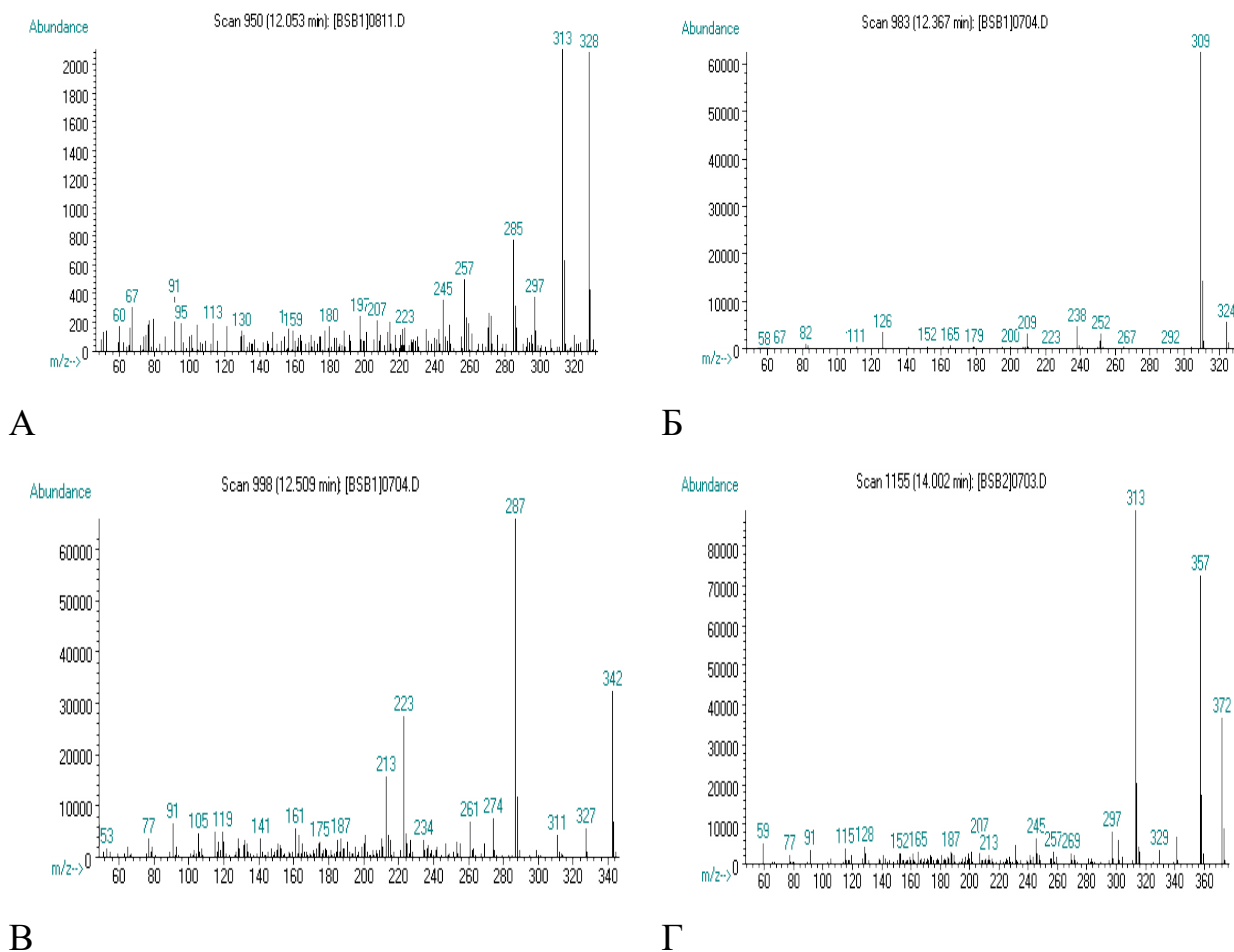


Рис. 16. Масс-спектры метиловых эфиров Δ^9 -ТГК (А), КБ (Б), диметиловых эфиров КБД (В), ТГК-кислоты (Г)

Базовым ионом для количественного определения ТГК-кислоты (в виде метильных производных) является ион с m/z 313, подтверждающие ионы – 357, 372 (M^+); фрагменты ионных хроматограмм экстракта мочи, человека, курившего марихуану представлены на рис. 17.

Линейный диапазон составляет 5-350 нг.

В практике химико-токсикологического анализа в США достаточно широко применяются дейтерированные аналоги каннабиноидов, в частности, d_3 11-нор-9-карбокси- Δ^9 -ТГК-кислота (d_3 ТГК-кислота) – как стандарты для ГХ/МС анализа.

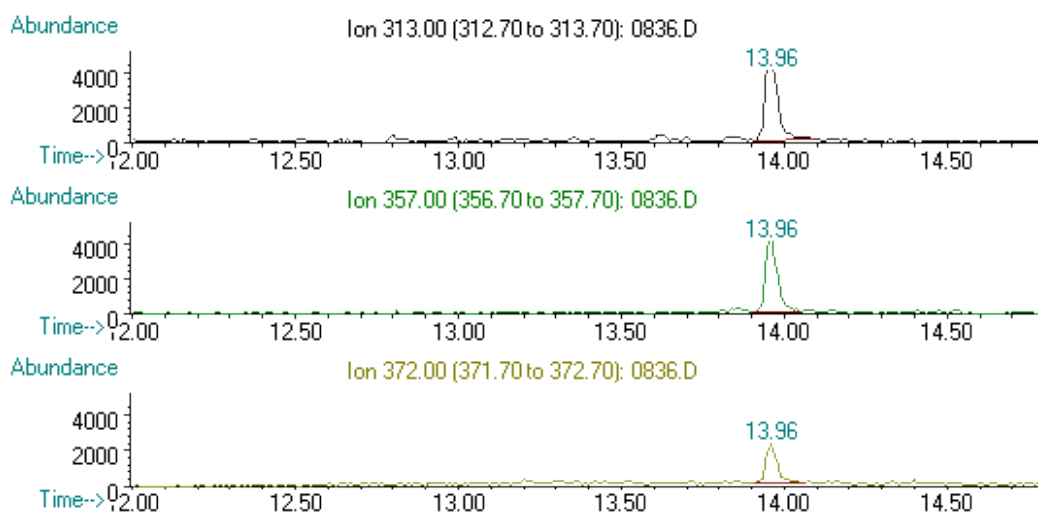


Рис. 17. Фрагменты ионных хроматограмм экстракта мочи человека, курившего марихуану

Так как, нормативно-правовая база не позволяет иметь отечественным судебно-химическим и химико-токсикологическим лабораториям стандартные образцы каннабиноидов, в качестве внутреннего стандарта предложено использовать метаквалон (по рекомендации Московского Областного бюро судебно-медицинской экспертизы).

Разработаны методики идентификации и количественного определения каннабиноидов методом ВЭЖХ.

Устойчивость каннабиноидов при хранении. Под действием света, кислорода воздуха, при нагревании ТГК и ТГК-кислота разлагаются. При разложении ТГК и ряда других каннабиноидов образуется КБ, в стандартных препаратах ТГК также присутствует примесь КБ в количестве до 0,3%.

В крови при хранении в течение 6 месяцев при комнатной температуре количество ТГК уменьшается на 90%, 11-ОН- Δ^9 -ТГК – на 44%. В моче содержание ТГК-кислоты при хранении в аналогичных условиях уменьшается на 45%.

Хранение стандартных растворов и образцов биологических жидкостей обеспечивается при температуре -20°C , концентрация ТГК в 48 пробах мочи не изменилась за 12 месяцев хранения.

7. Производные 1,4-бензодиазепина. Токсикокинетика, метаболизм.

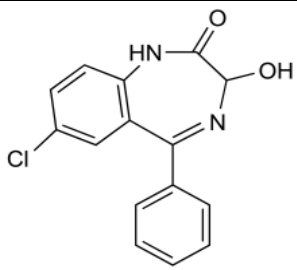
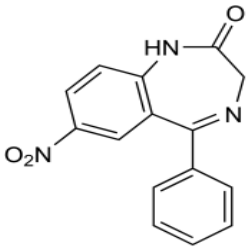
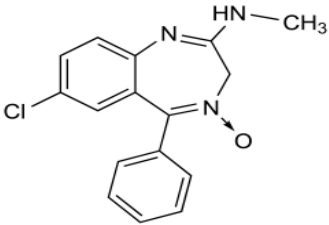
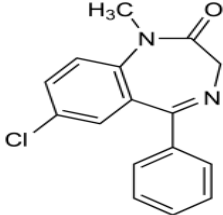
Методы анализа

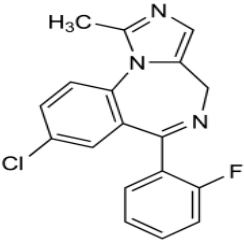
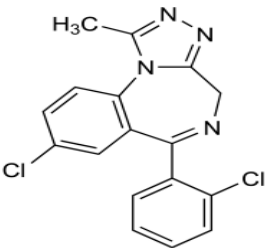
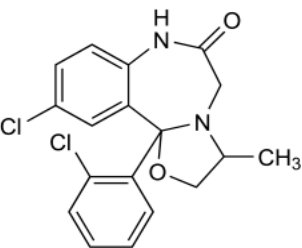
Производные бензодиазепина относятся к психотропным веществам, в медицине широко используются в качестве транквилизаторов и снотворных средств. Из числа транквилизаторов бензодиазепины остаются непревзойденными по активности и спектру терапевтического действия. С 1984 г. Комиссия ООН по наркотикам отнесла эту группу к соединениям, находящимся под международным контролем в связи с увеличением числа злоупотреблений ими.

Среди бензодиазепинов выделяют производные 1,5-, 2,3-, 1,4-бензодиазепина. Наибольшее химико-токсикологическое значение имеют производные 1,4-бензодиазепина.

Таблица 15

Химическая структура производных 1,4-бензодиазепина

	Оксазепам 7-хлор-1,3-дигидро-3-гидрокси-5-фенил-2H-1,4-бензодиазепин-2-он $C_{15}H_{11}ClN_2O_2$ Mr = 286,7
	Нитразепам 1,3-дигидро-7-нитро-5-фенил-3H-1,4-бензодиазепин-2-он $C_{15}H_{11}N_3O_3$ Mr = 281,3
	Хлордiazепоксид 7-хлор-N-метил-5-фенил-3H-1,4-бензодиазепин-2-амин-4-оксид $C_{16}H_{14}ClN_3O$ Mr = 299,8
	Диазепам 7-хлор-1,3-дигидро-1-метил-5-фенил-2H-1,4-бензодиазепин-2-он $C_{16}H_{13}ClN_2O$ Mr = 284,7

	Мидазолам 8-хлор-6-(2-фторфенил)-1-метил-4Н-имидазо[1,5-а]-[1,4]бензодиазепин $C_{18}H_{13}ClFN_3$ Mr = 325,8
	Триазолам 8-хлор-6-(2-фторфенил)-1-метил-4Н-[1,2,4]-триазоло[4,3-а][1,4]бензодиазепин $C_{17}H_{12}Cl_2N_4$ Mr = 343,2
	Мексазолам 10-хлор-11b-(2-хлорфенил)-2,3,7,11b-тетрагидро-3-метилоксазоло-[3,2-d][1,4]-бензодиазепин-6(5Н)-он $C_{18}H_{16}Cl_2N_2O_2$ Mr = 363,2

Классификация производных 1,4-бензодиазепина по химическому строению:

- 1) 5-арил-1,4-производные – оксазепам, нитразепам, феназепам, хлордiazепоксид (хлосепид), мезапам, лоразепам, флуразепам, diaзепам, гидазепам;
- 2) 1,4-производные, содержащие имидазоловое кольцо – мидазолам;
- 3) 1,4-производные, содержащие триазоловое кольцо – альпразолам, триазолам, эстазолам;
- 4) 1,4-производные, содержащие оксазоловое кольцо – оксазолам, клоксазолам, мексазолам.

