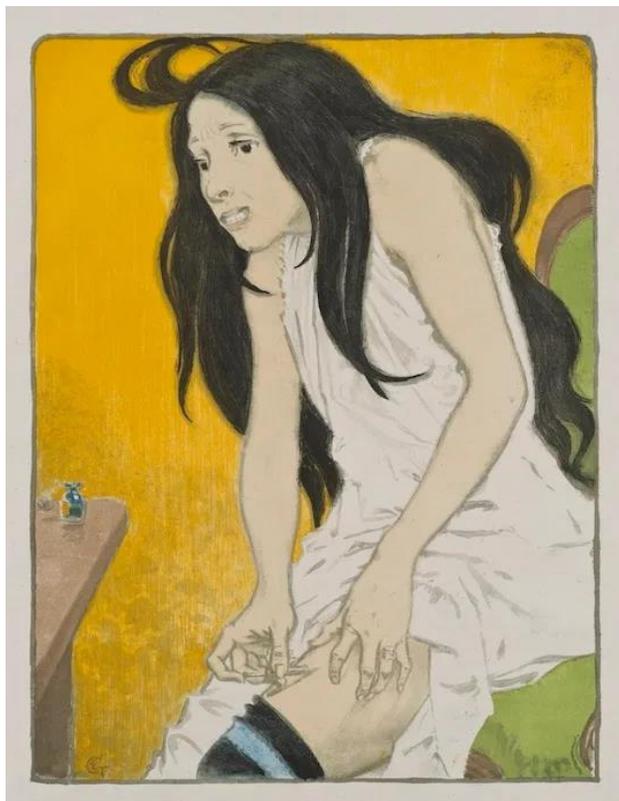




Викторианский набор для инъекций морфина



# Опиаты

«Морфинистка» Эжена Грассе («The Morphine Addict», Eugene Grasset), 1897

# Эпидемиология

- Героин преимущественно используется среди городского населения, чаще мужчинами, чем женщинами (3:1), в возрасте 18-25 лет.
- Причинами смерти умерших наркоманов в 44% случаев была передозировка морфином, у 65,2% - морфин и этанол, у 4% - морфин и кодеин. Нередким сочетанием было опиаты и бенздиазепины.

*Что ныне снадобьем слывет, то завтра станет ядом.  
И что же ? Лекарством этот яд опять сочтут больные.  
Рудаки, 941 г.*



# *Причины потребления опиатов.*

- 1. удовольствие (указана 81% наркоманов);
- 2. любопытство;
- 3. давление окружающих;
- 4. желание избежать жизненного стресса;
- 5. неудовлетворительное личностное приспособление;
- 6. социокультурные условия.

# *Причины ООО*

1. Передозировка наркотика, в т.ч. при снижении дозы наркотика, когда снижается толерантность к нему, и симптомы отравления развиваются при резком возвращении к прежней дозе, ранее хорошо переносимой;
- 2, Применения наркотика в сочетании с нек. лекарствами, усиливающими его токсический эффект;
3. Самоубийство.

## ИЗ ИСТОРИИ ОПИАТОВ

- Применение опиатов датируется периодом Шумерской цивилизации (5000 лет)
- Гомер описал снотворное действие опиума (греческое слово «опион»-млечный сок) в «Илиаде» и «Одиссее» (850 г. до н.э.)
- Гиппократ прописывал сок млечного мака для нормализации работы кишечника (460-357 г. до н.э.)
- А. Македонский в 330 году до н.э. завез опийный мак в Индию и Персию
- Арабские купцы способствовали распространению опия обратно на восток
- В китайской литературе 220-226 г. н.э. описаны рекомендации хирурга Хуа К использования опия для подготовки пациентов перед операцией

# Исторические аспекты

- И в Европе, и Азии опий стали курить ради удовольствия в XVI веке после того как Колумбом был завезен табак и способ его курения через трубку
- В 1805 году немецкий фармацевт Фридрих Штернер изолировал и описал алкалоид опия, который назвал морфином
- В 1832 году был синтезирован кодеин, а в 1848 году папаверин
- В 1874 году был синтезирован героин и в 1898 году немецкой фармацевтической компанией Bayer был зарегистрирован как лекарственный препарат
- В России опий, героин и морфин к разряду наркотических средств были отнесены в 1912 году, героин был полностью запрещен для медицинского применения с 1954 года

## ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

**Papaver somniferum L** - мак  
снотворный  
(различные подвиды от места  
произрастания)

**Papaver setigerum D.C.**- мак  
щетинконосный

**Papaver bracteatum L.**- мак  
прицветниковый

**Papaver orientale L** –мак  
восточный



Морфин 3 – 30 %  
Кодеин 1 – 5 %  
Тебаин 1 – 4 %  
Папаверин 1 – 6 %  
Носкапин 4 – 15 %  
Влага 8 – 30 %  
Другие алкалоиды 0,5 – 2 %  
Зола 4 – 8 %  
Камедь и другие водорастворимые  
вещества 40 – 60 %  
Меконовая кислота 5 – 10 %  
Смолы 5 – 10 %  
Жиры 1 – 4 %

# Опий: виды, хим.состав, применение

- **ОПИЙ (маковый сок).** Получается из млечного сока (отсюда и название: опий – сок или териак), вытекающего из надрезов незрелых головок мака. Это лепешки разной величины или мягкая бесформенная масса темно-бурого цвета со специф.запахом. После высушивания при  $t^{\circ}$  до  $60^{\circ}\text{C}$  ее измельчают до порошкообразного состояния. Порошок опия имеет цвет от светло-желтого до светло-бурого.
- **Виды опия.**
  - 1. Опий-сырец
  - 2. Обработанный (экстракционный) опий.
  - 3. Медицинский опий
  - 4. Пантопон (омнопон)
  - 5. Опиумные шлаки.



# *Химический состав опия*

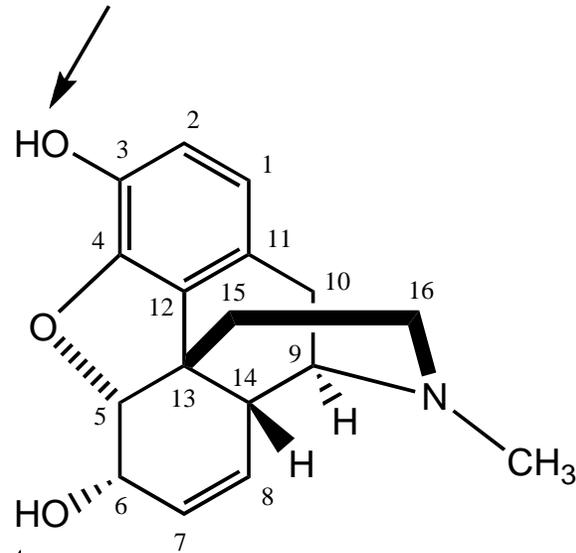
- *Основные алкалоиды опия: морфин, кодеин, тебаин, наркотин, папаверин.*
- *Примеси опия. Характеристическими компонентами опия являются **меконовая кислота** и **меконин**. Присутствие меконовой кислоты, меконина, наркотина может служить признаком использования опийного экстракта.*
- *Полусинтетические опиаты - дериваты морфина (героин, деонин, апоморфин).*
- *Особый вид опийного наркотика - кокнар – отвар молодых головок мака, который концентрируют выпариванием и вводят в/в.*

# *Применение опия*

- В медицине опий применяется в виде галеновых препаратов (настойки и экстракты) в порошкообразной форме; широко используются также его компоненты, выделенные в чистом виде (морфин, кодеин, папаверин). Для ослабления кишечной перистальтики, в т.ч. у детей, при кишечных инфекциях часто используют порошок опия (10% морфина), экстракт опия (20% морфина), настойки опия (0,5-1% морфина).
- Спелые семена мака используются для выпечных изделий и для получения макового масла.
- Спелые семена мака и спелый мак-самосейка токсичны лишь в исключ. случаях.

# Morphine

HO- Group is needed for activity



**Morphine (Astramorph)**

HO- Group not important to activity

# Биодоступность

- Эффективность действия (биодоступность) обуславливается способом его введения.  
Биодоступность составляет 100 % для ВВ и ВМ введения и около 20-30 % для перорального применения морфина и 70 % кодеина, так как происходит интенсивный метаболизм морфина в печени и, в меньшей степени, - в стенке кишечника.
- При внутривенном введении морфина максимальная концентрация в плазме крови достигается за 2-15 мин.,  
при внутримышечном - за 7,5-20 мин.,  
при приеме внутрь за - 30-120 мин.
- Морфин амфотерен и умеренно растворим в липидах, поэтому быстро покидает кровеносное русло, перераспределяясь в паренхиматозные органы (печень, почки, легкие, селезенка, мозг (в 2-5 раз выше концентрация чем в крови)), в скелетные мышцы и миокард.

## Распределение.

Содержание морфина в крови по отношению к печени составляет 5:1, к мозгу – 1:2,5.  $T_{1/2}$  - 2-3ч, объем распределения  $V(D)=3,3$ л/кг, клиренс  $Cl(Пл)=15-20$  мл/мин/кг, связывание с белками 20-30%. Кинетика элиминирования из плазмы свобод. и связанного морфина различны. Концентрация связанного (конъюгированного) морфина увеличивается от 9 до 80 нг/мл в интервале 2-20 мин и до 4 ч.

Показатель	в/в-введение		в/м-введение	перорально
	морфин	героин		
Пик концентрации в крови, мин	2-15	1-2	7,5-20	30-120
Пик концентрации в моче, мин			Доза 20 мг 4-9 ч (общий морфин).	
Пик концентрации в слюне, мин		2-5 мин (в/в), 2 мин (курение)		
Динамика изменения концентрации в крови, концентрация, время	Доза – 2 мг: 3-4мин -200нг/мл (макс.); 20 мин - 6 нг/мл (3-7% от дозы); 3-6ч - 2нг/мл	Доза 200 мг (мкг/мл): 1 мин – ДАМ (1,5), 6-МАМ (3,4), 2 мин - ДАМ (0,8), 6-МАМ (1,9); 6 мин - морфин (0,17		
Биодоступность	100%		100%	30-40%

# Метаболизм

Основной механизм метаболизма - конъюгация с образованием сульфатов и глюкуронидов.

Основные метаболиты:

- морфин-3-О-глюкуронид,
- морфин-3-О-сульфат,
- морфин-6-О-глюкуронид,
- норморфин,
- норморфин-глюкуронид.

# Экскреция морфина

Экскреция метаболитов морфина, а также неизмененных молекул, происходит путем выведения с мочой.

Выделение морфина начинается сразу после всасывания и достигает максимума через 8-12 ч.

- За 8 часов выводится 80 % введенной дозы
- за 24 часа- 64-90 %, через 72-100 часов в моче определяются лишь следы морфина (0-750 нг/мл).
- При повторном введении уровень морфина в крови суммируется, и он обнаруживается в продолжение многих часов после последней инъекции.
- Около 20% выводится с мочой в виде свободного морфина, а остальное кол-во его связывается с комплексными солями, от которых он отделяется в кислой среде.  $T_{1/2}$  составляет соот-но для свободного и связанного морфина 3,6-6,6 и 7,9-8,2ч.

В начальный период времени в виде свободного морфина выводится 25-34% общего морфина, спустя 12ч свободный морфин составляет только 5,9% общего морфина. За весь период выводится в виде свободного морфина 6,8% дозы и в виде конъюгированного морфина - 58,6% дозы. Таблица иллюстрирует скорость выделения морфина у наркоманов после в/м-введения.

