

Лекция № 5

Химико-токсикологический
анализ тропановых
алкалоидов, каннабиноидов и
фенилалкиламинов



FLUID EXTRACTS AND TINCTURES

CANNABIS, U.S.P. (American Cannabis)
 Fluid Extract No. 598.....(Alcohol 80%)..... 500



Fluid Extract Cannabis, in common with other of our products that cannot be accurately assessed by chemical means, is tested pharmacologically and made to conform to a standard that has been found to be, in practice, reliable. Every package is stamped with the date of manufacture. Pharmacological examination was conducted by Parke, Davis & Co.

This fluid extract is prepared from Cannabis sativa grown in America. Extensive pharmacological and clinical tests have shown that its medicinal action cannot be distinguished from that of the fluid made from imported East Indian cannabis. Prescribed under medical profession's care.

Average dose, 1-4 min. (0.1 cc). Narcotic, analgesic, sedative.

For quantities per bottle add 90c. per 100 to the price given for price.

INHALE

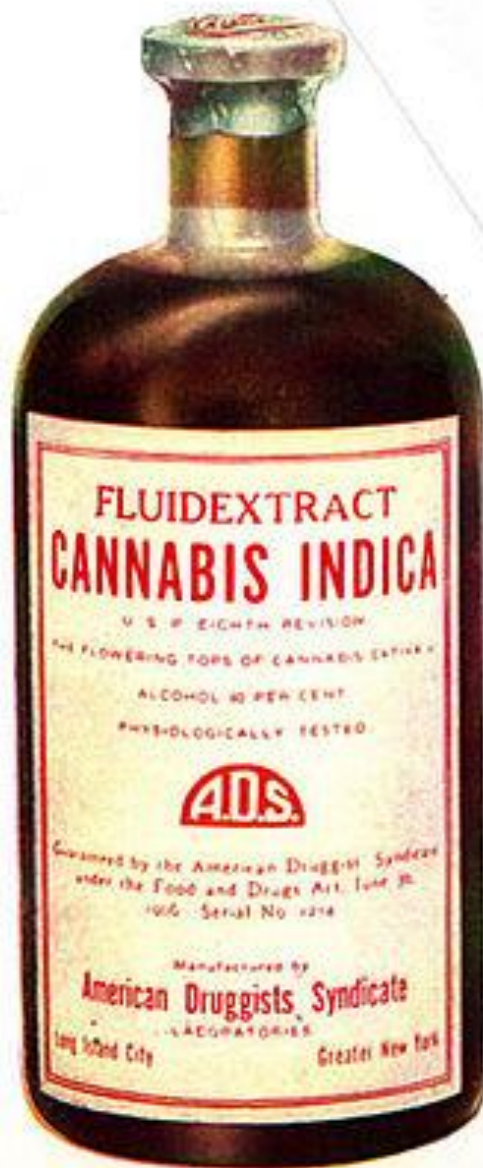
at the Great Midwest
 Marijuana Harvest Festival



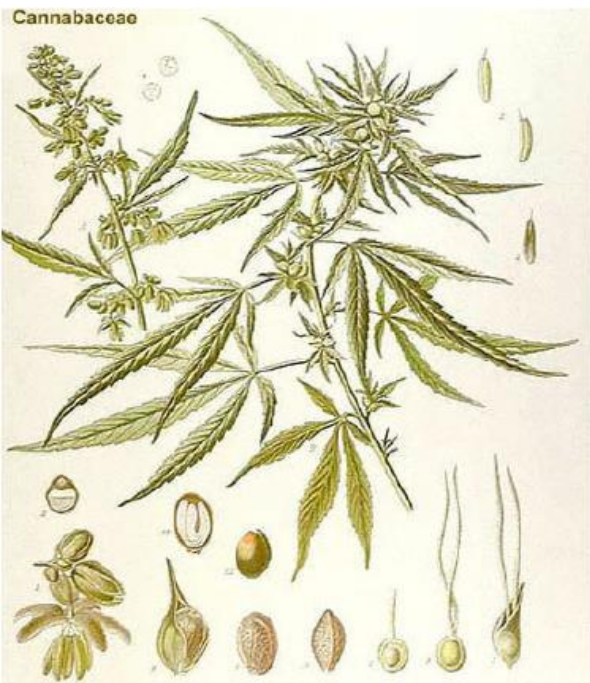
It's not just for paper, fuel, and fiber anymore!
Saturday, Sept. 26, Madison WI
 assemble 11 AM Library mall, 2 PM parade to State Capitol
 Files: NORMAL 911 Williamson St, Madison WI 53703
 Info: (608)-257-HEMP. Vendors please call ahead.