Физико-химические свойства. Производные 1,4-бензодиазепина являются основаниями или амфотерными соединениями. Введение карбонильных, гидроксидных и карбоксильных групп в молекулу снижает основной характер соединений (значения pK_a хлордiazепоксида – 4,6;

дiazепама – 3,4; мезапама – 6,3; феназепам – 2,3 и 12,5; нитразепам – 3,2 и 10,5; лоразепам – 1,3 и 11,5).

Основания производных 1,4 бензодиазепина плохо растворяются в воде (оксазепам – 0,03, diaзепам – 0,05, хлордiazепоксид – 2,0, лоразепам – 0,08 мг/мл). Однако они достаточно хорошо растворяются в органических растворителях: этаноле (оксазепам – 4,3, diaзепам – 41,0, хлордiazепоксид – 23,0, лоразепам – 14,0 мг/мл), хлороформе (оксазепам – 3,0, diaзепам – 500,0, хлордiazепоксид – 17,0, лоразепам – 3,0 мг/мл), несколько хуже в диэтиловом эфире.

Растворы 1,4-бензодиазепинов более стабильны в спирте, чем в воде. В кислых водных растворах, особенно при нагревании, 1,4-бензодиазепины гидролизуются с образованием производных аминокбензофенона, имеющих желтую окраску (табл. 16).

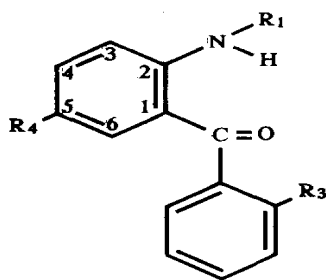


Рис. 18. Химическая структура аминокбензофенонов

Особенно быстро гидролизуются оксазепам и diaзепам; напротив, феназепам с трудом поддается гидролизу. В присутствии очень малого количества воды в качестве продукта разложения может получаться хинолон.

Таблица 16.

Химическая структура некоторых аминокбензофенонов

Бензодиазепины	Аминокбензофеноны (продукты гидролиза)	
	Название	Сокращение
Оксазепам	2-амино-5-хлорбензофенон	АХБ
Хлордiazепоксид	2-амино-5-хлорбензофенон	АХБ
Diazепам	2-метиламино-5-хлорбензофенон	МБХ
Нитразепам	2-амино-5-нитробензофенон	АНБ
Феназепам	(2-амино, 5-бром)-2'-хлорбензофенон	АБХБ

Токсикокинетика и метаболизм. Все 1,4-бензодиазепины хорошо всасываются из пищеварительного тракта, достигая максимального уровня в крови через 1-3 часа, однако наблюдаются и некоторые различия в их поведении в организме. Бензодиазепины активно связываются с белками крови, проявляют большое сродство к жировым тканям, в которых накапливаются и из них выделяются в кровь. Этим явлением в значительной степени обеспечивается достаточно длительный период их полувыведения (табл. 17).

Таблица 17.

Токсикокинетические параметры некоторых 1,4-бензодиазепинов

<i>Вещество</i>	<i>pK_a</i>	<i>Период полувыведения, ч</i>	<i>Связывание с белками плазмы, %</i>
Хлордiazепоксид	4,6	8-28	94-97
Диазепам	3,3	20-96	98
Оксазепам	1,7 11,6	7-14	90
Нитразепам	3,2	21-28	85
Лоразепам	1,3 11,5	10-16	94

Выделяются 1,4-бензодиазепины в основном с мочой (свыше 60% от введенной дозы), остальная часть удаляется через пищеварительный тракт.

Производные 1,4-бензодиазепинов подвергаются метаболизму в печени, превращаясь в метаболиты, проявляющие высокую фармакологическую активность. Основные процессы метаболизма – окисление, N-деметилирование, дезаминирование, гидроксилирование, ацетилирование, восстановление и конъюгация с глюкуроновой кислотой (рис. 19).

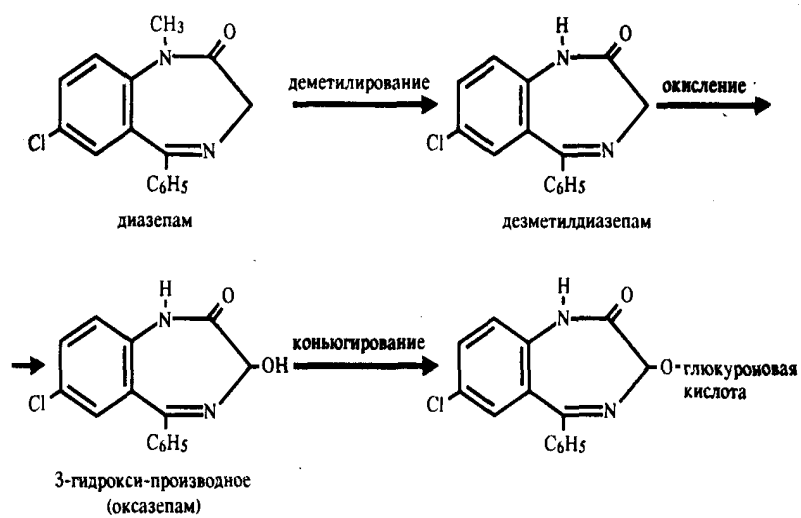
Диазепам подвергается метаболизму по следующим направлениям: N-деметилирование, 3-гидроксилирование и конъюгация с глюкуроновой кислотой. Основным активным метаболитом является дезметилдiazепам (нордiazепам), другие метаболиты – оксазепам и 3-гидроксиdiazепам (темазепам) менее активны, чем исходное соединение. Около 70% от введенной дозы выделяется с мочой, доминирующие метаболиты – глюкурониды

оксазепам и дезметилдиазепам. Необходимо отметить, что сам диазепам обнаруживается в биологических жидкостях как метаболит медазепама.

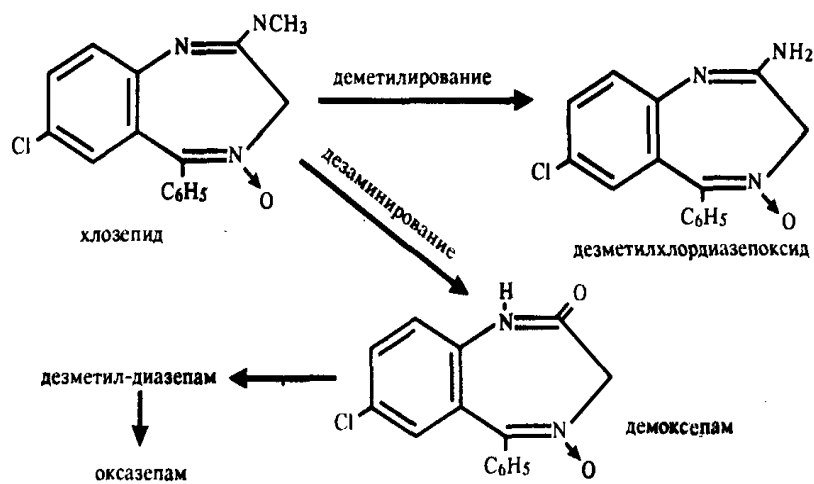
Хлордиазепоксид метаболизируется путем N-деметиляции и деаминации до активных метаболитов – дезметилхлордиазепоксида и демоксепама соответственно. Демоксепам может подвергаться гидролизу с раскрытием лактамного цикла и восстановлению до дезметилдиазепама, который гидроксилируется, превращаясь в оксазепам. Около 60% от введенной дозы выделяется с мочой, только 1% метаболитов выделяется в свободном виде. Основную массу метаболитов составляют глюкурониды демоксепама, продуктов его гидролиза и оксазепама.

При однократном приеме оксазепама 70-80% введенной дозы выделяется с мочой в течение 72 часов в виде глюкуронида. Оксазепам является метаболитом многих производных 1,4-бензодиазепина: хлордиазепоксида, демоксепама, диазепама, медазепама и др.

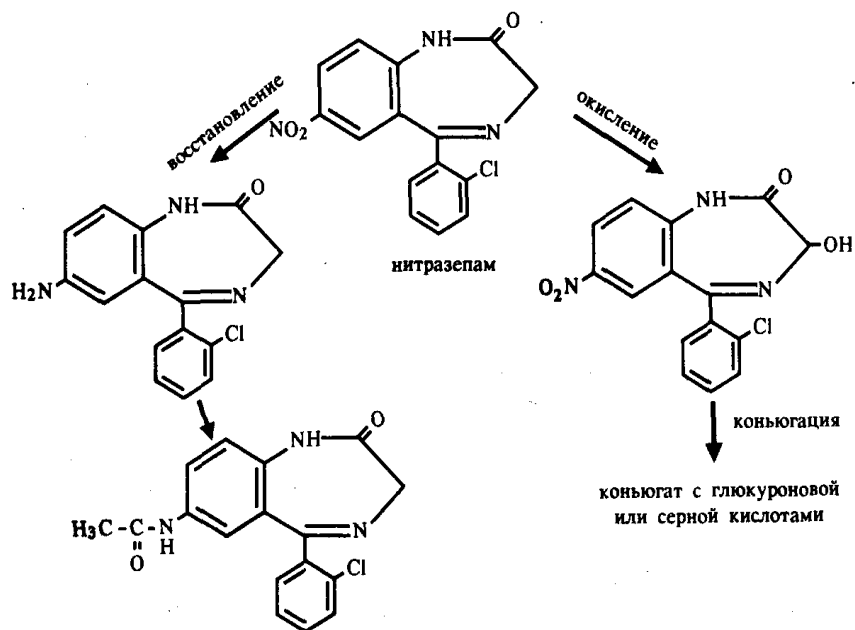
Основными метаболитами нитразепама, которые накапливаются в крови являются 7-амино- и 7-ацетамидопроизводные нитразепама, другие метаболиты – 2-амино-5-нитробензофенон и 2-амино-3-гидрокси-5-нитробензофенон; все перечисленные метаболиты неактивны. После приема внутрь от 50 до 70% от введенной дозы нитразепама в течение 120 часов выделяется с мочой. В первые 24 часа экскретируется 37% дозы: 7-10% составляет свободный 7-ацетамидонитразепам, 5% – 7-аминонитразепам, 5% – конъюгаты 2-амино-3-гидрокси-5-нитробензофенона и 20% – неидентифицированные кислые метаболиты. При внутривенном и пероральном применении менее 4% от введенной дозы нитразепама выделяется в неизменном состоянии.



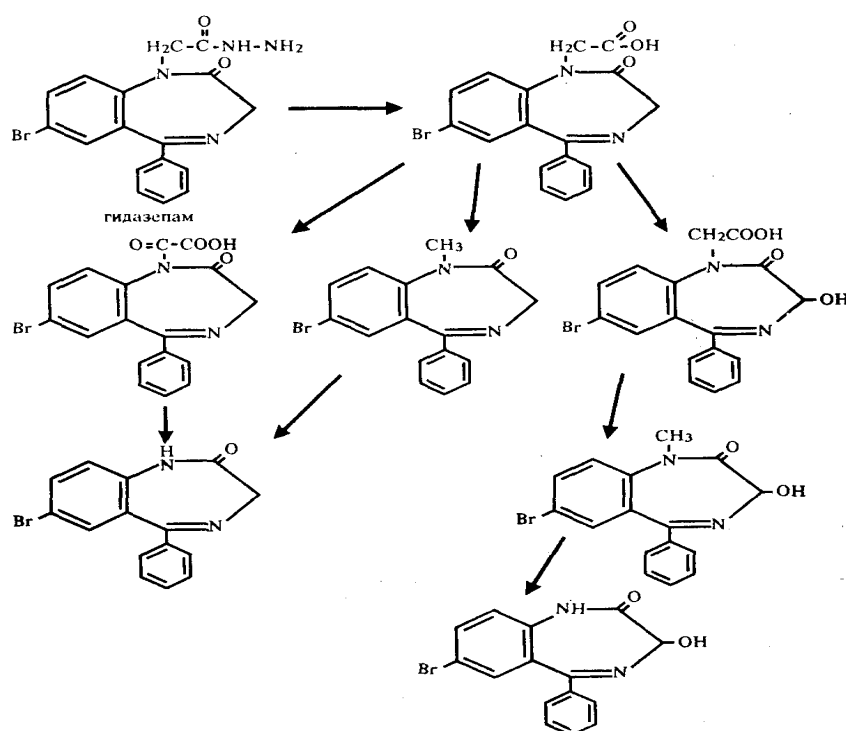
А



Б



В



Д

Анализируемые вещества и объекты при судебно-химическом и химико-токсикологическом исследованиях на производные 1,4-бензодиазепина.