Время отбора пробы, ч	Морфин-свободн.	Морфин общий
1,2	2123	8006
4,2	5254	44843
8,8	1598	23010
11,6	228	4335
24	157	2579
36	100	1640
48	40	62760
60	-	112
72	-	54
84	-	0
Пациент – наркоман, доза 20 мг морфина в/м		

Концентрация морфина в моче, нг/мл

# “Need Something New”

В конце 1800-х годов морфин и кодеин были самыми популярными предписанными и вызывающими привыкание лекарствами. Компания Bayer в Германии искала альтернативные лекарства, способные лечить те же болезни, что и кодеин и морфин (который получен из опийного мака), но все же менее мощный и менее вызывающий привыкание (Ходжсон).





# “Heroic”

- В 1898 году Генрих Дресер (глава фармакологической лаборатории Bayer) из Германии увидел коммерческую ценность изобретения Райт и начал испытывать на кроликах, себе и коллегах в фармацевтической компании, в которой он работал. Затем Дресер назвал изобретение Райта «героин». Это было связано с результатами тестирования его коллег, которые заявили, что у них было «героическое» чувство при использовании препарата (Ходжсон).



**COUGH**

The Sub of Clinical Experiences Demands Glyco-Heroin (Smith) as a Respiratory Sedative Superior to All Remedies in the Preparation of Croup, Whooping Cough and Other Nervous and Irritable Coughs of the Infant or Debilitating Effects which characterize the latter when given in doses sufficient to reduce the reflex irritability of the larynx, trachea and laryngeal mucosa membrane.

**THE PROBLEM**  
of establishing sleep in great distress with all the depressing terms of the most agonizing kind.

**HAS BEEN SOLVED BY**  
the pharmaceutical compound known as

**GLYCO-HEROIN (Smith)**

The results obtained with Glyco-Heroin (Smith) in the above case and cases of cough are attested by numerous clinical studies and have appeared in the medical journals within the past few years.

Scientifically Compounded, Scientifically Conceived, GLYCO-HEROIN (SMITH) simply stands upon its merits before the profession, ready to prove its efficacy to all who are interested in the advances in the art of

**BAYER**  
PHARMACEUTICAL PRODUCTS.

We are now sending to Physicians throughout the United States literature and samples of

**ASPIRIN**

The substitute for the Salicylates, agreeable of taste, free from unpleasant after-effects.

**HEROIN**

The Sedative for Coughs,  
**HEROIN HYDROCHLORIDE**  
Its water-soluble salt.  
You will have call for them. Order a supply from your jobber.

Write for literature to  
**FARBENFABRIKEN OF ELBERFELD CO.**  
40 Stone Street, New York,  
SOLE AGENTS

THE NEW YORK MEDICAL JOURNAL 99

**BAYER PHARMACEUTICAL PRODUCTS**

**ASPIRIN**  
The substitute for the salicylates

**Send for samples and Literature to**

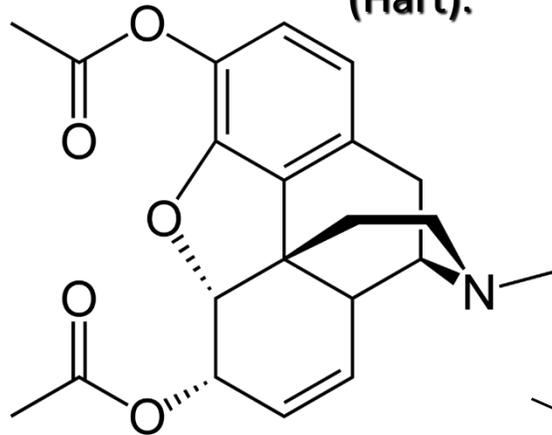
<b>ARISTOL</b> The analgesic	<b>PROTARGOL</b> The anti-germicidal	<b>PIPERAZINE</b> The sedative	<b>EUROPHEN</b> The sedative
<b>CREOSOTE CARB</b> The antiseptic	<b>QUINALGEN</b> The antiseptic	<b>GUAIACOL CARB</b> The antiseptic	<b>HEROIN-HYDROCHLORIDE</b> The sedative for coughs
<b>HEROIN</b> The sedative for coughs	<b>LYCETOL</b> The uric acid solvent	<b>SOMATOSE</b> The most soluble solvent	<b>PHENACETIN</b> The analgesic
<b>FERRI-SOMATOSE</b> The iron salt	<b>SULFONAL</b> The antiseptic	<b>SYCOSE</b> The most soluble solvent	<b>TRIONAL</b> The antiseptic
<b>HEMICRANIN</b> The specific for malaria	<b>IODOTHYRINE</b> The iodine salt	<b>SALOPHEN</b> The antirheumatic and antineuralgic	

**FARBENFABRIKEN OF ELBERFELD CO. 40 STONE STREET, NEW YORK.**



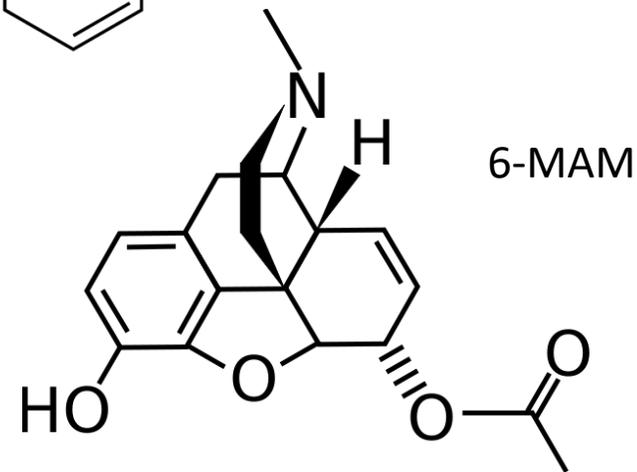
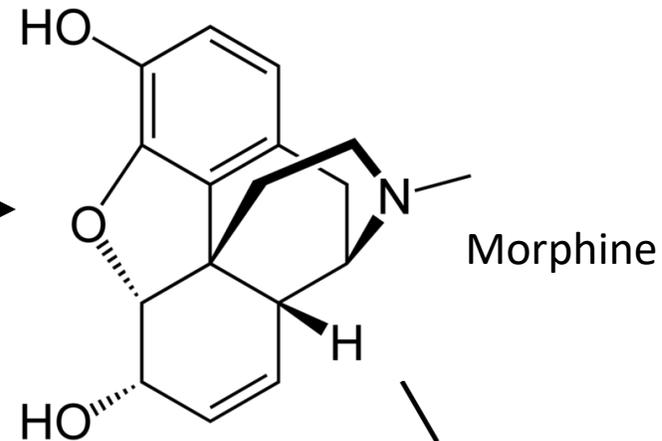
# Metabolism of Heroin

-Once crossing the BBB heroin is deacetylated into 6-monoacetylmorphine (6-MAM) and morphine (Hart).



Heroin

Основным метаболитом героина является 6-моноацетилморфин (6-MAM), обеспечивающий анальгетическое и наркотическое действие героина. 6-MAM – метаболит, характерный только для героина, поэтому может служить маркером его употребления в отличие от морфина и кодеина.



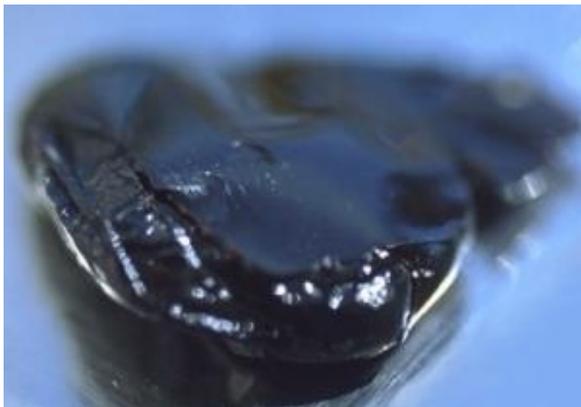
# Виды героина



Коричневый героин, или базовый *диаморфин*, получают в результате [первой стадии очистки](#) неочищенного *диацетилморфина*. Коричневый морфин легче производить, чем белый героин, он горит при меньшей температуре, поэтому чаще всего его курят.



Белый героин, или же *диаформин гидрохлорид*, это самый чистый героин доступный на рынке. Процесс его очистки включает эфир и соляную кислоту, делая процесс очистки [очень опасным](#) с точки зрения ожогов и легкого воспламенения. Но в результате получается чистое солеподобное вещество, которое растворяется в воде. Его чаще всего колют в вену, так как у него высокая температура горения.



Героин в виде черной смолы – это темная, липкая тягучая субстанция, которая имеет мексиканское происхождение. Получается в результате неполного ацетилирования морфина. Как правило она дешевле, чем коричневый или белый героин. Процент самого героина в черной смоле как правило достаточно низкий.