История применения марихуаны как психоактивного, одурманивающего вещества насчитывает по меньшей мере 30-50 веков. Первые упоминания есть и у ацтеков, и в Индии и в других странах в 3 тысячелетии до нашей эры.



- Марижуана в медицине находила широкое применение в качестве обезболивающих, противоэпилептических, противосудорожных и противорвотных средств уже с XVIII века до нашей эры.
- Первые упоминания об использовании марихуаны в европейской [медицине](#) относятся к периоду колонизации [Индии](#) [Англией](#), в середине XIX века, когда армейские [хирурги](#) стали применять препараты марихуаны для обезболивания, лечения [мышечных](#) спазмов, припадков [эпилепсии](#) и [ревматизма](#).
- в России в дореволюционной фармакопее 6 изд -спб-1910 - есть препараты индийской конопли **экстракт** на стр 141-142 - **сушеные соцветия женских растений** с 222-223.
- в фармакопее СССР 7 изд- три препарата индийской конопли **экстракт** с 157-158 **трава** с 244-245 и **настойка**



Выделяют три основных вида конопли:

Cannabis sativa,
Cannabis indica
Cannabis ruderalis,

**содержит наименьшее количество
тетрагидроканнабинола**

ФОРМЫ

- **МАРИХУАНА** - высушенная и измельченная верхняя часть растения с листьями и цветками, содержание в которых активных веществ наиболее высоко. Содержание психоактивных веществ 13-15% (ранее эти величины были значительно ниже 0,5 %).
- **ГАШИШ (hash)** - смола (смолка), производимая каннабисом в определенный период вегетации, зеленого, темно-коричневого или черного цвета. Содержание основного психо- активного вещества (ТГК) обычно около 2%, но может достигать и 9-10%.
- **ГАШИШНОЕ МАСЛО** — концентрированный темный жидкий и вязкий по консистенции экстракт растительного материала или смолы с содержанием психоактивных веществ (ТГК) от 10 до 30-60%.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ

**этих средств при
хранении
в этаноле или в
кунжутном масле
сохраняется долгое
время, но при
хранении на свету
или при доступе
кислорода со
временем
уменьшается из-за
деградации основного
активного
компонента.**



Различия конопли посевной и конопли индийской

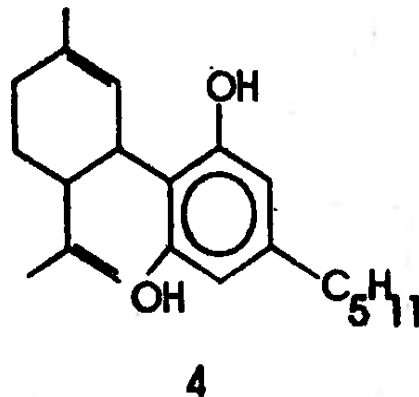
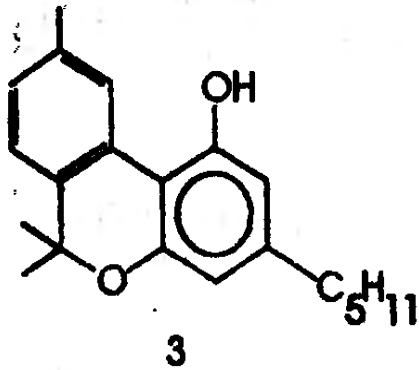
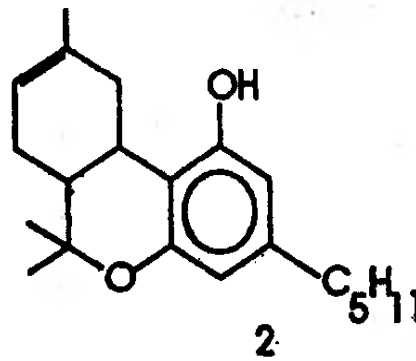
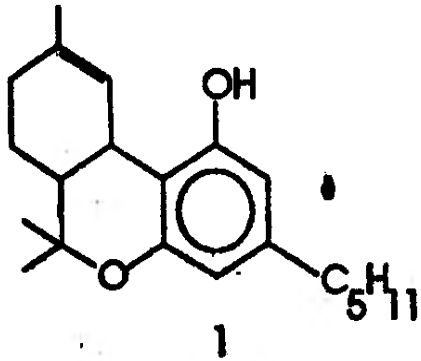