В практике судебно-химического анализа при исследовании на 1,4-бензодиазепины объектами являются желудок и тонкий кишечник, печень, почки, трупная кровь; в химико-токсикологическом анализе – кровь (плазма, сыворотка) и моча живых лиц.

Выделяют два основных направления в анализе биологических объектов на производные 1,4-бензодиазеина: 1) по продуктам гидролиза – аминобензофенонам; 2) по нативным соединениям и метаболитам.

Первое направление предусматривает кислотный гидролиз 1,4-бензодиазепинов и их метаболитов после предварительной экстракции методами ЖЖЭ или ТФЭ, а также в процессе деструкции ткани до соответствующих аминобензофенонов с последующим использованием для идентификации и количественного определения хроматографических методов.

Второе направление включает изолирование нативных соединений и ряда гидрофобных метаболитов экстракцией подкисленной водой с последующим концентрированием с помощью ЖЖЭ или ТФЭ. Для биологических жидкостей используется экстракция органическими растворителями при значении рН 6-8, в данном диапазоне рН находятся изоэлектрические точки всех амфотерных метаболитов 1,4-бензодиазепинов, например для оксазема значение рН в изоэлектрической точке равно 6,7.

Основное преимущество исследования 1,4-бензодиазепинов по аминобензофенонам состоит в том, что данный способ позволяет суммарно определять нативное соединение и ряд его метаболитов. Отрицательному результату анализа гидролизованных бензодиазепинов придается отрицательное судебно-химическое значение. При положительном результате необходимо продолжать исследование по нативным соединениям.

Химические экспресс-тесты на производные 1,4-бензодиазеина. Для обнаружения производных 1,4-бензодиазеина используются следующие реакции:

Реакции образования окрашенных производных с использованием окрашенных и неокрашенных реагентов:

1. Реакция с м-динитробензолом в щелочной среде (реактивом Циммермана) образуется красновато-пурпурный комплекс. Данную реакцию дают диазепам, мезепам, а также все производные содержащие триазоловое кольцо.

2. Реакция Витали-Морена. Нагревание с концентрированной азотной кислотой и последующая обработка раствором щелочи в ацетоне после высушивания приводит к образованию продуктов, окрашенных в желто-

оранжевый цвет. Появление окраски обусловлено образованием нитропроизводных аминокбензофенона.

3. Реакция с трихлоруксусной кислотой и п-диметиламинохинолинальдегидом приводит к образованию окрашенного в красный цвет продукта. Механизм реакции неизвестен.

4. Реакция с концентрированной соляной кислотой. Большинство производных 1,4-бензодиазепина образуют окрашенные продукты, преимущественно в желтый цвет.

5. Реакция Браттона-Маршала. На первоначальном этапе проводится гидролиз до аминокбензофенонов и их диазотирование – для этого применяются растворы натрия нитрита и соляной кислоты. Затем образуется азокраситель с N- α -нафтилэтилендиамином или β -нафтолом.

Исследование на производные 1,4-бензодиазепина методом ТСХ.
Метод ТСХ используется в качестве предварительного при исследовании внутренних органов трупа, мочи и лекарственных форм.

Предложена частная система для исследования на производные 1,4-бензодиазепина (по продуктам гидролиза) состава: хлороформ - ацетон (9:1).

В практике рутинного анализа нашли применение системы состава (Клиническая наркологическая больница №17 г. Москвы):

- 1) бензол - этанол - диэтиламин (95:5:2);
- 2) бензол - этанол (95:1);
- 3) бензол.

Проявление осуществляют по следующей схеме:

- 1) Желтое окрашивание (за счет аминокбензофенонов);
- 2) Флюоресценция в УФ-свете;
- 3) Проведение реакции Браттона-Маршала – фиолетовые пятна.

При исследовании на производные 1,4-производные бензодиазепина вещественных доказательств, например лекарственных форм, методом ТСХ используются общие и частные системы, приведенные в таблице 18.

Таблица 18.

Значения R_f некоторых производных 1,4-бензодиазепина в общих и частных системах

<i>Вещество</i>	<i>Общие системы</i>		<i>Частные системы</i>		
	<i>хлорофор м - ацетон (8:2)</i>	<i>этилацета т</i>	<i>хлорофор м - метанол (9:1)</i>	<i>этилацета т -метанол - аммиак (85:10:5)</i>	<i>метано л</i>
Хлордiazепосид	0,62	0,00	0,50	0,10	0,51
Диазепам	0,75	0,23	0,73	0,58	0,77
Нитразепам	0,72	0,00	0,53	0,35	0,60
Оксазепам	0,56	0,00	0,40	0,22	-

Проявление осуществляют следующими реактивами:

- 1) обработка реактивом Драгендорфа – оранжевые или желто-оранжевые пятна;
- 2) обработка реактивом FPN (железа хлорид (III) в смеси с хлорной и азотной кислотами) – происходит окисление 1,4-бензодиазепинов с образованием желтых пятен;
- 3) обработка реактивом Марки – пятна желтого цвета;
- 4) обработка подкисленным раствором иодплатината – темнокрашенные пятна.

Изолирование производных 1,4-бензодиазепина из биологического материала. При исследовании на производные 1,4-бензодиазепина по продуктам гидролиза пробоподготовка включает стадии гидролиза и последующей ЖЖЭ.

Гидролиз объектов (мочи, крови, гомогенаты внутренних органов и экстракты из них) осуществляют 6 М раствором соляной кислоты при температуре 140-145° С. Время гидролиза определяется характером объекта: кровь – 20 мин, печень и почки – 60 мин, желудок и кишечник – 80-90 мин.

Аминобензофеноны из гидролизатов экстрагируют органическими растворителями после подщелачивания до значений pH 6,0-9,5. В случае

исследования внутренних органов экстракцию проводят после отделения гидролизата путем центрифугирования при 9000 об/мин. В качестве экстрагентов используют: для гидролизатов крови и мочи – н-гептан, дихлорметан, хлороформ, смеси: диэтилового эфира - дихлорметаном (1:1), н-гексан - дихлорметан - изопропанол (40:60:2); для гидролизатов внутренних органов – хлороформ - изоамиловый спирт (100:1).

Таким образом, методика изолирования производных 1,4-бензодиазепина при исследовании по продуктам гидролиза включает следующие стадии:

- 1) Кислотный гидролиз;
- 2) Центрифугирование для отделения гидролизата (при необходимости);
- 3) Подщелачивание до pH 6,0-9,5;
- 4) Экстракция анализируемого вещества методами ЖЖЭ или ТФЭ;
- 5) Упаривание.

При необходимости для некоторых производных 1,4-бензодиазепина проводят дериватизацию.

При проведении анализа на производные 1,4-бензодиазепина по нативным соединениям и их метаболитам объекты по возможности быстро должны быть направлены на исследование в замороженном состоянии. Консервирование этанолом не рекомендуется, анализ желательно проводить незамедлительно.

Методика изолирования из крови нативных соединений – 1,4-бензодиазепинов включает следующие стадии: 1) Подщелачивание крови 1 М раствором трис-буфера до значения pH 11,0; 2) Экстракция бутилацетатом; 3) Концентрирование проводится по необходимости, часто эту операцию не проводят.

Исследование на производные 1,4-бензодиазепина методом газовой хроматографии. Хроматографическое разделение производных 1,4-бензодиазепина, в том числе их продуктов гидролиза, осуществляют обычно с применением ТИД и ЭЗД на кварцевых капиллярных колонках с полярными или слабополярными неподвижными фазами: 5% фенил-диметилсиликон (фаза HP-5 или HP-5MS). Исследования показали, что наиболее чувствительным к бензодиазепинам является ЭЗД.

Температурные режимы термостата колонок программируются с начальной температурой 150⁰ С (1 мин) до конечной 250⁰ С (5 мин) со скоростью 20⁰ С/мин. Температура инжектора соответственно поддерживается на уровне 250⁰ С. В качестве газа носителя используют гелий. Используются также температурные программы, в которых начальная температура составляет 70⁰ С. При проведении ГЖХ-анализа с ЭЗД в качестве внутреннего стандарта используется диметилброманилин, с ПИД – дифениламин.

Доступность стандартных образцов 1,4-бензодиазепинов позволяет проводить количественное определение.

Широко применяется метод ГХ/МС при исследовании на производные 1,4-бензодиазепина, неподвижные фазы и температурные программы аналогичны вышеуказанным. Масс-спектры некоторых производных 1,4-бензодиазепина представлены на рисунке 20.

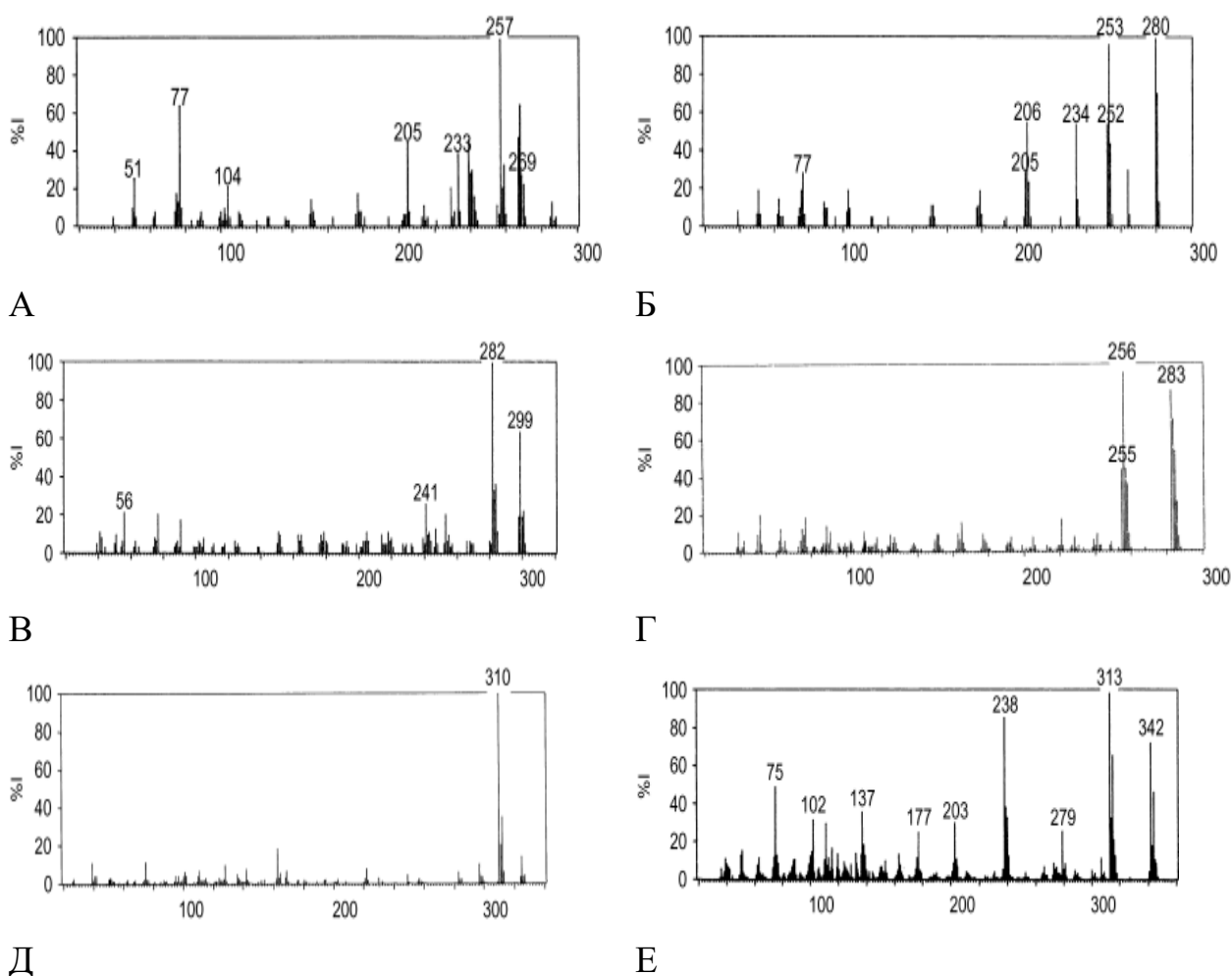


Рис. 20. Масс-спектры производных 1,4-бензодиазепина: оксазема (А), нитразема (Б), клордiazепоксид (В), diaзема (Г), мидазола (Д), триазола (Е)

При проведении количественного определения регистрацию масс-спектра осуществляют в режиме селективного ионного мониторинга (SIM).