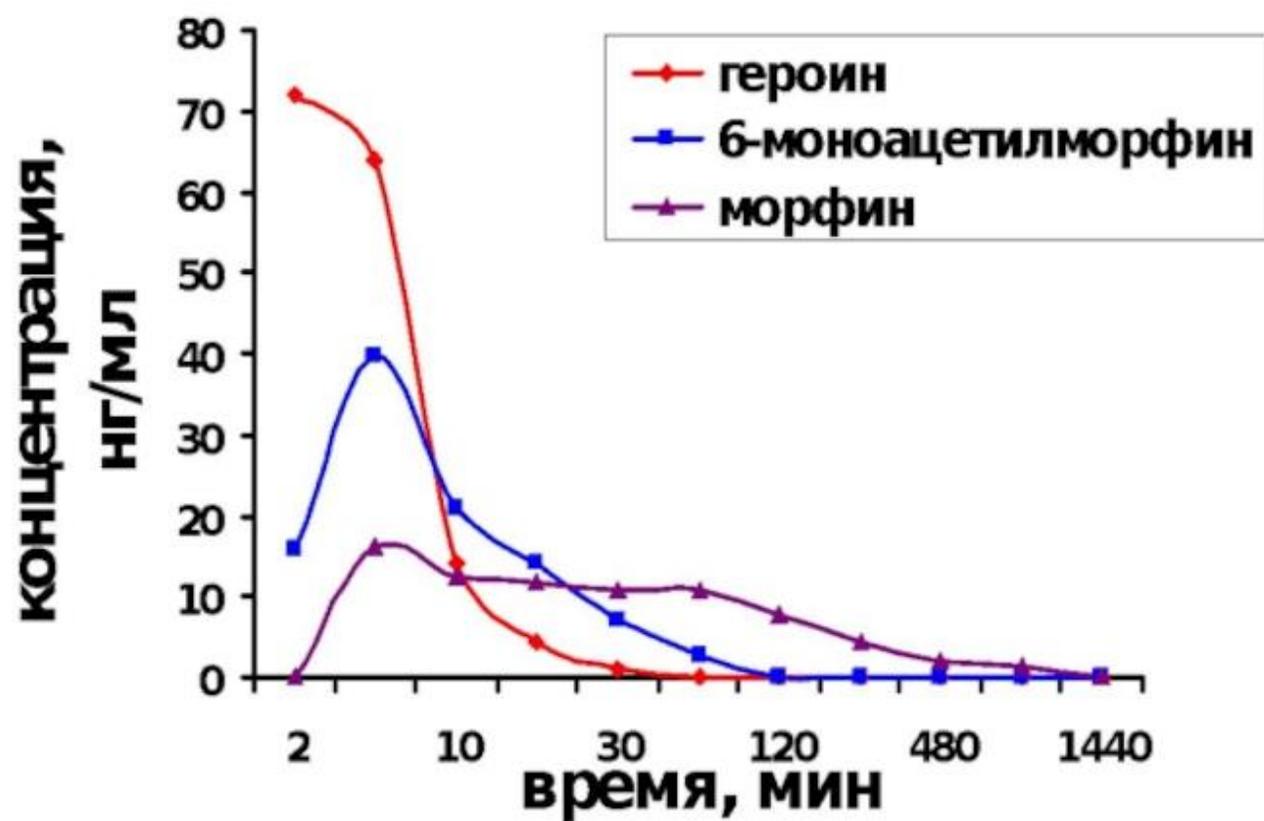
# Виды героина

- I. Героин юго-западной Азии. Тип 1. Очень тонкий порошок от бежевого (часто) до темно-коричневого цвета с небольшими включениями мягких агрегатов, рассыпающихся при легком нажатии, с характерным запахом опия. Хим. состав героина этого типа весьма разнообразны. Все Ал присутствуют в форме оснований, (состав, в %): ДАМ (60), ацетилкодеин (5), 6-МАМ (3), наркотин (10), папаверин(4). Тип 2: Тонкий сухой порошок от белого до кремового цвета с менее сильным, чем для типа 1, запахом. Это высоко-чистый продукт, неотличимый в ряде случаев от чистого героина. Все Ал присутствуют в форме гидро-хлоридов, состав: ДАМ (80-60), ацетилкодеин (3), 6-МАМ (2).
- II. Средне-восточный героин. Содержит все Ал - в форме гидрохлоридов Тип 1: Тонкий порошок практически без агрегатов бежевого цвета. Часто содержит добавки, н-р, прокаин. Состав: ДАМ (50-70 и более), ацетилкодеин (3), 6-МАМ (2). Тип 2: Тонкий порошок различных оттенков белого цвета. Высокочистый героин. Состав: ДАМ (70-90), ацетилкодеин (2-3), 6-МАМ (2), наркотин и папаверин – следы. Героин этого типа, «разбавленный» эквивалентным кол-вом кофеина, имеет в своем составе ДАМ (30-40%) и следовые кол-ва остальных компонентов.
- III. Героин юго-восточной Азии. Тип 1. Героин для курения (Chinese n.3). В основном состоит из твердых, не рассыпающихся при нажатии гранул диаметром 1-5 мм, и небольшого кол-ва порошка. Цвет гранул обычно серый, но встречается также героин с темно-коричневыми и, реже, с розовыми или красными (Penang Pink) гранулами. Ал присутствуют в форме оснований или гидрохлоридов. Состав: ДАМ (20), кофеин (40), в Penang Pink вместо кофеина добавлен барбитал. Ацетилкодеин, наркотин, папаверин – следы, 6-МАМ (до 5). Тип 2. Героин для инъекций. Тонкий белый порошок без агрегатов со слабым запахом. Целиком состоит из ДАМ. Содержание 6-МАМ <3%, ацетилкодеина - 3-5%, Ал присутствуют в форме гидро-хлоридов.
- IV. Черная героиновая смола (mexican brown, black tar - черная смола, mud - грязь). Героин, который производится непосредственно из опия. Это вязкая, пластичная, похожая на вар или дёготь масса тёмно-коричневого или чёрного цвета. Также встречаются образцы твёрдые, похожие на уголь. Наиболее часто используется для инъекций.
- VI. Спидболл - это смесь кокаин-основания (крэка) и героина, предназначенная для курения.

# Героин.

- Вследствие меньшей полярности и высокой липидной и мембранной растворимости всасывание и преодоление ГЭБ быстрее, чем морфина. Период полувыведения героина для крови составляет 3 минуты, 6-МAM – 38 мин – 1,3 ч, морфина своб. - 3,6-6,6ч, морфина конъюгир. - 7,9-8,2 ч.
- После в/в макс. концентрация ДАМ в плазме достигается за 1-2 мин и за 10 мин быстро уменьшается благодаря метаболизму и депонированию в ткани. Далее, 12ч в плазме сохраняются низкие уровни ДАМ.  $T_{1/2}$  ДАМ в слюне выше, чем в крови, при курении в 14-60 раз, при в/в в 2-208 раз.

### Концентрация героина и его метаболитов в крови при внутривенном введении



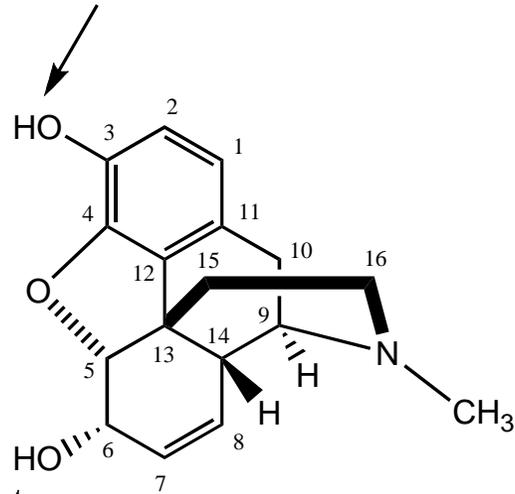
# Экскреция героина

- Около 80% героина выводится за 24-96ч с мочой, <3% дозы – с желчью.
- Выведение отдельных метаболитов за 24ч в % дозы после приема 10 мг/кг героина: ДАМ - 0,05-0,5%, М-3-Г - 50-60%, морфин - 5-7%, 6-МAM+6-МAM-3-глюкуронид - 0,2-1,7%, норморфин общ. - 2,8-4%.
- 6-МAM быстро выводится и время определения его в биожидкостях всего 2-8 ч. Интервал концентраций 6-МAM в моче после в/м введения 3-6 мг героина – 42-236 нг/мл за 1-3,4 ч и 0,8-30 нг/мл за 3,4-7 ч.

# Codeine

Алкалоид, содержащийся в опии (0,2 — 2 % в опиоиде *Paraver Somniferum*); получается также полусинтетическим путём — метилированием морфина

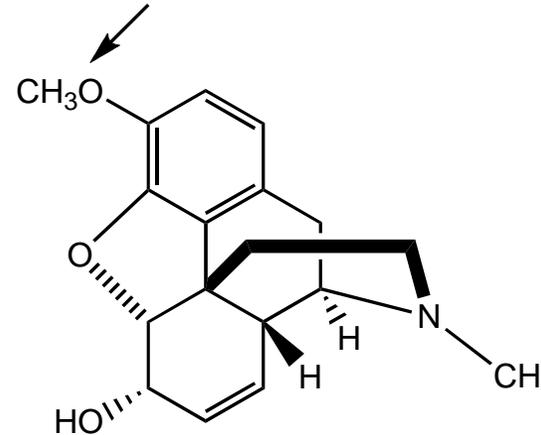
HO- Group is needed for activity



**Morphine** (Astramorph)

HO- Group not important to activity

Inefficiently converted to HO group in the liver



**Codeine** (5X LESS potent than morphine)

# *Кодеин.*

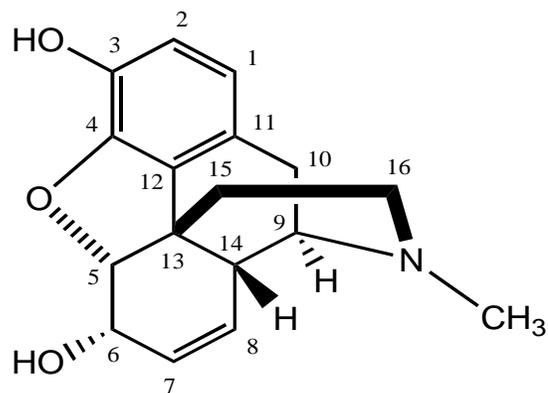
- $T_{1/2}$  2-4 ч, объем распределения 3,5 л/кг, клиренс из плазмы 10-15 мл/мин/кг, связывание с белками плазмы 7-25%.
- После орального приема кодеин хорошо всасывается, биодоступность - 50%. Пик эффекта достигается через 1 ч.
- Макс. концентрация основного метаболита кодеина-6-глюкуронида в плазме после разового приема внутрь 25 мг кодеина 700-1670 нг/мл.
- Снижение концентрации начинается через 4ч, через 8 ч после приема она доходит до 1 нг/мл и через 24 ч заканчивается.

# Экскреция кодеина

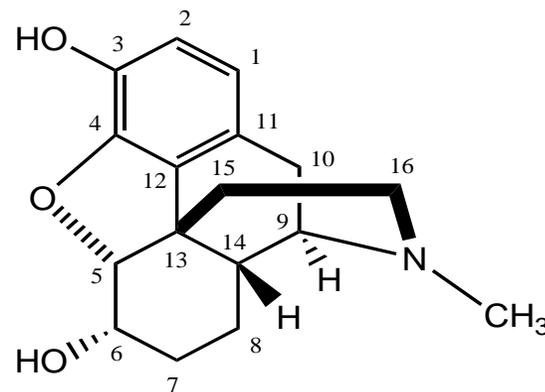
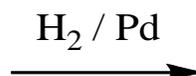
- *Выведение с мочой.* За 6 ч выделяется с мочой около 2/3 всей дозы, за 24 ч -  $\approx 86\%$  дозы кодеина. В отличие от морфина он выводится в неактивной форме. М-З-Г элиминируется гораздо медленнее, чем К-б-Г, а морфин - медленнее, чем кодеин. До 24 ч после приема кодеина доминирует КбГ, но затем количество МЗГ превышает кол-во всех соединений в плазме. После в/м кол-во кодеина в моче в 3 раза выше, чем при приеме внутрь.

# Гидрирование C = C морфина дает дигидроморфин

Полусинтетический [опиоид](#), изобретённый в [Германии](#) в [1900 году](#). По своей структуре очень похож на [морфин](#), единственное отличие — одинарная связь между 7 и 8 позициями, вместо двойной у морфина.



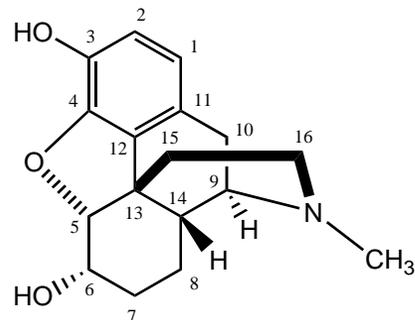
**Morphine** (Astramorph)



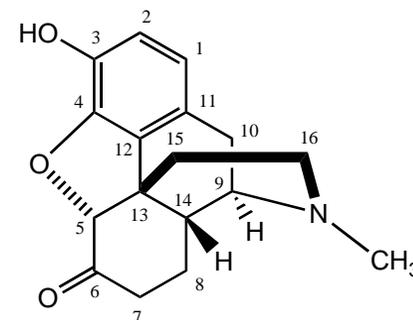
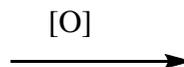
**Dihydromorphine**

Дигидроморфин немного сильнее морфина в качестве анальгетика с почти идентичным профилем побочных эффектов и является несколько более активным эйфориком - поэтому делает его теоретически немного лучше в облегчении страданий - и, возможно, субъективно ближе к морфину кроме гидроморфона, других производных морфина, ряда на основе кодеина или синтетики. Дигидроморфин может вызывать меньшую зависимость и иметь лучшую биодоступность после перорального приема, чем морфин. Начало действия более быстрое, чем у морфина, и оно также имеет более длительную продолжительность действия, обычно 4-7 часов.