- Конопля посевная (**Cannabis sativa**) представляет собой травянистое растение высотой от 2 и 4 м. Листья длинные, тонкие, бледно-зеленого цвета. Растения, растущие в более теплом климате накапливают больше желтых пигментов, защищающих их от интенсивного света. Семена удлинены, тонки, красноватого цвета; в более северных регионах - слегка фиолетовые. На вкус растения имеют сладкий фруктовый запах. При курении выделяют относительно не много дыма. Источник волокна для веревки и других изделий, и содержит ТНС. Наибольшее количество его в верхушечных частях и молодых побегах.



- Конопля индийская (**Cannabis indica**) широко распространена в Ближнем Востоке, Индии и Средней Азии, особенно, Афганистане, Кашмире и Пакистане. Растение высотой от 1 до 2 м с короткими, широкими листьями темно-зеленого, иногда, с оттенком фиолетового цвета, обладающее сильным запахом. Основной источник гашиша.

ОСНОВНЫЕ КОМПОНЕНТЫ



- 1. Δ^9 -тетрагидроканнабинол (ТГК)-вещество обладающее психоактивным действием
- 2. Δ^8 -тетрагидроканнабинол в свежесобранном материале отсутствует
- 3. Каннабинол (КБН) в десять раз менее активен чем ТГК
- 4. Каннабидиол (КБД) не обладает психоактивностью
- Минорные в зависимости от вида сырья:
каннабидиварин,
каннабиварин,
каннабихромин,
каннабициклол и бутиловые аналоги ТГК



СПОСОБЫ УПОТРЕБЛЕНИЯ

- **КУРЕНИЕ (ВДЫХАНИЕ ДЫМА)** — для курения используют сигареты с марихуаной 500-750 мг при содержании активного компонента ТГК 1—4%) или обычные табачные сигареты с добавкой гашиша или небольшого количества гашишного масла. Иногда для курения используют особые стеклянные трубки. Также распространено вдыхание паров масла, нагреваемого в пламени на алюминиевой фольге или на лезвии ножа.
- **ОРАЛЬНОЕ ПОТРЕБЛЕНИЕ** (жевание, в виде заварки или как добавка к пище).
- **ВНУТРИВЕННОЕ ВВЕДЕНИЕ** применяют редко.

Наркотические дозы конопли



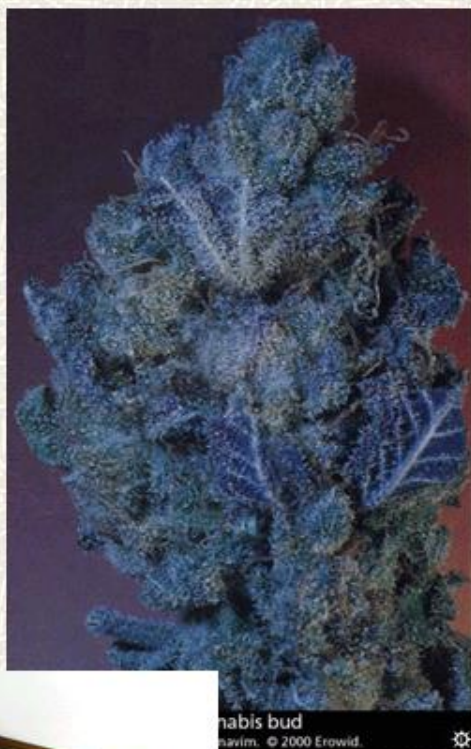
Минздрав Таджикистана



Nepalese sidhu with chillum

- Минимальная доза ТГК - 5 мг
- Эффективная оральная доза 50 – 200 мг
- Эффективная доза при курении 25 – 50 мкг/кг
- Обычно «наркотические сигареты» содержат 300 – 750 мг марихуаны с содержанием ТГК до 15% (в последнее время и до 40%).
- Средняя суточная доза – 2 «сигареты».