Например, при количественном определении диазепама в моче регистрируют две группы ионов: 1 группа – 242, 207, 270 m/z – для внутреннего стандарта; 2 группа – 256, 221, 284 m/z – для анализируемого вещества. В качестве внутреннего стандарта используют мезапам, калибровочный график строят в диапазоне концентраций от 10 нг/мл до 2 мкг/мл. Предел обнаружения диазепама составляет 0,5 нг/мкл.

Исследование на производные 1,4-бензодиазепаина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Для разделения производных 1,4-бензодиазепаина методом ВЭЖХ рекомендуются следующие условия: обращено-фазные сорбенты C_{18} («Сепарон», «Zorbax»), C_8 ; подвижная фаза – смесь 0,05 М раствора аммония гидрофосфата и ацетонитрила (65:35) (для разделения нативных 1,4-бензодиазепинов) и система тех же растворителей в соотношении 45:55 (для разделения аминобензофенонов); режим элюирования – градиентный. Детектирование нативных 1,4-бензодиазепинов проводится при длине волны 230 нм, аминобензофенонов и мезапама – при 220 нм. Данные по чувствительности метода ВЭЖХ к производным 1,4-бензодиазепаина представлены в таблице 19.

Таблица 19.

Пределы обнаружения некоторых производных 1,4-бензодиазепаина методом ВЭЖХ

<i>Вещество</i>	<i>Предел обнаружения, нг/мл</i>
Оксазепам	3,4
Нитразепам	11,1
Хлордiazепоксид	17,8
Феназепам	13,3
Диазепам	15,0
Медазепам	12,5

Для количественного определения 1,4-бензодиазепинов и аминобензофенонов в биологических объектах можно использовать различные методы, в том числе метод добавки, метод внешнего стандарта и метод внутреннего стандарта. В качестве внутренних стандартов используются как

сами производные 1,4-бензодиазепина, заведомо не содержащиеся в анализируемом объекте, так и другие органические соединения, например, 6-нитрохинолин.

8. Производные тропана. Токсикокинетика, метаболизм. Методы анализа

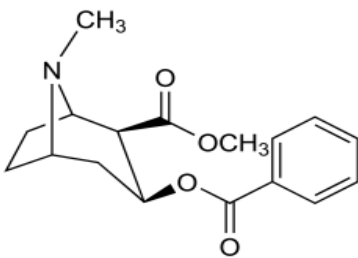
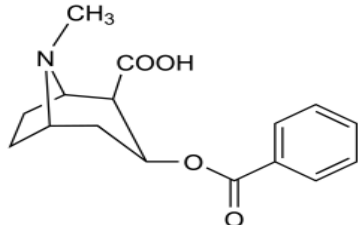
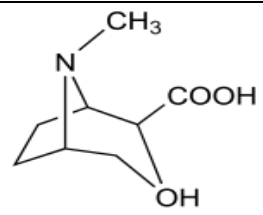
Кокаин является основным алкалоидом кокаинового куста (*Erythroxylum coca*), его количество составляет 30% от суммы алкалоидов. Впервые кокаин был выделен из листьев кокаинового куста в 1855 г. Альбертом Ниеманом в Готтингемском университете, его структура была установлена в 1898 г., а синтез осуществлен в 1902 г. В 18-19 вв. кокаин был широко распространен как доступный и «безвредный» стимулятор.

Также кокаин использовался как лекарственное вещество – местный анестетик в виде 1-4% раствора в офтальмологии и 10-20% раствора для лечения гайморитов и ларингитов. В 1961 г. Международная конвенция ООН установила нынешний статус всех наркотических средств, получаемых из кокаинового куста. В настоящее время в незаконном обороте он встречается в виде кокаиновой пасты, крэка и прочих разновидностей.

Кокаин и его стереоизомеры, как и другие алкалоиды кокаинового куста – производные экгонины принадлежат к группе тропановых алкалоидов (табл. 20).

Таблица 20.

Химическая структура кокаина, бензоилэкгонины и экгонины

	Кокаин Метил-[1R-(экзо, экзо)]-3-(бензоилокси)-8-метил-8-азабицикло[3, 2, 1]-октан-2-карбоксилат (бензоилэкгонины метиловый эфир) $C_{17}H_{21}NO_4$ Mr = 303,4
	Бензоилэкгонин 3-(Бензоилокси)-8-метил-8-азабицикло[3, 2, 1]-октан-2-карбоксиловая кислота $C_{16}H_{19}NO_4$ Mr = 289,3
	Экгонин [1R-(экзо, экзо)]-3-гидрокси-8-метил-8-азабицикло[3, 2, 1]-октан-2-карбоксиловая кислота $C_9H_{15}NO_3$ Mr = 185,2

Температура плавления основания кокаина составляет 98⁰ С, гидрохлорда – 157⁰ С. Гидрохлориды бензоилэкгонина и экгонина плавятся соответственно при температурах 200 и 215⁰ С. Растворимость кокаина и его метаболитов приведена в таблице 21.

Таблица 21.

Растворимость кокаина, бензоилэкгонина и экгонина

<i>Р-ритель</i>	<i>Кокаин</i>		<i>Бензоилэкгонин</i>		<i>Экгонин</i>	
	<i>основание</i>	<i>гидрохлорид</i>	<i>основание</i>	<i>гидрохлорид</i>	<i>основание</i>	<i>гидрохлорид</i>
Вода	1:600	1:0,4	растворим	растворим	1:5	растворим
Этанол	1:6,5	1:3,2	растворим	растворим	1:67	малорастворим
Диэтиловый эфир	1:3,5	нерастворим	-	-	-	-
Хлороформ	1:0,7	12,5	-	-	-	-
Этилацетат	-	-	-	-	1:75	-

Кокаин обладает слабыми основными свойствами ($pK_a = 8,6$); коэффициент распределения октанол-вода составляет 3,01.

Токсикокинетика и метаболизм. Кокаин употребляют, как правило, вдыханием через нос, курением с табаком или марихуаной, а также вводят внутривенно. Этот алкалоид всасывается очень быстро при любом пути введения. Биодоступность при различных способах введения составляет соответственно: при пероральном введении – 20-40%, при интраназальном – 20-40%, при курении – 6-32%, при внутривенном – 100%.

При этом такие токсикокинетические параметры, как время достижения максимума концентрации в плазме крови, максимальная концентрация и время полувыведения могут изменяться в широких пределах, в зависимости от индивидуальных особенностей организма человека. Время полувыведения неизмененного кокаина в среднем составляет от 16 до 90 мин. Выведение

кокаина с мочой в значительной степени зависит от уровня ее рН: выведение кокаина увеличивается с уменьшением значения рН мочи.

Основными метаболитами являются бензоилэкгонин, метиловый эфир экгонины (метилэкгонин), экгонин, перечисленные метаболиты фармакологически неактивны. Кроме перечисленных веществ, в настоящее время идентифицировано еще 12 метаболитов кокаина. В небольших количествах образуется активный метаболит – норкокаин; концентрация последнего в моче через 4 часа после внутривенного приема 100 мг кокаина составляет 3-87 нг/мл. Из других метаболитов отмечены этилэкгонин, гидроксикокаин, экгонидин (рис. 21).

Около 1-9% разовой дозы кокаина выводится с мочой в неизменном виде; остальное количество в течение 2-3 суток в основном в виде метаболитов: 35-60% – бензоилэкгонина, 32-49% – метилэкгонина, до 10% – норкокаина и гидроксированных метаболитов.

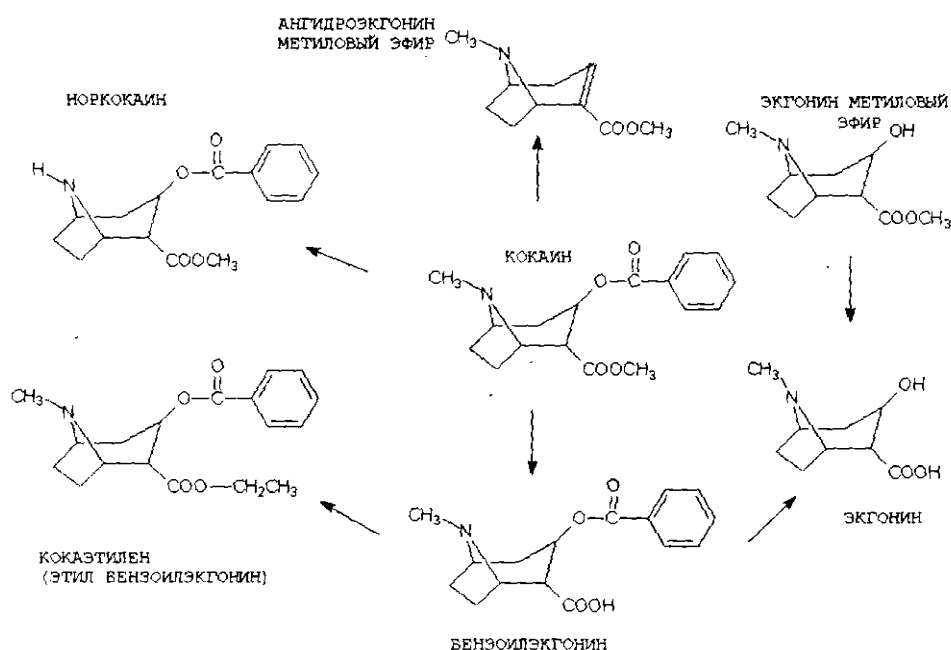


Рис. 21. Основные пути метаболизма кокаина

Кокаин продолжает активно метаболизировать даже в отобранных пробах, поэтому их целесообразно консервировать натрия фторидом.

Анализируемые вещества и объекты при судебно-химическом и химико-токсикологическом исследованиях на кокаин. Уровни бензоилэкгонины в моче после принятия внутривенно дозы кокаина гидрохлорида 1,5 мг/кг в первые сутки превышает 10 мкг/мл. Внутривенная

доза в 20 мг этого наркотического средства может быть обнаружена в моче в течение 40 часов при пределе обнаружения 300 нг/мл. При интраназальной дозе кокаина гидрохлорида 1,5 мг/кг бензоилэкгонин обнаруживается в моче в течение 72-144 часов. Более высокие дозы или длительное употребление позволяют обнаруживать метаболиты кокаина в сроки более 10 дней.

При проведении экспериментов в контролируемых условиях было установлено, что большая часть дозы кокаина выделяется в пот в неизменном виде и только небольшое количество – в виде его метаболитов. Кокаин появляется в поте спустя 1-2 часа после приема и достигает максимальной концентрации через 24 часа; последняя тем выше, чем выше доза. Однако существующие сложности при сборе пота, затрудняют его широкое использование в качестве объекта исследования для выявления лиц, употреблявших кокаин.