# Тем не менее, это привело к успеху



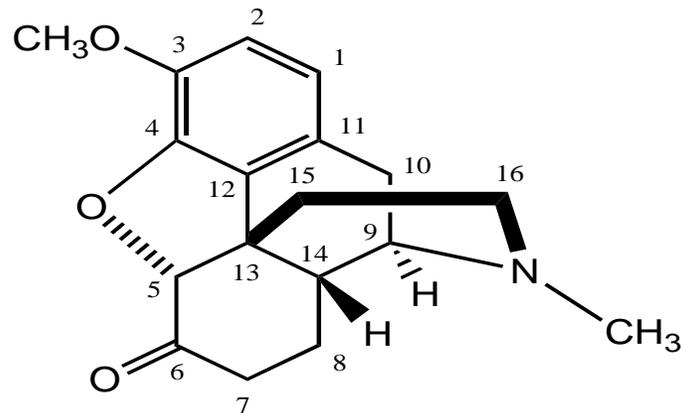
**Dihydromorphine**



**Hydromorphone**  
(7X more potent than morphine)

Гидроморфон - это лекарство, разработанное в Германии в 1920-х годах и появившееся на массовом рынке с 1926 года. Оно используется для облегчения боли от умеренной до сильной и сильного, болезненного сухого кашля. Hydromorphone известен под торговыми наименованиями Hydral, Sophidone, Hydrostat и наиболее широко известен как «Dilaudid †», хотя версия с расширенным выпуском под названием Palladone † SR была доступна в течение короткого времени в Соединенных Штатах, прежде чем она была добровольно снята с рынка после рекомендации FDA, выпущенные в июле 2005 года, предупреждают о высокой вероятности передозировки при приеме с алкоголем; он все еще доступен в Соединенном Королевстве по состоянию на март 2007 года. Еще одна версия с расширенным выпуском под названием Hydromorph Continental®, выпускаемая в виде капсул с контролируемым высвобождением, продолжает выпускаться и распространяться в Канаде компанией Purdue Pharma Inc. в Пикеринге, Онтарио.

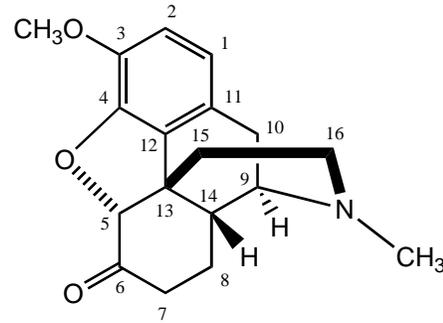
Подобные синтетические манипуляции делают гидрокодон более сильнодействующим, чем кодеин



**Hydrocodone**  
(much more potent than codeine)

**Гидрокодон или дигидрокодеинон (продаваемый как Викодин, Anexsia, Dicodid, Нycodan, Нycomine, Lorcet, Lortab (или Loritab), Norco, Novahistex, Hydroco, Tussionex, Vicoprofen, Ходол) представляет собой полусинтетический опиоид, полученный из двух опиатов, происходящих естественным образом из двух опиатов, происходящих в кодеин и тебаин. Гидрокодон является перорально активным наркотическим анальгетиком и противокашлевым. Продажи и производство этого препарата значительно выросли в последние годы, а также имеют утечку и незаконное использование. Гидрокодон обычно доступен в форме таблеток, капсул и сиропа.**

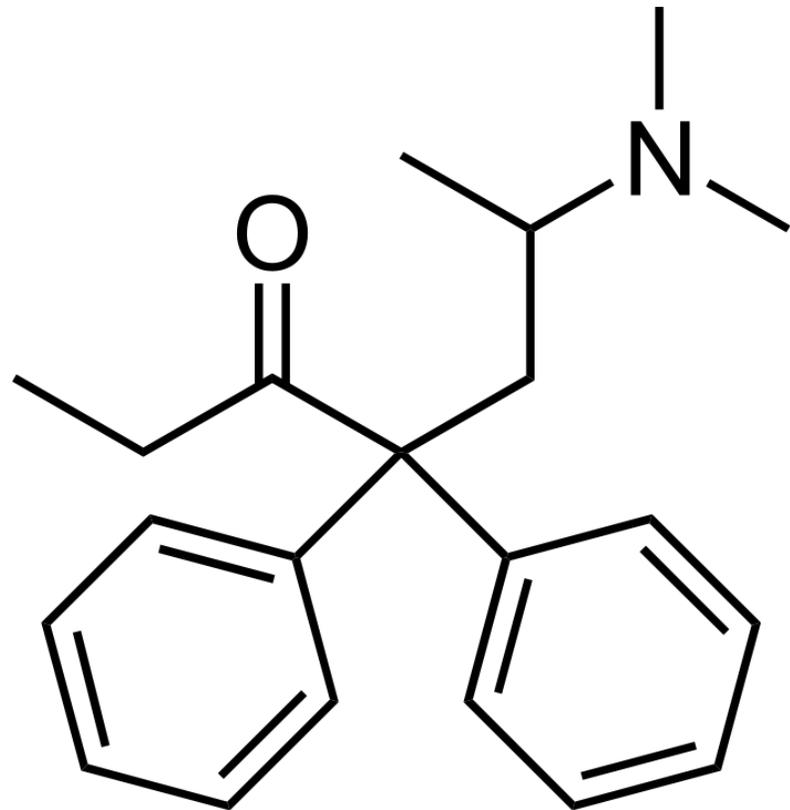
Similar synthetic manipulations make hydrocodone more potent than codeine



**Hydrocodone**  
(much more potent than codeine)

**Hydrocodone** or **dihydrocodeinone** (marketed as [Vicodin](#), **Anexsia**, **Dicodid**, **Hycodan**, **Hycomine**, **Lorcet**, **Lortab** (or **Loritab**), **Norco**, **Novahistex**, **Hydroco**, **Tussionex**, **Vicoprofen**, **Xodol**) is a semi-synthetic [opioid](#) derived from two of the naturally occurring [opiates](#), [codeine](#) and [thebaine](#). Hydrocodone is an orally active [narcotic analgesic](#) and [antitussive](#). Sales and production of this [drug](#) have increased significantly in recent years, as have diversion and illicit use. Hydrocodone is commonly available in tablet, capsule and syrup form.

# Метадон



**Сленговое выражение:** go cold turkey

**Перевод:** резко, полностью покончить с дурной привычкой (наркотиками, алкоголем, и т.п.)

**Пример:**

I decided to go cold turkey and quit smoking.

Я решил резко бросить курить.

Метадон помогает облегчить симптомы отмены. Когда принимается перорально, он занимает опиатные рецепторы (например, героин) (Мейер). В каком-то смысле он действует как героин, уменьшая потребность в большем количестве героина, тем самым уменьшая побочные эффекты отмены (Meyer). Важно отметить, что метадон не обеспечивает каких-либо эйфорических эффектов, которые героин делает при введении.

# ХТА ОПИАТОВ

- Цель
  - Установление факта употребления
- Задачи
  - Какой из наркотиков, кем и когда произведен
  - Имело ли место применение препарата по медицинским показаниям
  - Интерферирующие вещества в матрице
  - Или попадание с продуктами питания
  - Количественное определение

# Доказательства отравления опиумом

- При обнаружении морфина м. возникнуть вопрос, не является ли источником отравления опий. Основой для суд.-мед. установления факта отравления опия служит клиническая картина, аналогичная наблюдаемой при отравлении морфином, обнаружение в крови морфина в кол-ве около 0,0005 г/л, а также одновременное обнаружение др. опийных Ал. Иногда в ЖКТ обнаруживаются семена опийного мака. Обнаружение опия при ХТА сводится к обнаружению морфина, кодеина, меконовой кислоты, с которой морфин связан в растении, меконина и наркотина, сопровождающего морфин в опиум в значительных кол-вах.
- При исследовании биоматериала на наличие опиума при ХТА в вытяжках определяют наличие морфина, кодеина и наркотина.
- При исследовании биоматериала на героин определяют наличие 6МAM

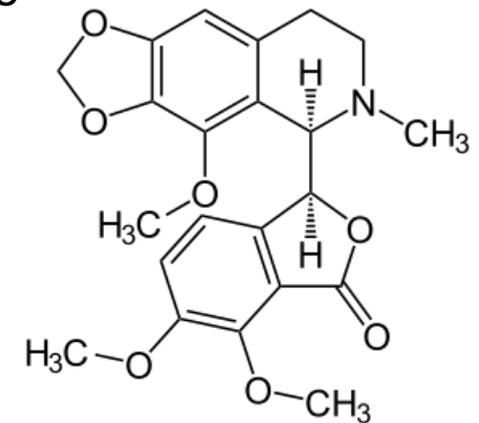
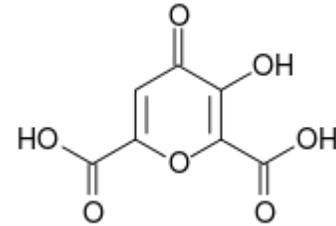
## Классификация методов исследования по их структурной информативности (SWGDRUG, 1999)

Категория А	Категория В	Категория С
Масс спектрометрия	Тонкослойная хроматография	Цветные тесты
ИК спектроскопия	Микрористаллические тесты	Иммунные методы
Спектроскопия ядерного магнитного резонанса	Газовая хроматография	Точка плавления
	Жидкостная хроматография	УФ спектроскопия
	Спектрометрия ионной подвижности	Флуоресценция
	Капиллярный электрофорез	
	Только для конопли: Ботаническое исследование (макро и микро)	

**Варианты использования**  
**A + (A или B или C)**  
**B + B + (B или C)**  
**Комбинированные методы, типа ГХ-МС,**  
**рассматриваются как два отдельных метода**

# Изолирование.

- Для обнаружения опиума в препаратах производят водное извлечение.
- **Меконовую кислоту и меконин** *изолируют* из биоматериала подкисленным HCl (или H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) спиртом. Вытяжку сливают с твердых частиц биоматериала и фильтруют, а затем фильтрат на водяной бане выпаривают досуха (до небольшого объема). Остаток обрабатывают водой, фильтруют и фильтрат повторно взбалтывают в делительной воронке с бензолом для удаления посторонних в-в, затем водную часть кипятят с избытком MgO для перевода меконовой кислоты в ее магниевую соль и горячий р-р фильтруют. Бензольную вытяжку выпаривают досуха. Сухой остаток исследуют на наличие меконина.
- **Наркотин** экстрагируется хлороформом и 1,2-дихлорэтаном при pH=5,0-7,0 (из щелочных и из кислых р-ров). Для нахождения наркотина имеет значение предварительное отделение морфина при помощи растворения его в избытке NaOH. Отделение основано на фенольном характере морфина. Для этого остаток после извлечения хлороформом из щелочного р-ра обрабатывают небольшим количеством разведенной HCl, подщелачивают NaOH и повторно извлекают небольшими порциями хлороформа. Хлороформную вытяжку фильтруют, хлороформ выпаривают и производят реакции на наркотин.



### ***Качественное обнаружение меконовой кислоты.***

1. С  $\text{FeCl}_3$ . - появляется кроваво-красное окрашивание.
2. УФ-спектроскопия. Водный р-р меконовой кислоты имеет максимумы поглощения при 210, 284 и 303 нм.

***Качественное обнаружение меконина.*** С конц.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (несколько кап) сухой остаток меконина дает зеленую окраску, которая за 2 суток переходит в красную. При слабом нагревании р-ра, имеющего зеленую окраску, появляется изумрудно-зеленая окраска, переходящая в фиолетовую, а затем в красную.