Употребление препаратов конопли



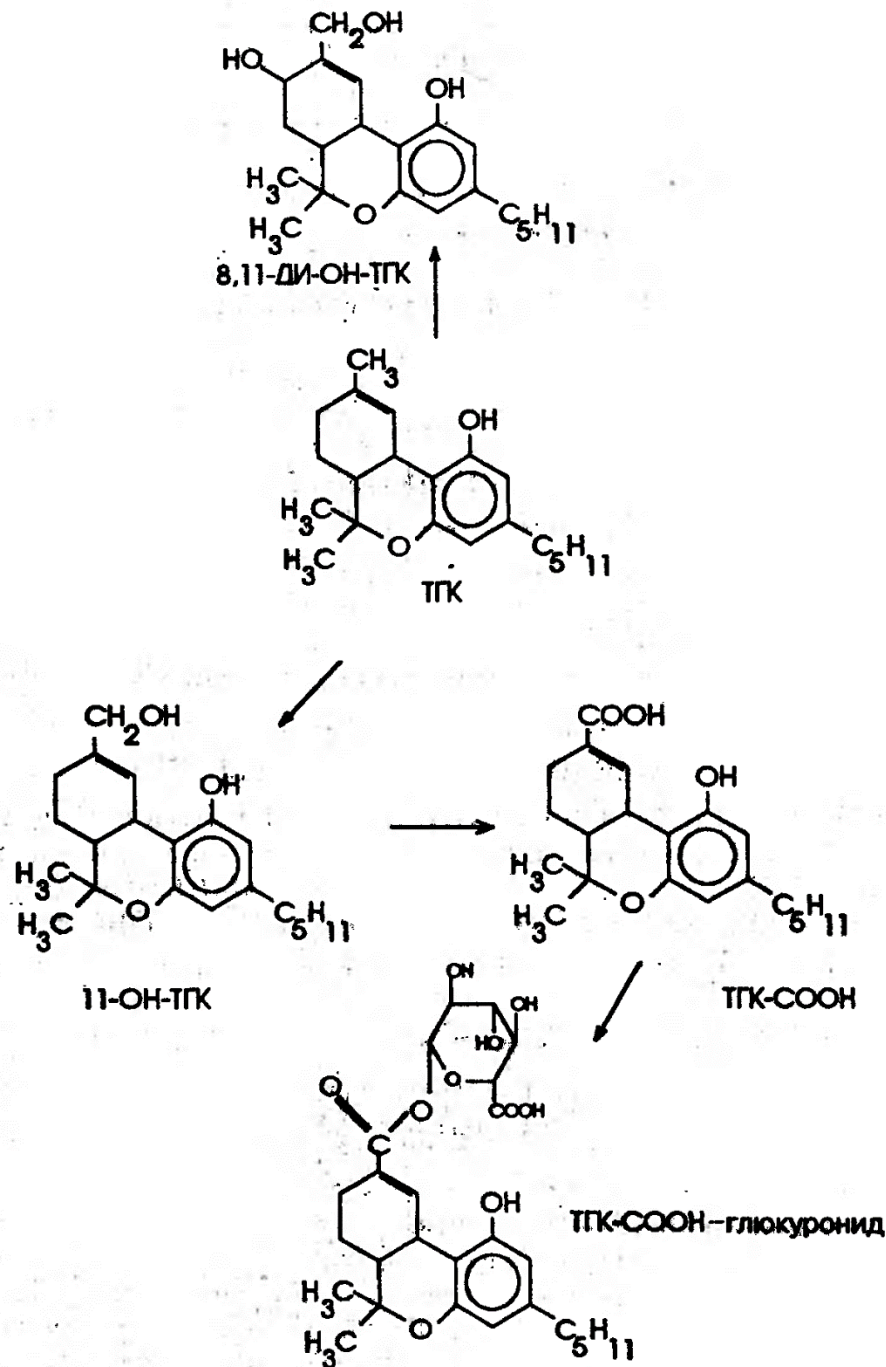
- Наркотики из конопли оказывают на человека стимулирующее и седативное воздействие, при высоких дозах сопровождаемое галлюцинациями.
- Препараты конопли как правило применяется для курения, реже для жевания.
- Эффект наступает через 20 – 30 мин после курения с максимумом спустя 1 – 2 часа и продолжительностью 4 – 6 часов. Однако стимулирующий эффект может продолжаться и после 24 часов.