Исследование волос позволяет более продолжительное время обнаруживать факт употребления кокаина. Отличительной особенностью накопления кокаина в волосах и ногтях человека является тот факт, что его концентрация значительно превосходит концентрацию метаболитов. В волосах наркоманов типичное отношение концентрации бензоилэкгонина к суммарной концентрации кокаина и бензоилэкгонина составляет 1:16,5.

Е.А. Симоновым с соавторами использовался метод ГХ/МС при исследовании волос для установления потребителей кокаина. Доля извлеченного из волос кокаина составляла 90% с пределом обнаружения 0,1 нг/мг. Концентрация кокаина в волосах обследованных лиц колебалась от 0,87 до 2,44 нг/мг. Исследование различных участков волос лиц, употреблявших кокаин, контрольных волос (лица не употреблявшего наркотик) и волос, к которым был добавлен кокаин, показало, что в периферическом участке содержание кокаина составляет $0,77 \pm 0,03$ нг/мг, в прикорневом – $1,07 \pm 0,04$ нг/мг. Увеличение количества кокаина в прикорневых волосах может быть объяснено увеличением потребления данного наркотического средства в период, непосредственно предшествующий проведению исследований.

Martz R. с соавторами с помощью сегментного анализа волос женщины, умершей от передозировки кокаина через 24 дня после поступления с стационара, показали, что она употребляла наркотические средства и до приема

летальной дозы. Сегмент волос, соответствующий фатальному употреблению кокаина, содержал повышенное его количество, далее это количество резко уменьшалось, так как соответствовало периоду нахождения больной на лечении. Концентрация кокаина в период, предшествующий отравлению, составила 53,7-60,2 нг/мг, в соответствующий отравлению, – 98,0 нг/мг, при лечении в стационаре – 6,3 нг/мг.

Обращает внимание, тот факт, что в различных объектах преобладают различные метаболиты кокаина. Так, например, в моче основными компонентами выводимой из организма дозы кокаина являются бензоилэкгонин и метилэкгонин, а сам кокаин и большая часть других его метаболитов присутствуют в незначительных количествах. В поте и волосах наблюдается другая ситуация: в этих объектах концентрация кокаина намного превышает концентрацию его основных метаболитов.

Другим объектом, в котором специфические процессы накопления и выведения принятой дозы наркотического средства приводят к противоположным результатам, является стекловидное тело (меконий) глаза. Указанные процессы приводят к тому, что в данном объекте кокаин присутствует исключительно в виде м-гидроксibenзоилэкгонина. Меконий представляет собой достаточно интересный объект для обнаружения не только кокаина и его метаболитов, но и других наркотических средств.

Таким образом, при разработке методов обнаружения следует учитывать особенности метаболизма и накопления кокаина в конкретных биологических объектах.

В последние годы распространилось увлечение курением табака, марихуаны или других растений, пропитанных основанием кокаина. Кроме того, наркоманы часто употребляют кокаин путем вдыхания его паров, образующихся при возгонке «крэка» – смеси кокаина-основания с щелочным реагентом, например гидрокарбонатом натрия или калия. Как показано в работах многих авторов, основными продуктами пиролиза основания кокаина являются бензойная кислота и метиловый эфир экгонидина (метиловый эфир ангидроэкгонины, метил-4-(3-пиридил)-бутират). При этом обнаружение в моче или другом биологическом объекте вышеуказанного вещества может служить указанием на способ употребления кокаина данным субъектом. Установлено,

что при пиролизе кокаина гидрохлорида образуется смесь фармакологически неактивных α -, β -, γ -, δ -карбометоксициклогептатриенов.

Большой интерес исследователей вызывает процесс образования уникального высокоактивного метаболита кокаина, который обнаруживается в организме человека только при совместном употреблении этого наркотического средства с алкоголем. Это соединение получило название кокаинэтилен (этил бензоилэгонин). Фармакологическая активность и токсические свойства его превышают аналогичные показатели кокаина. Показано, что кокаинэтилен присутствует в образцах мочи тех лиц, в крови которых содержание этанола превышает 15 мг/100 мл, а в моче в высокой концентрации присутствует бензоилэгонин. Средняя концентрация кокаинэтилена в моче таких пациентов обычно находится на уровне 1300 нг/мл, что составляет примерно 60% от концентрации бензоилэгонина.

В плазме и моче лиц, злоупотреблявших одновременно изопропиловым спиртом и кокаином, обнаруживаются вещества, аналогичные кокаинэтилену, а также его метаболитам: этиловому эфиру эгонина и норкокаинэтилену. Эти вещества получили названия соответственно: изопропиловый эфир бензоилэгонина, изопропиловый эфир эгонина и изопропиловый эфир норбензоилэгонина.

Kintz P. с соавторами описали способ одновременного количественного определения в образцах волос и мочи человека кокаина и его метаболитов – бензоилэгонина, метилэгонина, кокаинэтилена и продукта пиролиза кокаина – метилового эфира ангидроэгонина. С помощью данного метода исследовано 600 образцов волос и мочи лиц, умерших от передозировки кокаина лиц, направленных на лечение от злоупотребления кокаином, а также лиц, проходивших проверку на пристрастие к этому наркотическому средству по постановлениям судебных органов. Авторами установлено, что 65 образцов волос и 81 образец мочи, содержавших одновременно кокаин и бензоилэгонин, содержат также метиловый эфир ангидроэгонина в количестве 0,2-2,4 нг/мг и 4-225 нг/мл соответственно. Полученные результаты представлены в таблице 22.

Таблица 22.

Содержание кокаина и его основных метаболитов в волосах наркоманов

<i>Вещество</i>	<i>Количество положительных результатов</i>	<i>Диапазон концентраций, нг/мг</i>	<i>Средняя концентрация, нг/мг</i>
Кокаин	67	0,5-216,5	12,9
Бензоилэкгонин	48	0,1-33,7	3,7
Метилэкгонин	33	0,1-12,8	1,8
Кокаинэтилен	26	0,1-10,3	1,6
Метилловый эфир ангидроэкгонины	7	0,2-2,4	0,6

Engelhart D.A. с соавторами, исследовали 46 образцов ногтей ног зарегистрированных наркоманов, умерших от передозировки, на присутствие в них кокаина, бензоилэкгонины, норкокаина и кокаинэтилена. Полученные данные сравнивали с результатами анализа других органов этих трупов. Содержание кокаина в ногтях ног составляло от 0,20 до 140,17 нг/мг, а бензоилэкгонины – от 0,30 до 315,44 нг/мг. Только в одном образце был обнаружен кокаин без своих метаболитов. Норкокаин и кокаинэтилен были обнаружены в двух случаях. Авторы делают вывод о пригодности ногтей ног для обнаружения в организме наркотических средств.

Таким образом, употребление кокаина может быть выявлено спустя продолжительные сроки после его приема при помощи исследования волос, ногтей и пота. Концентрация кокаина или его метаболитов в указанных объектах зависит от принятой дозы, но при этом могут наблюдаться значительные индивидуальные отклонения. Существуют специфические продукты разложения кокаина, позволяющие сделать выводы об особенностях злоупотребления конкретным лицом. Особенности накопления кокаина и его метаболитов в волосах и моче состоят в том, что соотношение концентрации неизмененного вещества и его метаболитов в этих объектах прямо противоположны.

Химические экспресс-тесты на кокаин. Химические тесты на кокаин используются в рамках криминалистического анализа при исследовании на кокаинсодержащие наркотические средства.

В соответствие с химическим строением кокаин осаждается всеми общеалкалоидными реактивами: реактивом Вагнера, реактивом Драгендорфа, реактивом Зонненштейна (фосфорномолибденовая кислота), реактивом Майера, реактивом Шайблера (фосфорновольфрамовая кислота), пикриновой кислотой и солью Рейнеке.

В то же время кокаин не взаимодействует с концентрированными серной и азотной кислотами, реактивом Марки, реактивом Фреде, реактивом Эрдмана, реактивом Манделина.

На присутствие кокаина в образце могут указывать следующие признаки:

1) Характерный запах метилбензоата, образующегося при нагревании образца с концентрированной серной кислотой или при контакте порошка кокаина с метанольным раствором натрия гидроксида (рис. 22).

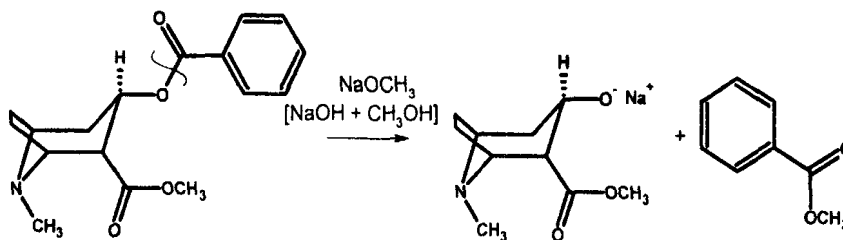


Рис. 22. Схема реакции образования метилбензоата

2) Специфическое пурпурное окрашивание, образующееся при нагревании кокаина с концентрированными серной и азотной кислотами и последующей экстракцией продуктов хлороформом из нейтральной среды. После выпаривания растворителя сухой остаток обрабатывают ацетоном в присутствии щелочи (реакция Ратенасин-кана).

3) Красное окрашивание, образующееся при нагревании образца с реактивом Эрлиха (0,5% раствор п-диметиламинобензальдегида в смеси этанол - серная кислота 3:2).

4) Характерное окрашивание диазосоединений, получаемых после нитрования кокаина смесью азотной и серной кислот с последующим

восстановлением его нитропроизводных до соответствующих аминов с помощью солей олова (II), диазотированием и азосочетанием с β -нафтолом.

Использование вышеприведенных реакций во внелабораторной практике ограничено по причине присутствия в них операций нагревания, упаривания, экстракции.

I. Цветные реакции, основанные на образовании аддуктов с катионами металлов.

Наиболее приемлемой и широко используемой в практике является реакция взаимодействия кокаина с кобальта роданидом в кислой или нейтральной среде с образованием синего осадка. Лежащий в основе данной реакции процесс комплексообразования зависит от природы исследуемого вещества, значения pH среды, количества комплексообразователя и его химического состава, а также от количественного соотношения объект-реагент. Существует несколько способов проведения данной реакции, которые можно разделить на две группы по признаку присутствия или отсутствия в них стадии экстракции образовавшихся комплексов в органический растворитель.

1. Реакция с реактивом Янга. Тест Янга описывает реакцию кокаина с кобальта роданидом в кислой среде. Точная структура окрашенного в синий цвет комплекса кокаин-кобальт-роданид не установлена. Голубые осадки или аналогичное окрашивание раствора в присутствии кобальта роданида, кроме кокаина, также образуют фенциклидин, бруцин, хинин, аконитин, антипирин, димедрол, апрофен, местные анестетики. Такие вещества, как диазепам, образуют окрашенные в другой цвет осадки, а некоторые опиаты – бесцветные. При этом следует учитывать, что растворимость в воде комплекса кокаина с кобальта роданидом значительно хуже, чем аналогичных комплексов с героином, папаверином, кодеином, эфедрином.

2. Реакция с реактивом Скотта. Введение в вышеописанную методику стадии экстракции получаемого комплекса в органический растворитель, чаще всего в хлороформ, позволяет увеличить ее специфичность. Например, в хлороформе могут растворяться комплексы фенциклидина, но в отличие от кокаина не образуется розового интермедиата при добавлении соляной кислоты. Реакция с модифицированным реактивом Скотта (кобальта роданид (II), уксусная кислота, глицерин, концентрированная соляная кислота,

хлороформ) позволяет идентифицировать кокаин в присутствии местных анестетиков. Извлечение продукта реакции сильно зависит от значения pH среды и может изменяться от 65% при pH 6,0 до полного извлечения при pH 1,0.