### ***Качественное обнаружение наркотина.***

1. Наиболее характерна реакция с конц.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , в которой наркотин растворяется с желтым окрашиванием, быстро переходящим в желто-красное, а через несколько дней в вишнево-красное. Эта реакция при наличии посторонних в-в не является достаточно доказательной.
2. С конц.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , + следы конц.  $\text{HNO}_3$  - наблюдается красное окрашивание.
3. С реактивом Фреде вначале дает нехарактерное синевато-зеленое окрашивание, но при избытке молибдата аммония или натрия и при нагревании окрашивание переходит в вишнево-красное.
4. С реактивом Марки дает фиолетовое окрашивание, быстро переходящее в зеленое и желтое.
5. Ацетат натрия, в отличие от др. Ал опия, осаждает наркотин.

# Объекты ХТА:

- У живого лица - моча, кровь, рвотные массы, промывные воды, волосы, слюна, пот, меконий новорожденных
- У трупа - моча, кровь, желудок и кишечник (толстый и тонкий) с содержимым, почка, головной и спинной мозг, печень с желчным пузырем, селезенка, легкие, подкожно-жировая клетчатка в области инъекции, жидкость из перикарда, стекловидное тело глаза. При отсутствии образцов крови рекомендуется ткань мышцы бедра. Эта ткань устойчива к бактериальной инвазии и характеризуется слабой диффузией морфина в период после смерти.
- Допускается консервирование внутренних органов формалином в течение 7 сут, опиаты дольше всего сохраняются в печени

# ИЗОЛИРОВАНИЕ

- **Изолирование** опийных Ал из биоматериала производится подкисленным спиртом или водой с последующей экстракцией орг.растворителем из щелочной вытяжки. Учет рН среды в процессе изолирования и экстрагирования Ал (метод Крамаренко) позволяет обнаружить в 2 раза больше морфина. Из водных р-ров морфин экстрагируется изоамиловым спиртом; хлороформом.
- *Тебаин* в значительном кол-ве экстрагируется из кислой среды.
- *Дионин (99%)* извлекается из щелочных водных р-ров при трехкратном экстрагировании хлороформом.

*Экспресс-метод изолирования морфина из мочи и крови*  
разработан А.Ф. Рубцовым и Е.М.Соломатиным, и позволяет  
извлекать 83% морфина из крови и 71,3% из мочи

- **Изолирование опиатов из мочи проводят в 2 этапа:**
- 1) Выделение свободных морфина, кодеина, героина и 6-МAM путем прямой экстракции 10 мл мочи при pH 9,0 с помощью 50 мл смеси хлороформ-н-бутанол;
- 2) Выделение общего морфина и общего кодеина (высвобождение из конъюгатов с глюкуроновой кислотой) после предварительного кислотного гидролиза 10 мл мочи с 2 мл конц.HCl на кипящей водяной бане 30 мин, с последующей экстракцией смесью хлороформ-н-бутанол.
- Очистка и концентрирование аликвот полученных экстрактов проводили реэкстракцией в 0,5 М HCl, затем после отделения водной фазы и доведения ее до pH 9,0 (карбонатный буфер) экстрагировали ее смесью хлороформ-н-бутанол по 10 мл 2 раза.

# Кодеин

- в отличие от морфина экстрагируется *эфиром* из водных р-ров, подщелоченных NaOH (pH=8,0-8,5), что используется для отличия и отделения морфина от кодеина. Морфин не экстрагируется и образует морфинат.
- *Методика изолирования кодеина из мочи.* В делительной воронке 50 мл мочи, подщелаченной р-ром аммиака до pH=10, взбалтывают 5 мин с 50 мл хлороформа. Хлороформную вытяжку отделяют от водной фазы, взбалтывают с 3 мл воды 3 мин. Водную фазу отделяют от хлороформа, фильтруют через безводный  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и выпаривают досуха. Сухой остаток растворяют в 1 мл этанола и исследуют.

# КАЧЕСТВЕННОЕ ОБНАРУЖЕНИЕ

## Кодеин:

- 1. С *общеалкалоидными реактивами* дает осадки, чаще всего аморфные, редко кристаллические.
- 2. С *p-ром пикролоновой кислоты* образуется желтый аморфный осадок, который при стоянии становится кристаллическим. Чув-сть 13 мкг.

Качественные реакции  
Либермана – черный,

Манделина - зеленая, переходящая в синюю

Фреде - синяя, затем зеленая Хлорид железа (III) - синяя

Эрдмана - нет окраски, при нагревании синяя Арсенат калия - синяя Азотная кислота (конц.) - желтый

Марки - фиолетовый

- Дионин: С хлоридом окисной ртути (5%) выпадает осадок из тонких бесцветных пластинок.
- Героин нативный дает с *гексахлороплатиновой кислотой* характерный кристаллический осадок из желтых игл. Чув-сть - 0,07-0,05 мг героина в пробе.

# КАЧЕСТВЕННОЕ ОБНАРУЖЕНИЕ

- **Микроскристаллические реакции.**
- *Методика:* Сухой остаток на предметном стекле растворяют в капле 0,1 н HCl и + капли реагента.
  
- **Морфин.** С общеалкалоидными реактивами:
  - 1. ***Р-р йода в KI (реактив Вагнера)*** дает характерный кристаллич. осадок – красно-оранжевого цвета. Чув-сть реакции 0,03мг.
  - 2. С йодидом кадмия (10%) дает белый осадок.
  - 3. С хлоридом окисной ртути (5%) - характерные пучки из игл.
  - 4. ***С солью Рейнеке*** образует сиреневые кристаллы. Чув-сть 2 мкг.

# Цветные реакции

**Методика:** Несколько кап исследуемого хлороформного р-ра в 5 фарфоровых чашках или пластинках выпаривают при комн. t° досуха. К сухим остаткам + по 1 кап реактивов.

Реактив	Морфин	Кодеин	Героин	Апоморфин	Дионин	Наркотин	Папаверин
1. Реактив Марки: конц. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> +формальдегид	Красно-фиолетовое окрашивание	Фиолетовое окрашивание	Красно-фиолетовое окрашивание	фиолетовое быстро → грязно-зеленое	зеленое → синее → фиолетовое	Фиолетовое → и зеленое желтое окрашивание	фиолетовое
2. Реактив Фреде: конц. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> +молибденовая кислота	Фиолетовое окрашивание → бледно-розовое	Синяя зеленая →	Красно-фиолетовое окрашивание	грязно-зеленое	Зелено-синее	Синевато-зеленое → вишнево-красное окрашивание	Сине-зеленое
3. Реактив Манделина		Грязно-зеленая → синяя					
4. Конц. HNO <sub>3</sub>	крово-красная желтая →	желтая					
5. Реактив Эрдмана конц. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> +конц. HNO <sub>3</sub>	Желтая окраска	нет окраски,				Красная окраска	
6. Реакция Пеллагри	+	+	+	+	+		

# *I. Реакция Пеллагри на апоморфин.*

- При нагревании морфина, кодеина, дионина, героина с конц. HCl и H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> они превращаются в *апоморфин*.
- *Методика реакции Пеллагри.* К полученному р-ру апоморфина осторожно (по каплям) вносят спиртовый р-р йода, появляется зеленая окраска. Далее добавляют 0,5-1,0 мл диэтилового эфира и взбалтывают, водный слой сохраняет зеленую окраску, а эфирный - приобретает пурпурно-красную окраску.

# Специфические цветные реакции на отдельные опиаты

Специфические цветные реакции на морфин. Вследствие наличия спиртового гидроксила морфин обладает восстанавливающей способностью.

- 1. С  $\text{FeCl}_3$  морфин дает синюю окраску.
- 2. Реакция с гексацианоферратом калия и  $\text{FeCl}_3$  с образованием берлинская лазурь.
- 3. Реакция с йодноватой кислотой – фиолетовый цвет.
- 4. Морфин дает флюоресцирующий продукт голубого цвета с аммиачным р-ром ферри-ферроцианида калия. 6-МAM (> 0,3-0,5 мкг) образует димер при окислении феррицианидом калия в щелочной среде и смешанный димер с морфином, которые дают желто-сероватое свечение

Специфические цветные реакции на кодеин и дионин.

- 1. С реактивом [Либермана](#) – черное окрашивание;
- 2. Реакция с арсенатом калия синяя окраска.
- 3. Реакция с сахаром в присутствии  $\text{H}_2\text{SO}_4$  – красная окраска.

Специфические реакции на героин. Под влиянием щелочей или конц.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , при нагревании с водой героин легко гидролизуется на морфин и уксусную кислоту, благодаря чему при ХТА после извлечения подкисленной водой или спиртом обнаруживается продукт его гидролиза - морфин. Поэтому героин дает все реакции морфина.

- 1. При исследовании нативного героина после реакций, общих с морфином, проводят реакцию на уксусную кислоту: героин растворяют в спирте, + конц.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , и смесь нагревают на водяной бане; ощущается запах этилацетата.
- 2. Пробу с р-ром феррицианида калия и сульфата меди.

4. Специфические цветные реакции на апоморфин.

- Апоморфин с  $\text{FeCl}_3$  дает розово-красное окрашивание, быстро переходящее в фиолетовое, а затем в черное.

## **БЛОК-СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ МОЧИ**



# ТСХ-анализ опиатов

- Для подтверждения результатов цветных реакций необходимо провести ТСХ испытуемого р-ра. Анализ мочи и крови на опиаты методом ТСХ широко используется в практике ХТА лабораторий.
- При ТСХ-скрининге опиатов обязательно добавление щелочных агентов (диэтиламин, аммиак) для устранения взаимодействия ионнообменного взаимодействия

# Методика ТСХ-анализа опиатов

- На стартовую линию ТСХ-пластинок ПТСХ-ПА наносят в виде точек аликвоты хроматографически очищенных экстрактов из гидролизованной и негидролизованной мочи, эквивалентные 0,5 и 0,1 мл мочи. Для перенесения остатков экстрактов на ТСХ-пластинки используют смесь абс. этанола с хлороформом или метанол-хлороформ.
- На стартовую линию той же пластинки наносят метчики - р-ры морфина, кодеина, героина, 6-МAM в этаноле, пятно каждого анализа отдельно. Хроматографируют в предварительно насыщенных в течение 40-50 мин соответ. растворителями хроматографических камерах с бумажными вкладышами. Фронт растворителя 7,5-10 см.
- Исследование методом ТСХ начинают хроматографированием в системах растворителей 1 или 8 (ацетонитрил-хлороформ-этилацетат- $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ). Полученную хроматограмму высушивают при  $40^\circ\text{C}$  для удаления растворителя и аммиака и проводят реакции обнаружения.
- При положительном результате анализа в системе растворителей 1 или 8 дальнейшее исследование экстрактов производят в системе 4 (этилацетат-метанол- $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) или 3 (этилацетат-абс.этанол- $\text{NH}_3$ ). Де-тектирование зон опиатов проводили реактивом Драгендорфа в модификации Мунье, йодплатинатным кислым реактивом, реактивом Марки и Фреде.
- Наиболее чувствительными реактивами детектирования морфина, кодеина, героина, 6-МAM являются йодплатинатный реагент и реактив Драгендорфа в модификации Мунье. В случае отрицательного результата эти 2 реакции имеют отрицательное суд.-хим. значение