Всасывание и распределение ТГК



- ТГК почти полностью адсорбируется (90 - 95 %) после разовой пероральной дозы
- Вследствие комбинированных эффектов, связанных с метаболизмом в печени и высокой липофильности только 10-20% дозы достигает системного кровообращения.
- ТГК имеет большой объем распределения, около 10 л/кг и более 95% его и его метаболитов связываются с белками крови.
- Фаза выделения ТГК описывается двухкомпарментной моделью с начальной фазой, имеющей период полувыведения около 4 часов, и фазой бета с периодом полувыведения от 25 до 36 часов.
- В связи с большим объемом распределения метаболиты ТГК могут находиться в моче на низком уровне в течение длительного времени.

Метаболизм



- ТГК подвергается интенсивному метаболизму в микросомах печени образуя большое количество гидроксилированных как активных, так и нет метаболитов.
- Основным активным метаболитом является 11-ОН-ТГК, который присутствует в примерно одинаковых количествах с ним в плазме крови. В моче основным метаболитом является ТГК-СООН.
- При пероральном приеме ТГК в плазме крови он присутствует главным образом в виде глюкуронидов кислых метаболитов.
- При курении или внутривенном введении в кровь основная масса кислого метаболита находится в свободном виде.
- 8,11-ДИ-ОН-ТГК метаболит выводится с мочой в виде глюкуронида и может быть обнаружен после гидролиза. Его присутствие в моче на уровне более 15 нг/мл указывает на вероятное потребление марихуаны не более чем за 6 часов до момента отбора образца.

Выделение ТГК

- ТГК и его основные метаболиты выводятся из организма главным образом с фекалиями и мочой.
- При этом около половины дозы выводится в течение 72 часов с фекалиями, около 10 – 15% с мочой.
- Менее 5% принятой дозы выводится в неизменном виде с фекалиями.
- После употребления разовой дозы низкие концентрации метаболитов ТГК могут быть обнаружены в моче в течение 5 недель.



ПАССИВНОЕ КУРЕНИЕ

Ситуация с пассивным потреблением марихуаны (так называемое «пассивное курение») может возникнуть, когда некурящий находится в непроветриваемом замкнутом пространстве (автомашина или небольшая комната) одновременно с одним или несколькими курящими и длительность сеанса курения составляет по меньшей мере один час . За 8 ч «пассивного курения» некурящий получает ингаляционную дозу около 16 мкг ТГК. При этом в моче детектируются ТГК и ТГК- СООН. с концентрацией ТГК-СООН 4,4 нг/мл.

Объекты анализа на каннабиноиды и их подготовка к исследованию

- ***Смывы с губ, ладоней, пальцев рук.*** Протирают смоченным спиртом тампоном из марли или ваты. Из тампонов исследуемые соединения экстрагируют органическим растворителем (гексаном, этилацетатом или петролейным эфиром). Экстракты упаривают до объема 0,2-0,4 мл и подвергают анализу.
- ***Слюна и смывы со рта.*** Отбирают 10 мл слюны или ополаскивают рот 50 мл 70% этанола, к которому до насыщения добавлен хлорид натрия (с целью исключения возможности проглатывания). Каннабиноиды повторно экстрагируют этилацетатом. Экстракты упаривают и анализируют.
- ***Плазма.*** 5 мл плазмы экстрагируют смесью петролейного эфира, содержащего 1,5% пентанола по объему. Экстракт упаривают до нескольких капель и исследуют.
- ***Моча.*** 50 мл мочи подвергают щелочному гидролизу и образовавшуюся Д9-ТГК-кислоту после подкисления экстрагируют органическим растворителем, упаривают, переводят в метиловый эфир и анализируют методами ГЖХ и ГХ-МС.
- ***Волосы.*** Для анализа используют хроматомасс-спектрометрию
- ***Образцы наркотических средств (гашиш, марихуана, гашишное масло).*** Навеску образца берут в количестве 0,5-1 г и экстрагируют в течение 1 ч десятикратным количеством 96% этилового спирта, фильтруют, упаривают до небольшого объема и анализируют.