Аналогично значению pH среды, при котором проводится реакция, воздействует на процесс комплексообразования соотношение в реакционной смеси ионов кобальта и роданид-ионов. Выявленные особенности протекания реакции позволяют достаточно просто проводить дифференциацию между образцами кокаина гидрохлорида, основания кокаина и крэка. Например, при соотношении вышеуказанных ионов, равном 1:4, соответственно, и слабокислом значении pH среды в хлороформ экстрагируются комплексы всех перечисленных модификаций кокаина без каких-либо различий. Однако при изменении соотношения ионов кобальта и роданид-ионов до 1:0,3, и том же значении pH среды в хлороформ переходит комплекс, образующийся исключительно с образцами кокаина гидрохлорида. Указанная особенность позволяет не только просто дифференцировать основание от соли кокаина, а также во внелабораторных условиях оценивать их соотношение в каждом конкретном образце.

II. Цветные экстракционные реакции.

Кокаин со многими кислотными индикаторами образует соли, которые экстрагируются из водных растворов в хлороформ в широком интервале значений pH.

Однако устойчивость комплексов кокаина с кобальта роданидом выше, чем у его комплексов с метиловым оранжевым или тропеолином 00.

Важным с практической точки зрения является тот факт, что из растворов, содержащих одновременно кобальта роданид и кислотный краситель в зависимости от концентрации роданид-ионов, в хлороформ может переходить либо голубой комплекс кокаина с кобальта роданидом, либо зеленый комплекс кокаина с кислотным красителем.

Исследование на кокаин методом ТСХ. Метод ТСХ используется в качестве предварительного при исследовании внутренних органов трупа, мочи и различных кокаинсодержащих наркотических средств.

Для хроматографического исследования используют «рекомендованные системы» следующего состава (табл. 23):

- 1) хлороформ - диоксан - этилацетат - аммиак (25:60:10:5) (система 1);
- 2) метанол - аммиак (100:1,5) (система 2);
- 3) циклогексан - толуол - диэтиламин (75:15:10) (система 3).

Проявление пластин осуществляют путем опрыскивания реактивом Драгендорфа, альтернативным вариантом является – обработка подкисленным раствором иодплатината.

Таблица 23.

Значения R_f кокаина и его метаболитов в «рекомендованных системах»

<i>Вещество</i>	<i>Система 1</i>	<i>Система 2</i>	<i>Система 3</i>
Кокаин	0,81	0,65	0,45
Экгонин	0	0,17	0
Метилэкгонин	0,61	0,65	0,44
Бензоилэкгонин	0	0,21	0

L. Antonilli с соавторами предложена для ТСХ-исследования на кокаин с использованием пластинок «Silica 60 F₂₅₄» предложена система: н-гексан - толуол - диэтиламин (65:20:5); детектирование осуществляется в УФ-свете – кокаин фиксируется в виде пятна со значением R_f около 0,36.

В практике клинического химико-токсикологического анализа достаточно широко используются системы состава (НИИ скорой помощи им. Н.В. Склифосовского):

- 1) этанол - диоксан - бензол - аммиак (1:8:10:1) – значение R_f кокаина составляет 0,82;
- 2) ацетон - хлороформ - диоксан - аммиак (5:45:47,5:2,5) – значение R_f 0,96.

Изолирование кокаина и его метаболитов из биологического материала. При исследовании на кокаин наиболее часто используемыми объектами являются плазма крови, моча, внутренние органы трупов.

Пробоподготовка биологических жидкостей включает стадию ЖЖЭ в диапазоне значений pH 7,0-9,6; конкретное значение pH определяется кислотно-основными свойствами отдельных метаболитов, на который

направлен анализ (табл. 24). Перспективным является использование метода ТФЭ.

Таблица 24.

Пробоподготовка биологических жидкостей к ГХ- и ГХ/МС-анализу

<i>Вещество</i>	<i>Биологическая жидкость</i>	<i>Условия изолирования</i>		<i>Дериватизация</i>
		<i>pH</i>	<i>экстрагент</i>	
Кокаин и метилэкгонин	Моча (0,5-2 мл)	8,5-9,0	Дихлорметан - изопропанол (3:1)	-
Кокаин и норкокаин	Плазма крови, моча (2 мл)	9,6	Толуол - н- гептан - изоамиловый спирт (7:2:1)	-
Кокаин и бензоилэкгонин	Плазма крови, моча (1 мл)	7,0	Хлороформ - изопропанол (9:1)	ДМФА и ДПА (50 мкл), нагревание 30 сек
Кокаин и продукты пиролиза	Плазма крови, моча (1 мл)	9,6	Метил-трет- бутиловый эфир - изопропанол (9:1)	0,5% раствор сульфата палладия и борогидрид натрия, t ⁰ комнатная 20 мин

Пробоподготовка образцов волос при исследовании на кокаин включает следующие стадии:

- 1) Очистка внешних загрязнений образца путем экстракции дихлорметаном;
- 2) Гомогенизация;
- 3) Солюбилизация 0,1 М раствором соляной кислоты;
- 4) Экстракция гомогената смесью растворителей хлороформ - н-пропанол - н-гептан (50:17:33);

5) Очистка органической фазы путем экстракции 0,2 М раствором соляной кислоты, и последующей щелочной реэкстракции;

6) Упаривание органической фазы при температуре не более 40° С.

Исследование на кокаин методом газовой хроматографии. Для проведения газохроматографического анализа при исследовании на кокаин рекомендованы следующие условия: кварцевая капиллярная колонка с диметилсилоновой (НР-1, OV-101) или 5% фенил-диметилсилоновой (НР-5) фазами; температурный режим термостата колонки – от 100 до 280° С со скоростью 10° С/мин; температура инжектора и детектора – соответственно 275° С и 290° С; детектор – ПИД; в качестве газа-носителя используется гелий или азот.

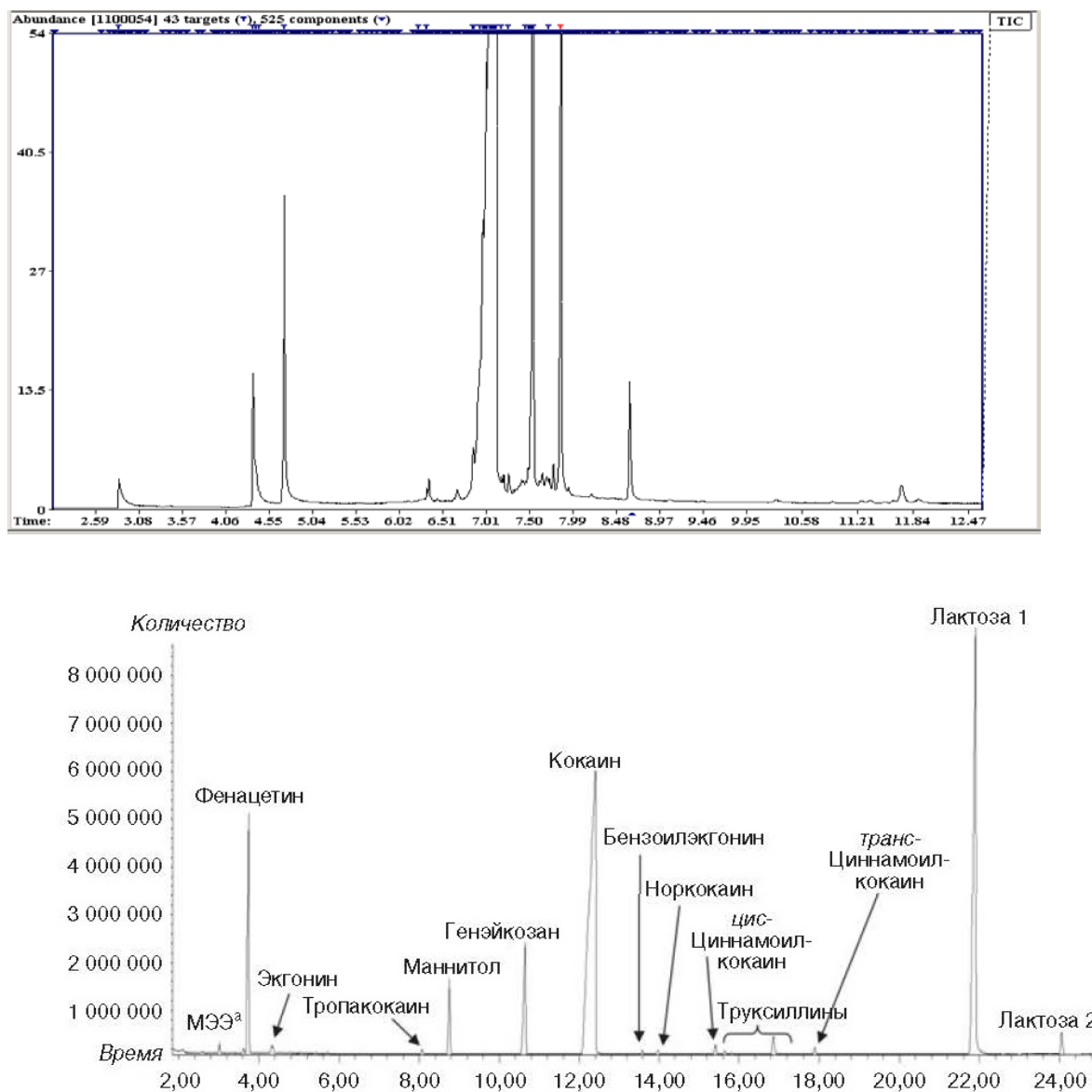


Рис. 23. Хроматограмма экспертного образца кокаина

Индекс удерживания R_I кокаина составляет 2187, его метаболитов: бензоилэкгонины, метилэкгонины, гидроксикокаина и кокаинэтилена – соответственно 2570, 1472, 2460 и 2250.

В качестве внутренних стандартов при проведении количественного определения кокаина в биологическом материале (крови, моче, внутренних органах и др.) используют дифениламин; в кокаинсодержащих субстанциях – метилстеарат. Идентификацию и количественное определение кокаина методом ГХ/МС проводят в хроматографических условиях аналогичных вышеописанным. Кокаин не образует дериватов, поэтому определяется в форме нативного соединения; схема фрагментации молекулы кокаина при ионизации электронным ударом приведена на рисунке 24.

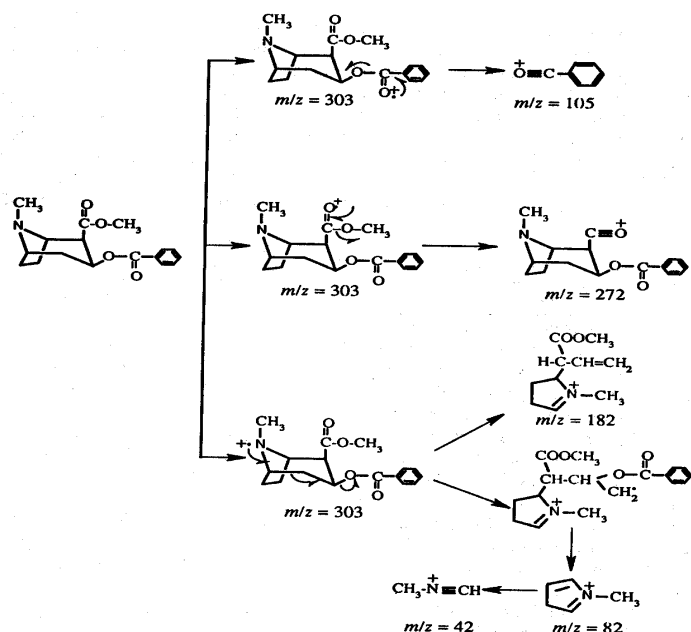


Рис. 24. Схема фрагментации молекулы кокаина при ионизации электронным ударом

Масс-спектры кокаина и его основного метаболита – бензоилэкгонины приведены на рисунке 25.