## Состав хроматографических систем, выбранных для изучения, их оценка с учетом разрешения R

Хроматографические системы	Разделяемые соединения				
	Героин-б-МAM	Героин-кодеин	б-МAM-кодеин	Кодеин-морфин	Кодеин
1 – толуол-ацетон-этанол-25% NH <sub>3</sub> •H <sub>2</sub> O (45:45:7:3);	1,41	1,79	1,07	1,71	0,4 (Merk)
2 – этилацетат-метанол-25% NH <sub>3</sub> •H <sub>2</sub> O (85:30:10 или 17:6:2);	0,50	1,81	1,46	1,69	
3 – этилацетат-абс.этанол-25% NH <sub>3</sub> •H <sub>2</sub> O (90:30:10 или 18:6:2); или	0,66	2,00	1,82	2,00	
4 – этилацетат-метанол- 25%NH <sub>3</sub> •H <sub>2</sub> O (17:2:1)	1,14	2,00	1,50	1,69	
5 - этилацетат-абс. этанол-25%NH <sub>3</sub> •H <sub>2</sub> O (85:10:5 или 17:2:1);	1,14	1,86	1,39	1,71	
6 – этилацетат-абс.этанол-25% NH <sub>3</sub> •H <sub>2</sub> O (85:10:15 или 17:2:3);	1,00	1,85	1,57	2,30	
7 – ацетонитрил-бензол-этилацетат-25% NH <sub>3</sub> •H <sub>2</sub> O (40:30:25:4);	1,49	1,88	1,00	1,33	
8 – ацетонитрил-хлороформ-этилацетат-25% NH <sub>3</sub> •H <sub>2</sub> O (8:6:5:1);	1,82	2,93	2,16	2,36	
9 – диоксан-хлороформ-этилацетат-25% NH <sub>3</sub> •H <sub>2</sub> O (60:25:10:5);	0,93	1,50	0,96	1,60	
10 - этилацетат-циклогексан-абс.этанол-25% NH <sub>3</sub> •H <sub>2</sub> O (70:15:10:5)	1,00	2,25	1,50	2,00	
11. эфир-ацетон-25% аммиак (40:20:2)					0,18
12. метанол-аммиак (100:1,5)					0,33 (Siluf.)
13. хлороформ-метанол (90:10)					0,37 (Merk)
14. бензол-этанол-три(ди)этиламин (9:1:1)					0,46(Сорб) 0,34(Сил)
15. гексан-хлороформ-диэтиламин (9:9:4)					0,17(Сорб) 0,16(Сил.)

Значения величин R<sub>f</sub> смесей опиатов на пластинках сорбфил ПТСХ-ПА в различных системах ТСХ.

Смесь веществ разделяется в ТСХ-системе удовлетворительно, если R<sub>f</sub>>1,5. Как видно из табл. 2, наиболее сложной для разделения парой при ТСХ-анализе является героин-б-МAM. Наиболее эффективной является система 8 и, в меньшей степени, система 1. Во всех остальных системах растворителей героин и б-МAM образуют одну зону. Морфин-кодеин-героин в системах 1-4, 6, 7, 9, 10 разделяются удовлетворительно.

Обнаружение опиатов на хроматограммах м. проводить при последовательном применении 2 разных реакций на одной и той же пластинке. При этом порядок проведения реакций обнаружения следующей:

- **1-ю** хроматограмму опрыскивают йодплатинатным кислым реактивом;
- **2-ю** - сначала FeCl, затем (не менее чем через 30 мин) - реактивом Драгендорфа по Мунье;
- **на 3-й** пластинке сначала проводят реакцию образования псевдоморфина, затем, через 40-50 мин, - пробу Марки-Манделина или Марки.
- Заключение об обнаружении опиатов методом ТСХ дается на основании выявления на хроматограммах зон, совпадающих по значению  $R_f$  и характеру окрашивания с хромогенными реактивами с зонами стандартных р-ров метчиков морфина, кодеина, героина.

При проведении и интерпретации результатов ТСХ-анализа экстрактов из мочи и ее гидролизатов на опиаты следует учитывать следующие факторы.

- 1. Наличие в экстракте мочи примесных веществ
- 2. Кратность хроматографирования в одной системе.
- 3. Вид растворителя.
- 4. Вид и последовательность применения реактивов обнаружения опиатов.
- 5. Количество вносимого на ТСХ-пластинку вещества (аликвота).

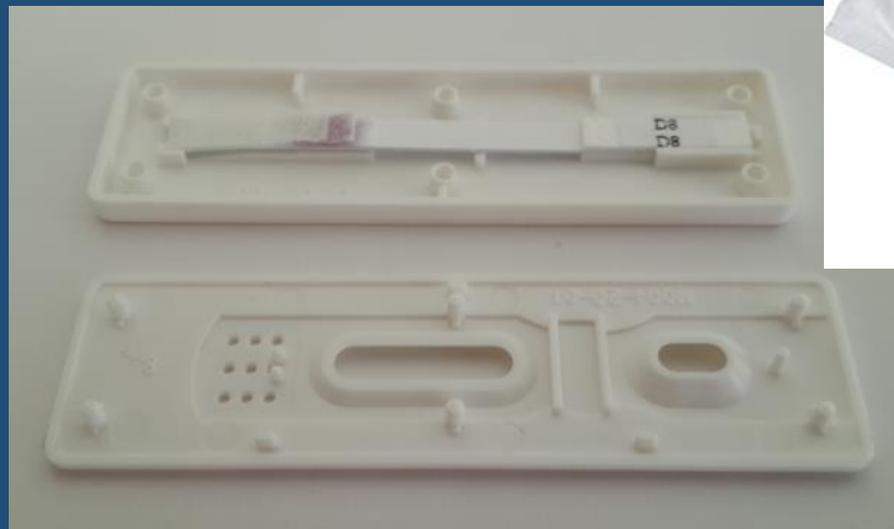
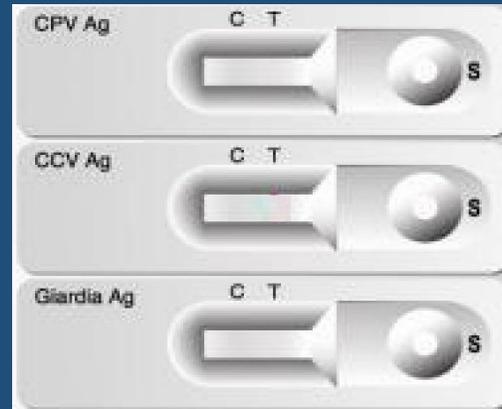
# *Иммунологические методы*

- **1. Радиорецепторный анализ опиатов.**
- **2. Метод ИФА.** Особое преимущество – применение для трупной крови и мочи. Может быть использован для качественного, и для количественного анализа на опиаты. Метод ИФА на наркотики является предварительным и должны подтверждаться хроматографическими методами с колич.определением опиатов.
- **3. Метод сухой иммунохимии (тест-полоски).**
  - *Принцип метода.* Введенные морфин и его метаболиты конкурируют с морфином, иммобилизованным на пористой мембране иммунохроматографической пластинке. АГ реагируют со специф. моноклональным АТ к морфину, связанным с молекулами золота. Комплекс АГ-АТ реагирует конкурентно с иммобилизованным АТ, при этом полоска розового цвета в тестовой зоне не проявляется – 1 полоска – уровень морфина в моче 300 нг/мл и более.

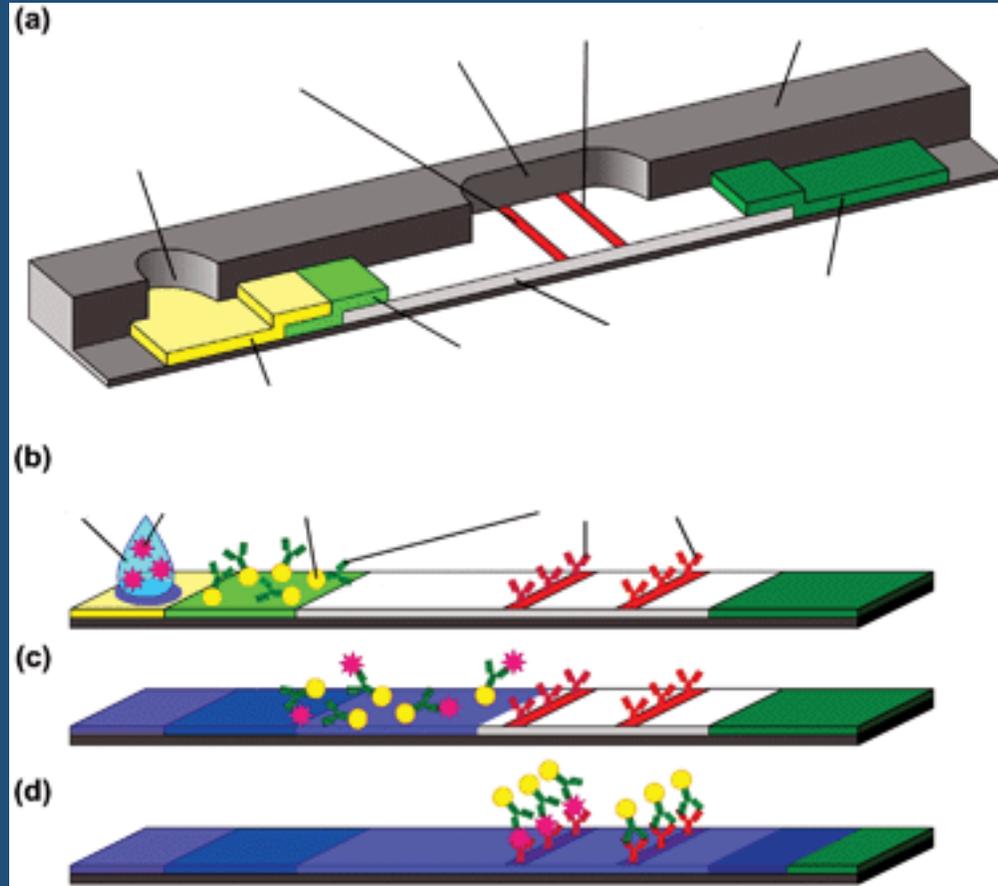
# Типы быстрых тестов

- Иммунохроматографические (ИХА) :  
много производителей
- Иммуноферментные (ИФА):  
Idexx SNAP, Biogal ImmunoComb

# Экспресс-тесты – ИХА: внешний вид



# Что такое экспресс-тест ИХА?



- В основе теста лежит метод иммунохроматографического анализа (ИХА). В результате теста происходит классическая реакция "антиген-антитело" с образованием иммунных комплексов, которые можно визуальнo обнаружить на тест-полоске.
- Принцип действия состоит в том, что при погружении тест-полоски в биологическую жидкость (или другой жидкий образец), она начинает мигрировать вдоль полоски по принципу тонкослойной хроматографии. Вместе с ней движутся нанесенные на нижнюю часть тест-полоски меченые специфические антитела, которые аффинно (прочно и родственно) связываются с анализируемым веществом.

# Основными преимуществами использования иммунохроматографических тестов являются:

## Быстрота:

- Одношаговая процедура с получением результата обычно в течение 10-15-20 минут.

## Удобство:

- Простой в использовании и легкий в прочтении результатов

## Однако иммунохроматографические тест-полоски не лишены недостатков.

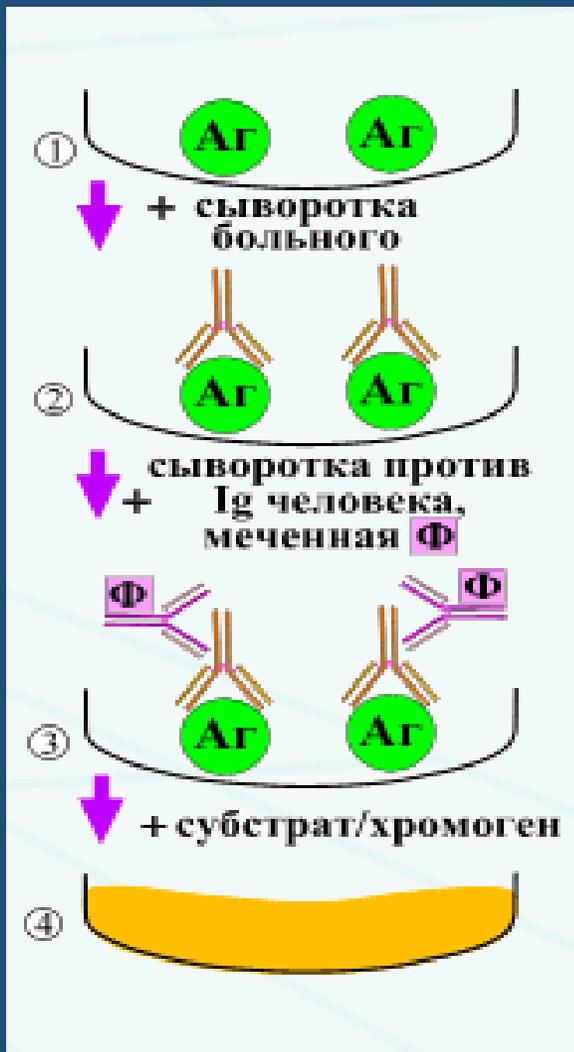
Касается это, в первую очередь, *надежности и чувствительности* тестов.

- *Надежность и чувствительность* зависит, во-первых, от качества используемых в тесте реагентов и, во-вторых, от концентрации антигена в биоматериале.
- *Качество используемых реагентов* зависит от способов их получения, очистки и фиксации на полоске.
- *Концентрация антигена* – от стадии заболевания и количества биоматериала.
- *Количество биоматериала* особенно важно при использовании цельной крови.
- Существенную роль играет *гематокрит*, т.е. соотношение плазмы и форменных элементов. *При высоком гематокрите снижается* доля элементов антигена из плазмы по сравнению с форменными элементами

## Кроме того:

- ИХА-тесты обеспечивают только **качественный результат** (да - нет), измерение концентрации невозможно. При некоторых заболеваниях, они могут быть малоинформативными (например FIP).
- Экспресс-тесты (антигенные) **«работают» только в течение ~ 3-7 дней** после заражения (только при первоначальном воздействии антигена на организм животного) ( вирусные заболевания).
- Минимальная определяемая ИХА концентрация антигена или антител сильно выше, чем у ИФА, что может давать **«ложноотрицательный»** результат на ранней стадии, поскольку уровень антигена/антител может быть **слишком низким**, чтобы обнаружить заболевание на ранней стадии.
- Большой процент **«ложноположительных»** результатов, что мешает при исследовании животных на вирусоносительство.

# Что такое ИФА-анализ (ELISA) ?



Основной *отличительной чертой* иммуноферментного анализа является то, что **комплекс «антиген-антитело»** выявляется с помощью **субстрата**, который расщепляется ферментом с появлением окрашивания (ферментативное окрашивание).

При ферментативном окрашивании для достижения окраски требуется меньшее количество комплексов антиген-антитело, так как каталитические свойства ферментов позволяют действовать им в качестве усилителей: одна молекула фермента может способствовать образованию более  $1 \cdot 10^5$  молекул продукта каталитической реакции в минуту, что обуславливает высокую чувствительность ИФА.

## Основными преимуществами использования ИФА- тестов являются:

- Иммуноферментный анализ – более надежный и чувствительный метод для поиска антител и антигенов и оценки их концентрации.
- Обеспечивает не только качественный, но и количественный результат.
- Определяет относительный уровень титра - диагностирует болезнь, *на гораздо более низком уровне титра*, чем положительное пороговое значение в ИХА - тестах.
- Позволяет подтверждать *подозрительные случаи* заболевания, за которыми в дальнейшем может быть изменение титра.

**ИФА – анализ более точный** в определении, он позволяет не только диагностировать заболевание , но и определить его стадию и отследить динамику развития болезни.

## Однако, у классического ИФА - анализа есть свои сложности и недостатки:

- Длительность и сложность постановки по сравнению с ИХА – методом и невозможность количественного учета результатов без специального оборудования.
- Необходимо большое количество образцов (8-96) для постановки анализа.
- Требуется специальная подготовка специалистов
- Высокая стоимость оборудования для оснащения лаборатории.

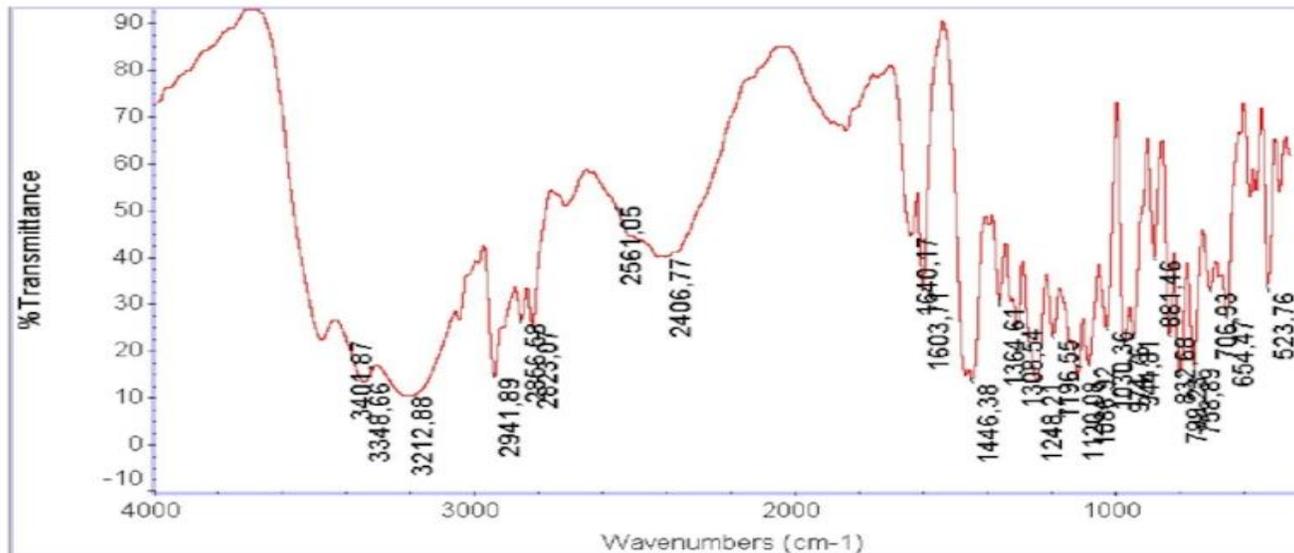
# УФ- и ИК-спектроскопия опиатов

- **КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ**
- **1. Спектрофотометрические методы.**
- 1. *ФЭК-метод* определения **морфина** основан на определении комплекса морфина с кремнемолибденовой кислотой, обладающего синей окраской (по В.Ф.Крамаренко).
- 2. *Экстракционно-фотоколориметрический метод* определение **кодеина** основан на реакции с тропсолином 00, при которой образуется ионный ассоциат, экстрагирующийся хлороформом.

# УФ- и ИК-спектры опиатов

В-во		Максимум УФ-спектра, нм	Пики ИК-спектра (см <sup>-1</sup> )	Масс спектрометрия m/z
Морфин	Основание	287 (этанол), 296 (0,1н NaOH), 284 (0,1н H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	805, 1243, 1448 и 945 (KBr)	
	Гидрохлорид, сульфат	285 (вода)		
Кодеин		285 (вода)	1052, 1500, 1268, 1111, 793, 934	299, 42, 162, 124, 59, 300, 69
Апоморфин				

ИК-спектр морфина гидрохлорида



# Хроматографические методы

**1. Метод капиллярной ГХ.** Скрининг-анализ образцов мочи на содержание в них опиатов Ал проводится методом радиорецепторного анализа (РРА), затем наличие опиатов подтверждается методом капиллярной ГХ. Этими 2 методами анализируют все образцы мочи, объем которых является недостаточным для анализа ТСХ ("малые объемы"). Комплексное применение этих методов дает высокую чув-сть, высокую достоверность результатов анализа и высокую воспроизводимость результатов (92-94%).

**3. Методы ГЖХ и ВЭЖХ.** Разработаны методики определения Ал опия и их производных (морфин, кодеин, 6-МAM и др.) в крови, моче и волосах человека, методики одновременного определения смеси нативных опиатов, их метаболитов и смесей пиатов с другими веществами и лекарствами (биогенные амины, дилаудид, налтрепсон, налоксан, гидроморфон, метаклопрамид) в крови, в моче, спинномозговой жидкости и обособленных областях мозга в эксперименте у крыс. В качестве внутренних стандартов использованы дигидроморфинон, диазепам, налорфин, N-этилморфин, кофеин и 3,4-дигидроксibenзиламин. Анализ проводился за 10-15 мин.

Для повышения чув-сти детектирования предложено получать дансильные производные Ал в обычном или автоматическом режимах. Показана возможность использования прямого ввода пробы или введения в колонку парофазной системы надосадочной жидкости.

В анализе Ал опия и их производных в различных объектах в основном использовали обращенно-фазовый вариант ВЭЖХ, реже - нормально-фазовый режим. Метод ВЭЖХ с масс-спектрометрией хим.ионизации при атмосферном давлении.

Ввиду малых концентраций в-в в биообъектах использовалось более чувствительное детектирование: электрохимическое, флюориметрическое и хемолюминесцентное с пределами обнаружения 200пг-2нг, 10пг-1нг, 50пг - 5 нг соотв-но. Например, морфин и 6-МAM образуют флюоресцирующие комплексы с ферри-ферроцианидом, которые детектируются методом ВЭЖХ.

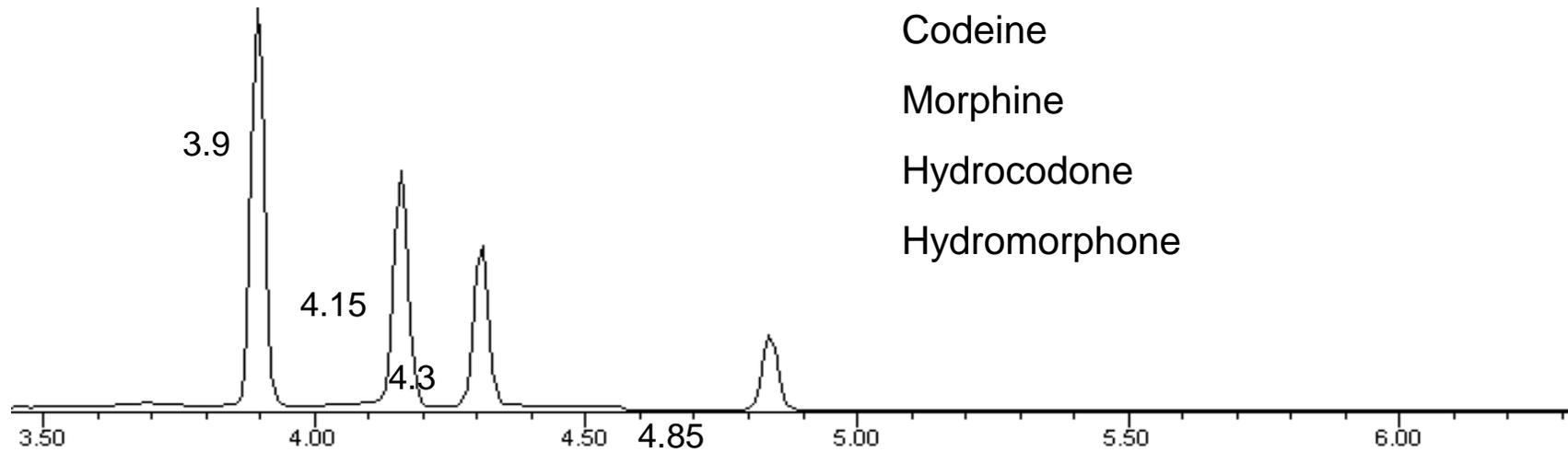
Метод ВЭЖХ еще не нашел должного применения в анализе Ал опия, выделенных из трупного материала, а также в случаях их комбинированного применения с др. в-вами. Реализация приведенной перспективы значительно повысит эффективность хим.-токсикол. и суд.-хим. экспертиз.