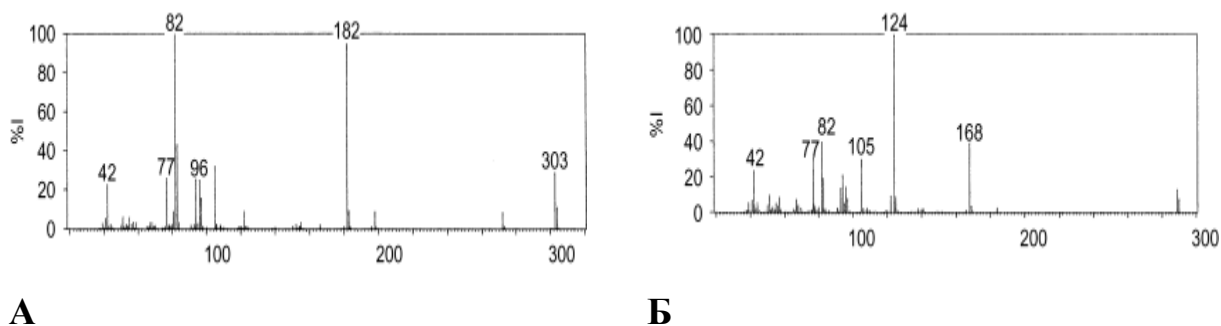


Рис. 25. Масс-спектры кокаина (А) и бензоилэкгонины (Б)

Метаболиты кокаина способны к образованию различных производных. Распространенным вариантом дериватизации для ГХ/МС-анализа бензоилэкгонины является получение метил-, пропил-, бутил- и триметилсилилпроизводных (ТМС-производные).

Например, для ГХ/МС-анализ ТМС-производного бензоилэкгонины рекомендованы следующие условия: кварцевая капиллярная колонка с 5% фенил-диметилсиликоновой (НР-5) фазой; температурный режим термостата колонки – от 60⁰ С (1 мин), затем повышение температуры до 295⁰ С со скоростью 30⁰ С/мин, с последующей выдержкой при указанной температуре в течение 6 мин; температура инжектора – 270⁰ С; в качестве газа-носителя используется гелий; скорость газа-носителя – 1 мл/мин. Ввод пробы осуществляется в режиме «без деления потока», объем пробы – 1,5 мкл.

Для исследования на норкокаин разработана методика, основанная на получении ТФА-производных.

Разработаны методики идентификации кокаина в микроколичествах биологического материала (волосах, ногтях), позволяющие достоверно выявлять данное вещество на уровне 0,5 нг/мг, а также проводить количественное определение.

Исследование на кокаин методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Анализ образцов кокаина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии проводят на жидкостном хроматографе «Миличром 4». Условия хроматографического анализа: колонка КАХ-4 размером 62×2 мм с обращено-фазным сорбентом (НПО «Научприбор», г. Орел); элюент – фосфатный буфер - ацетонитрил (80:20); скорость элюирования – 100 мкл/мин; пятиволновое детектирование при 210, 234, 254, 276, 304 нм; объем вводимой пробы – 10 мкл. Перед анализом проба растворяется в подвижной фазе до получения концентрации 0,5 мг/мл. Перед анализом экспертных образцов кокаина, содержащих, как правило, добавки различных веществ, анализируют модельную смесь. Из хроматограммы модельной смеси (рис. 26) видно, что все примеси элюируются раньше кокаина и не затрудняют его определение.

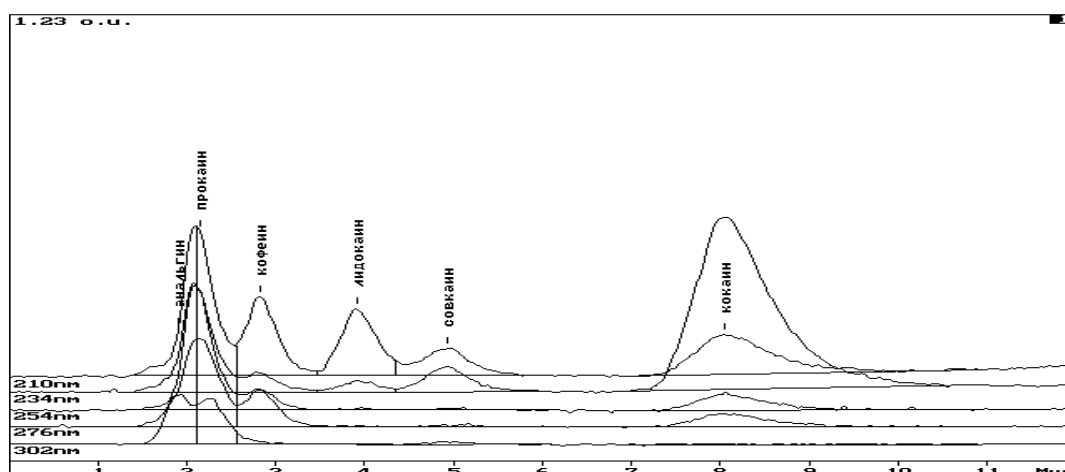


Рис. 26. Хроматограмма модельной смеси при исследовании на кокаин

Разработаны и применяются методики ВЭЖХ-анализа кокаина и его основных метаболитов в образцах крови, мочи, внутренних органах, волосах с использованием различных вариантов детектирования: УФ-детектирования, флуоресцентного, электрохимического и др. Предел обнаружения данных методик находится на уровне 10-25 мкг/л для биологических жидкостей и 15-50 нг/г для мекония, а также волос. Пределы количественного определения составляют 100-200 мкг/л, однако ВЭЖХ с масс-селективным детектированием (ВЭЖХ/МС) позволяет проводить количественный анализ при концентрации 5 мкг/л.

Химическое исследование листьев кокаинового куста. Экстракцию суммы алкалоидов из листьев кокаинового куста осуществляют по следующей схеме: 1) Высушенные нарезанные листья коки экстрагируют 95⁰ этанолом путем нагревания с обратным холодильником в течение 15 мин; кипящий этанол обеспечивает эффективное извлечение алкалоидов типа эгонины и сводит к минимуму разрушение кокаина; полученный экстракт охлаждают и фильтруют;

2) К фильтрату добавляют хлороформ и экстрагируют 1,5% раствором лимонной кислоты (двухкратно); хлороформную фазу отбрасывают;

3) Подщелачивают водную фазу натрия гидрокарбонатом до значения рН 8,2 и экстрагируют хлороформом;

4) Хлороформный экстракт осушают безводным натрия сульфатом и упаривают при температуре не более 40⁰ С;

5) Полученный образец исследуют методами ТСХ, ГХ, ВЭЖХ, ГХ/МС.

Рекомендуемая литература

1. Токсикологическая химия. Метаболизм и анализ токсикантов: Учебное пособие для студентов мед. и фарм. вузов / под ред. Н.И. Калетиной. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 1015 с.
2. Токсикологическая химия: Учебник для мед.вузов / под ред.Т.В. Плетеновой. - 2-е изд.,испр. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 509 с.
3. Калетина Н.И., Токсикологическая химия. Ситуационные задачи и упражнения [Электронный ресурс] / Н. И. Калетина - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2007. - 352 с.

Список использованной литературы

1. Приказ Минздравсоцразвития РФ от 12.05.2010 №346н «Об утверждении Порядка организации и производства судебно-медицинских экспертиз в государственных судебно-экспертных учреждениях Российской Федерации» [Электронный ресурс]: Законы, кодексы и нормативно-правовые акты Российской Федерации. – Режим доступа: <https://legalacts.ru/doc/prikaz-minzdravsotsrazvitija-rf-ot-12052010-n346n/>.
2. Барсегян, С.С. Определение морфина и кодеина при судебнохимических исследованиях с применением одноквадрупольного масселективного детектора, сопряженного с ВЭЖХ-системой / С.С. Барсегян, Е.А. Пурвина, Е.М. Саломатин [и др.] // Суд.-мед. экспертиза. – 2012. – Т.55, №6. – С.33-37.
3. Внуков, В.И. Тонкослойная хроматография при исследовании наркотических средств / В.И. Внуков, Д.В. Кайргалиев, Д.В. Мельников [и 292 др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – №1-2. – С.301-310.
4. Темердашев, А.З. Скрининг и определение некоторых наркотических и психоактивных веществ в материалах природного и синтетического происхождения хроматографическими методами: дис. ... канд. хим. наук: 02.00.02 / Темердашев Азамат Зауалевич. – Краснодар, 2015. – 170 с
5. Воронин, А.В. Денситометрическое определение некоторых лекарственных веществ в крови / А.В. Воронин // Мед. вестник Башкортостана. – 2018. – Т.13, №2(74). – С.40-43.
6. Воронин, А.В. Идентификация морфина и кодеина методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии в химико-токсикологических исследованиях / А.В. Воронин, И.Ф. Шаталаев, Т.В. Воеводина [и др.] // Вестник СамГУ. – 2007. – №6 (56). – С. 385-392.
7. Горбачева, К. Организация контроля качества судебно-химических исследований / К. Горбачева, В.А. Бычков // Суд.-мед. экспертиза. – 2018. – Т.61, №5. – С.18-20.
8. Горячева, И.Ю. Современные тенденции развития иммунохимических методов анализа медицинских объектов / И.Ю. Горячева // Журн. аналит. химии. – 2015. – Т.70, №8. – С.787-800.
9. Дворская, О.Н. Опыт применения твердофазной экстракции в скрининге лекарственных и наркотических веществ в крови методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием / О.Н. Дворская, И.П. Крохин, С.С. Катаев // Хим.-фарм. журнал. – 2017. – Т.51, №3. – С.36-40

10. Артефакты при хромато-масс-спектрометрическом определении препаратов для внутривенного наркоза. Трамадол, связь между структурой метаболитов и примесных веществ // С.А. Савчук, Е.С. Бродский, А.А. Формановский и др. // Журн. аналит. химии. – 2000. – Т. 55, №4. – С. 430-442.
11. Методика количественного определения морфина, кодеина и димедрола в крови методом газовой хроматографии: Методич. указания / А.Б. Мелентьев. – Челябинск: Челябинское обл. бюро судеб.-мед. экспертизы, 2002. – 15 с.
12. Обнаружение морфина, кодеина и диацетилморфина (героина) при судебно-химическом исследовании трупной крови: Пособие для врачей судеб.-мед. экспертов-химиков / Е.М. Саломатин, Н.А. Горбачева, Б.М. Золотарев и др. – М., 2005. – 35 с.
13. Применение метода фиксации времен удерживания при хромато-масс-спектрометрическом хроматографическом определении наркотических средств // С.А. Савчук, Е.А. Симонов, В.И. Сорокин и др. // Журн. аналит. химии. – 2004. – Т. 59, №10. – С. 1059-1069.
14. Симонов Е.А. Методические рекомендации по использованию метода тонкослойной хроматографии при исследовании наркотических средств и психотропных веществ. – М.: ЭКУ Федер. Служба РФ по контр. за оборотом наркот. ср-в и психотроп. в-в, 2004. – 30 с.
15. Clarke's Analysis of Drugs and Poisons [Электронный ресурс]. – Pharmaceutical Press, 2004. – Загл. с экрана.
16. Winek, C. L., Wahba, W. W., Winek, C. L., & Balzer, T. W. (2001). Drug and chemical blood-level data 2001. Forensic Science International, 122(2-3), 107–123. doi:10.1016/s0379-0738(01)00483-2

Приложение. Уровни концентраций токсикологически важных веществ в сыворотке или плазме крови человека