# Ultra High Productivity Drug Analysis with the 5973 GC/MSD



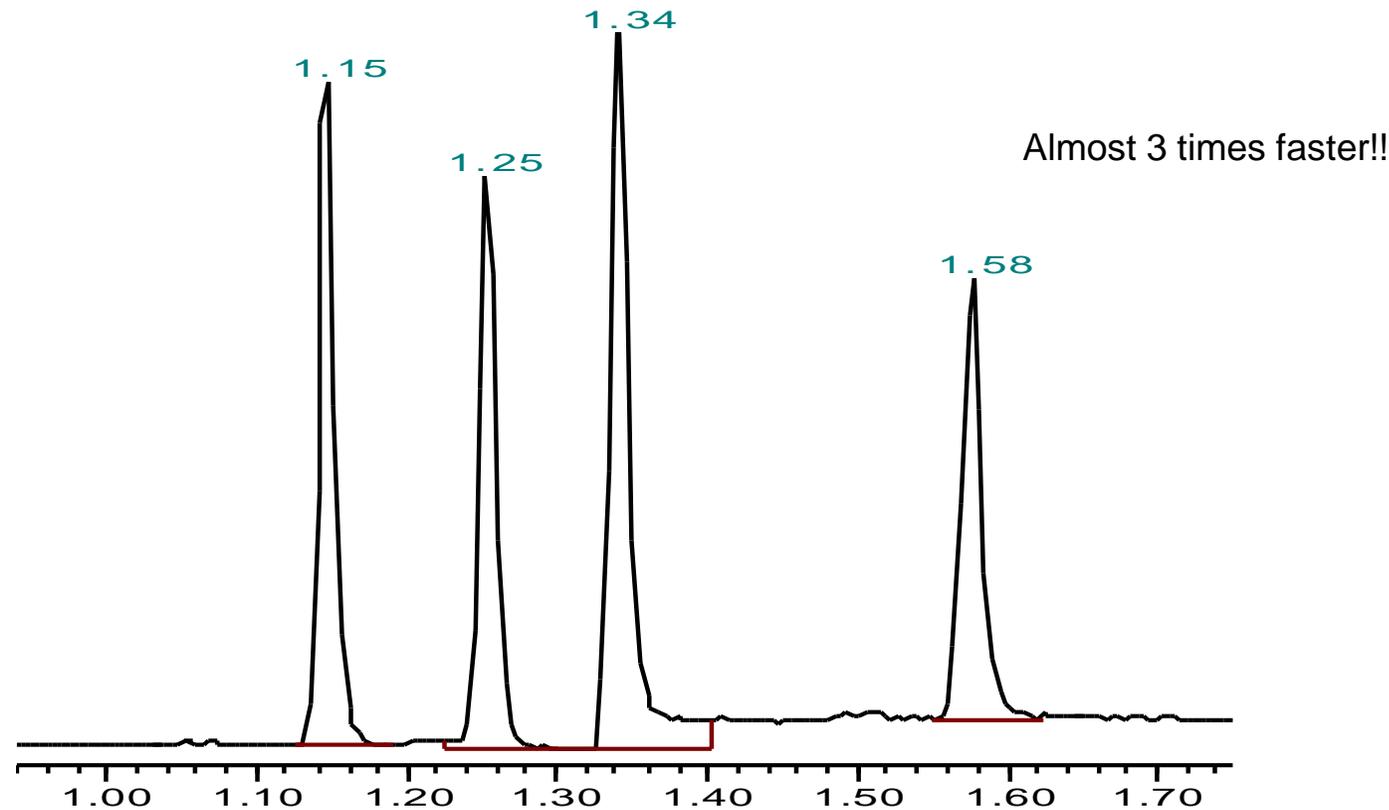
# Standard Opiates Analysis

4.9 min Retention Time



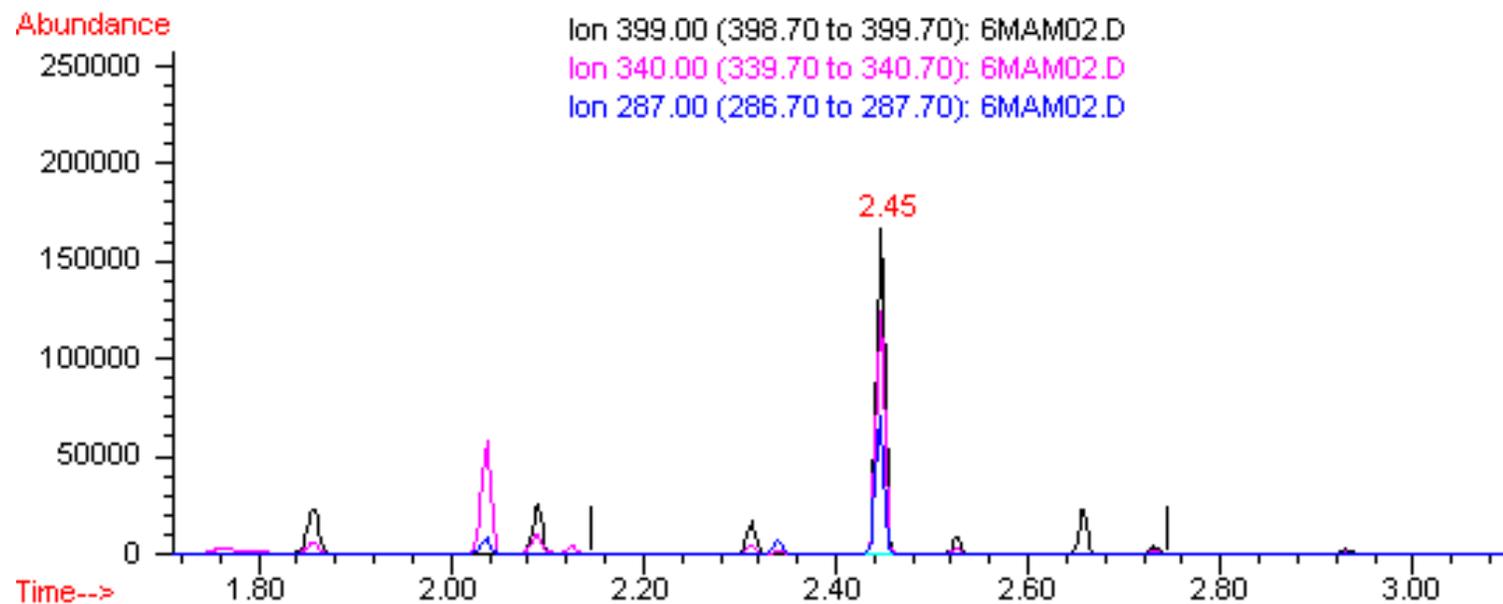
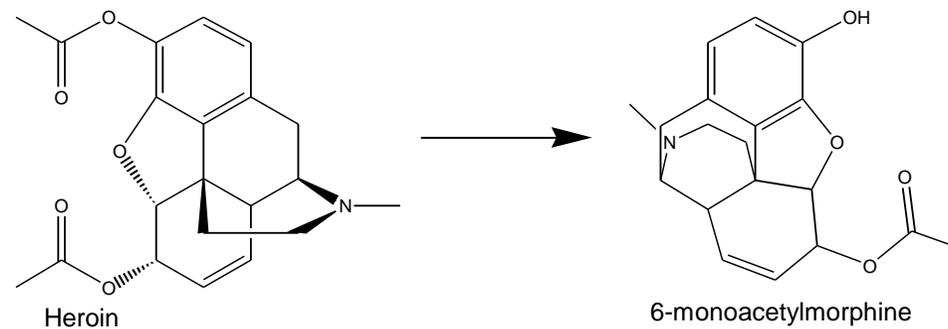
# Fast Opiates Analysis

0.1  $\mu$ l Injection, 10:1 Split



# Heroin: 6-monoacetylmorphine

0.2  $\mu$ l Splitless, 10 ng/ml "Cutoff"



# Fast Chromatography Summary

	<u>Retention Times</u>
• THCA	2.3 min, splitless
• Opiates	1.5 min
• Barbituates	2.7 min
• Amphetamines	1.3 min
• BE	0.9 min
• Benzodiazepines	4 min
• d,l-Methamphetamine	3 min
• 6-MAM	2.4 min, splitless
• PCP	1 min

**Дозы опиатный наркотики и их содержание в крови, моче..**

Дозы	Морфин	Кодеин	Героин	Опий
1. разовая (по данным Н.В. Веселовской и А.Е. Коваленко)	10-30 мг (при толерантности 250 мг/сут и выше). Хлорид морфина - 175 мг/кг, аскорбината морфина - 190 мг/кг	10-50 мг	5-10 мг обычная доза героина 10-40 мг, "уличная" - до 100мг (для наркоманов с сильной толерантностью - до 2 г/сут)	
2. токсическая	п/к 0,1г (взрослые)			
3. ЛД (по данным Е.А.Лужникова и Л.Г. Костомарова)	при приеме внутрь – от 0,1--0,3 до 1,4 г; при парентеральном введении - >0,1г	0,5-0,8г; 400 мг (дети)	в/в – от 50-75 до 200 мг (взрослые) 20 мг (дети)	≈2-3 г (здоровый взрослый) 1-10 кап настойки опия (грудной ребенок)
Среднесмертельная концентрация, в т.ч. при передозировке	0,05-4 мг/л в плазме 0,2-2,3 мг/л в крови 0,1-120 мкг/мл в моче 5-175,3 мкг/мл – в желчи 0,2-0,4 мкг/г в мышцах 0,4-18 мкг/г в печени 0,7-1,51 мкг/г – почки 0,02-0,60 мкг/г – мозг 0,2-8,7 мкг/г - лимфоузлы 20-140мкг/г – ликвор 10-125 нг/мл - стекловидное тело глаза Метаболиты в крови: гидроморфина - 1-3 мг/л; М-6-Г - 0,3-2,3 мкг/мл, М-3-Г - 0,5-5,8 мкг/мл.	мкг/мл кровь - К (0,1-48) и М (0,1-0.7); моча К (3,2-370) и М (0,1-70), желчь К (0,1-139) и М (0,1-139). (мкг/г) почки К (0,1-36,3) и М (0,1-12,4), печень К (0,1-45) и М (0,1-64).	Кровь - 6-МАМ - 0-83 нг/мл Моча (нг/мл) – ДАМ (0-97), 6-МАМ (5,6-2756),	

# Исследование волос и ногтей на опиаты



# ВЫСОКОЭФФЕКТИВНАЯ ЖИДКОСТНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ ГЕРОИНА

Хроматограмма героина и его основных компонентов