Токсикологически важное вещество	Терапевтическая концентрация (или в норме)		Токсическая концентрация		Летальная концентрация	
	нг/мл	мкг/мл	нг/мл	мкг/мл	нг/мл	мкг/мл
А						
Алпразолам	25 - 102	0,025 - 0,102	-	-	122 -390	0,122 - 0,390
Алфентанил	100 - 1200	0,10 - 1,2	-	-	-	-
Амитриптилин	120 - 250	0,12 - 0,25	>500	>0,5	2000 - 20000	2 - 20
Амобарбитал	1000 - 5000	1 - 5	10000 - 30000	10 - 30	13000 - 96000	13 - 96
Амоксацин	17 - 210	0,017 - 0,21	-	-	2950 - 20000	2,95 - 20
Амфетамин	30 - 110	0,03 - 0,11	>500	>0,5	>1000	>1
Антипирин	5000 - 2500	5 - 25	-	-	110000	110
Атенолол	200 - 700	0,20 - 0,70	350000	35	-	-
Атропин	35 - 200	0,035 - 0,200	-	-	200	0,2
Ацетазоламид	10000 - 15000	10 - 15	-	-	-	-
Ацетаминофен	10000 - 20000	10 - 20	150000	150	>160000	>160
Ацетилсалициловая кислота	20000 - 100000	20 - 100	150000 - 300000	150 - 300	500000	500
Б						
Баклофен	100 - 600	0,1 - 0,6	1100 - 3500	1,1 - 3,5	-	-
Барбитал	10000 - 26000	10 - 26	60000 - 80000	60 - 80	>100000	>100
Бупивакаин	220 - 3450	0,22 - 3,45	10000	10	-	-

Бупренорфин	14 - 110	0,014 - 0,11	-	-	-	-
В						
Вальпроевая кислота	50000 - 100000	50 - 100	7100 - 200000	7,1 - 200	-	-
Ванкомицин	30000 - 40000	30 - 40	-	-	-	-
Варфарин	1000 - 3100	1, 0 - 3,1	-	-	-	-
Верапамил	55 - 355	0,055 - 0,355	900	0,9	900 - 85000	0,9 - 85
Г						
Габапентин	2000 - 10000	2 - 10	-	-	-	-
Галоперидол	6 - 245	0,006 - 0,245	50 - 500	0,05 - 0,50	-	-
Галотан	22000 - 260000	22 - 260	-	-	2000000	200
Гаммагидрокси-бутират	<1000	<1,0	26000 – 360000	26 - 360	>750000	>750
Гидрокодон	30 - 250	0,03 - 0,25	500 - 2000	0,5 - 2	700 - 12000	0,7 - 12
Д						
Декстрометрофан	380	0,38	-	-	>3000	>3
Диазепам	20 - 4000	0,02 - 4,00	5000 - 20000	5 - 20	>30000	>30
Дигоксин	0,7 - 22	0,0007 - 0,022	3 - 4	0,0030 - 0,0040	35 - 200	0,035 - 0,20
Диклофенак	750 - 2000	0,75 - 2,0	6000	6	-	-
Дилтиазем	50 - 400	0,05 - 0,40	3700 - 6100	3,7 - 6,1	6700	6,7
Дифенгидрамин	25 - 112	0,025 - 0,112	5000	5	>8000	>8
Доксиламин	69 - 138	0,069 - 0,138	-	-	700 - 12000	0,7 - 12

З						
Зидовудин	270 - 800	0,27 - 0,8	-	-	-	-
Золпидем	29 - 272	0,029 - 0,272	-	-	500 - 1120	0,5 - 1,12
И						
Ибупрофен	17000 - 49000	17 - 49	84000 - 700000	84 - 700	-	-
Изониазид	600 - 20000	0,6 - 20	20000 - 143000	20 - 143	65000 - 168000	65 - 168
Имипрамин	105 - 150	0,15 - 0,105	500 - 1500	0,5 - 1,5	2800 - 8500	2,8 - 8,5
Индометацин	100 - 4000	0,1 - 4	6000	6	-	-
К						
Каптоприл	510 - 1310	0,51 - 1,31	-	-	20000 - 60000	20 - 60
Карбамазепин	1400 - 12000	1,4 - 12	>15000	>15	>50000	>50
Кетамин	200 - 6300	0,2 - 6,3	-	-	-	-
Кетопрофен	1500 - 5000	5 - 1,5	-	-	-	-
Кеторолак	870 - 4500	0,87 - 4,5	-	-	-	-
Клозапин	102 - 771	0,102 - 0,771	-	-	-	-
Клоназепам	7 - 75	0,007 - 0,075	-	-	-	-
Клонидин	0,3 - 1,5	0,0003 - 0,0015	6	0,006	230	0,23
Кодеин	30 - 340	0,03 - 0,34	-	-	>1600	>1,6
Кокаин	50 - 930	0,05 - 0,930	900	0,9	1000 - 200000	1 - 20
Колхицин	0,3 - 30	0,0003 - 0,0300	-	-	21 - 250	0,021 - 0,25
Кофеин	2000 - 10000	2-10	-	-	>100000	>100

Л						
Ламотриджин	2000 - 19000	2 - 19	15000 - 36000	15 - 36	-	-
Лидокаин	1500 - 5000	1,5 - 5,0	7000 - 20000	7 - 20	>25000	>25
Лизергиновой кислоты диэтиламид	-	-	1 - 9	0,001 - 0,009	-	-
Лоразепам	10 - 240	0,01 - 0,24	300 - 600	0,3 - 0,6	-	-
Лоратадин	7 - 28	0,007 - 0,028	460	0,46	-	-
М						
МДА (3,4-метилendioкси-амфетамин)	-	-	-	-	1800 - 26000	1,8 - 26
Метадон	75 - 1100	0,075 - 1,10	200 - 2000	0,20 - 2,0	400 - 1800	0,4 - 1,8
Метаквалон	400 - 8000	0,4 - 8,0	10000 - 30000	10 - 30	>5000	>5
Метамфетамн	10 - 50	0,01 - 0,05	600 - 5000	0,6 - 5,0	>10000	>10
Метилдопа	1000 - 7500	1,0 - 7,5	10000	10	-	-
Метилфентанил	-	-	-	-	2 - 11	0,002 - 0,011
Метоклопрамид	72 - 750	0,072 - 0,75	-	-	-	-
Метапролол	30 - 270	0,03 - 0,27	-	-	4700 - 142000	4,7 - 142
Метформин	1000 - 4000	1 - 4	45000 - 70000	45 - 70	-	-
Морфин	100	0,1	-	-	50 - 4000	0,05 - 4,00
Н						
Налоксон	10	0,01	-	-	-	-
Напроксен	31000 - 120000	31 - 120	400000	400	-	-
Никотин	4 - 444	0,004-0,444	-	-	1400	14

Нитроглицерин	2 - 13	0,002 - 0,013	-	-	-	-
Нитрофурантоин	1800	18	-	-	-	-
Нифедипин	15 - 162	0,015 - 0,162	-	-	-	-
О						
Оксазепам	150 - 1400	0,15 - 1,4	>2000	>2	-	-
Оксикодон	10 - 100	0,01 - 0,10	200 - 5000	0,2 - 5,0	-	-
Ондансетрон	22 - 114	0,022 - 0,114	-	-	-	-
П						
Папаверин	250 - 4000	0,25 - 4,00	-	-	-	-
Пароксетин	31 - 62	0,031 - 0,062	-	-	1400 - 3400	1,4 - 3,4
Пентазоцин	30 - 1000	0,03 - 1,00	2000 - 5000	2 - 5	>300	>0,3
Пентобарбитал	1000 - 3000	1 - 3	>5000	>5	10000 - 169000	10 - 169
Пентоксифилин	60 - 1600	0,06 - 1,6	-	-	>6000	>6,0
Пироксикам	850 - 8000	0,85 - 8,00	-	-	-	-
Прокаин	200 - 13000	0,2 - 13,0	>21000	>21	-	-
Прокаинамид	4000 - 8000	4 - 8	10000	10	>20000	>20
Промазин	-	-	>1000	>1	>5000	>5
Прометазин	6 - 99	0,006 - 0,099	-	-	2400 - 12000	2,4 - 12
Пропофенон	176 - 1650	0,17 - 1,65	-	-	-	-
Пропофол	230 - 1070	0,23 - 1,07	300 - 600	0,3 - 0,6	1000 - 17000	1-17
Пропранолол	10 - 340	0,01 - 0,34	2000	2	8000 - 12000	8 - 12

Псевдоэфедрин	500 - 770	0,50 - 0,77	-	-	19000	19
Р						
Ранитидин	36 - 94	0,036 - 0,094	-	-	-	-
Ремифентанил	3 - 50	0,003 - 0,05	-	-	-	-
Рisperидон	3 - 12	0,003 - 0,012	-	-	-	-
Риталин	10 - 60	0,01 - 0,06	800	0,8	2300	23
С						
Саквинавир	110 - 1100	0,11 - 1,1	-	-	-	-
Салициламид	5000	50	-	-	40000	40
Силденафил	127 - 1150	0,127 - 1,15	-	-	-	-
Симвастатин	2,7 - 5,6	0,0027 - 0,0056	-	-	-	-
Скополамин	0,3 - 19	0,0003 - 0,019	-	-	1890	189
Стрихнин	-	-	2000	2	2800 - 12000	2,8 - 12,0
Сульфаниламид	100000 - 150000	100 - 150	-	-	-	-
Суматриптан	24 - 0,0095	0,024 - 0,095	-	-	-	-
Суфентанил	1 - 11	0,001 - 0,011	-	-	-	-
Т						
Теофиллин	10000 - 20000	10 - 20	30000 - 40000	30 - 40	50000 - 250000	50 - 250
Тетрагидрокан- набинол (ТГК)	<190	<0,19	-	-	-	-
Тимолол	40 - 230	0,04 - 0,23	-	-	-	-
Тиопентал	1000 - 42000	1 - 42	>7000	>7	10000 - 400000	10 - 400
Тиоционат	5500 - 29000	5,5 - 29	>100000	>100	200000	200

Толбутамид	43000 - 96000	43 - 96	-	-	640000	640
Трамадол	100 - 600	0,1 - 0,6	-	-	-	-
Триазолам	20	0,02	-	-	-	-
Ф						
Фамотидин	7 - 35	0,007 - 0,035	-	-	-	-
Фелодипин	1,5-8,8	0,0015 - 0,0088	10 - 15	0,01 - 0,015	-	-
Фенилбутазон	16000 - 150000	16 - 150	200000	200	400000	400
Фенилэфрин	30	0,03	-	-	-	-
Фенитоин	10000 - 200000	10 - 20	20000 - 50000	20 - 50	>100000	>100
Фенобарбитал	10000 - 40000	10 - 40	40000 - 60000	40 - 60	>80000	>80
Фентанил	10 - 100	0,01 - 0,10	-	-	-	-
Фенциклидин	-	-	7 - 240	0,007 - 0,240	1000 - 5000	1 - 5
Флуоксетин	90 - 400	0,09 - 0,40	-	-	1300 - 6800	1,3 - 6,8
Фуросемид	1000 - 10000	1 - 10	>20000	>20	-	-
Х						
Хинин	0,17 - 0,97	1,7 - 9,7	>1	>10	12	12
Хлоралгидрат	0,2 - 1,2	2 - 12	10	100	25	250
Хлорамфеникол	1 - 2	10 - 20	-	-	20	200
Хлордiazепоксид	0,067 - 0,31	0,67 - 3,1	05	5	2	20
Хлорпрокаин	0,2 - 0,4	2 - 4	-	-	-	-
Хлорпромазин	0,001 - 0,050	0,01 - 0,50	0,1 - 0,2	1 - 2	0,3 - 1,2	3 - 12
Ц						
Циклоспорин	50 - 450	0,050 - 0,045	-	-	-	-

Циметидин	500 - 4500	0,5 - 4,5	-	-	-	-
Э						
Эналаприл	63 - 70	0,063 - 0,070	-	-	-	-
Эфедрин	68 - 100	0,068 - 0,10	-	-	3500 - 21000	3,5 - 21

Учебное пособие

Воронин Александр Васильевич, Сынбулатов Ирек Вадимович

**ОСНОВЫ СУДЕБНО-ХИМИЧЕСКОЙ ЭКСПЕРТИЗЫ И
ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА
«ЛЕКАРСТВЕННЫХ ЯДОВ»**

Часть 1

Подписано в печать «30.09.2020» Формат 60х84/16
Бумага офсетная 80 гр. Печать оперативная.
Тираж 100 экз.

Отпечатано в ООО «Прайм».
г. Самара, ул. Байкальский пер., д.12. тел.: (846) 922-62-90
Интернет-адрес издательства: www.prime163.ru
E-mail: prime.163@mail.ru