Методы обнаружения каннабиноидов

Для обнаружения каннабиноидов в извлечениях из объектов используют

- *химический метод,*
- *хроматографию в тонком слое сорбента,*
- *ГЖХ,*
- *ВЭЖХ,*
- *ГХ-МС*
- *иммуноферментный метод.*

При анализе образцов наркотических средств анализ сочетается с микроскопическим исследованием

Реакции окрашивания (предварительное исследование).

1. Экстракт из объекта в объеме нескольких капель наносят на фильтровальную бумагу, подсушивают и обрабатывают 0,5% раствором **прочного синего Б** в 10% растворе гидрокарбоната натрия. Каннабиноиды обнаруживаются на бумаге в виде пурпурнокрасного пятна.
2. К части экстракта добавляют ацетальдегид, раствор ванилина в 96% этиловом спирте, концентрированную хлороводородную кислоту и 1 мл хлороформа. При встряхивании слой хлороформа окрашивается в фиолетовый цвет.

Реакциям придают судебно-химическое значение при получении отрицательного результата.

Хроматография в тонком слое сорбента.

Анализ проводят на хроматографических пластинках «Силуфол». На стартовую линию хроматограммы наносят экстракт, полученный из слюны, плазмы крови, смывов со рта, мочи и помещают в систему растворителей ***петролейный эфир - диэтиловый эфир (4:1)***.

Хроматографирование осуществляют двукратно.

После подсушивания пластинку обрабатывают 0,5% раствором прочного синего Б в 10% растворе карбоната (или гидрокарбоната) натрия. Каннабиноиды на пластинке проявляются в виде окрашенных полос или пятен красного, пурпурного, оранжевого цвета (каннабинол образует пятно с R_f 0,76 пурпурного цвета, тетрагидроканнабинол - с R_f 0,84 красного цвета).

Иммуноферментный метод.

Этот метод отличается простотой выполнения и высокой чувствительностью. С его помощью можно обнаружить многие метаболиты каннабиноидов.

У лиц, хронически употребляющих каннабиноиды, после последнего употребления этим методом можно их обнаружить в течение ***77 дней***, а у периодически употреблявших - в течение ***29 дней***.

Метод ГЖХ.

Используется хроматограф Agilent 6890N, с капиллярными колонками длиной до 30 м, режимом постоянного давления 17 пси. Объем вводимой пробы - 1 мкл. Температура термостата колонок программируется от 200 до 280°C (10°C/мин). Температура детектора - 300°C, поток водорода - 30 мл/мин. Температура испарителя - 270°C. Время удерживания Д9-ТГК составляет в данных условиях 7,57 мин.

Метод ВЭЖХ.

Этот метод отличается большей селективностью, чем ТСХ и реакции окрашивания. Для обнаружения используется жидкостный хроматограф <<Милихром А-02>>. Обнаружение каннабиноидов ведут по удерживаемому объему или времени удерживания и по спектральным отношениям при нескольких длинах волн.

Метод газовой хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией

После подготовки пробы мочи к анализу и ***метилования Д9-ТГК-кислоты*** пробу вводят в хромато-масс-спектрометр. Метиловый эфир Д9-ТГК-кислоты имеет характерные отношения масса/заряд (m/z): 372, 357 и 313. Для Д9-ТГК характерны масс-фрагменты m/z 314, 299, а для метилового эфира Д9-ТГК - фрагменты с отношением m/z 328, 313.

Количественное определение

Метод газовой хроматографии. Определение проводят по площади или высоте пика анализируемого вещества и внутреннего стандарта. В качестве внутреннего стандарта используют аналог исследуемого вещества, меченного стабильным изотопом, в частности, дейтерированные соединения. Хроматографический внутренний стандарт добавляют в анализируемую пробу непосредственно перед вводом в хроматограф в концентрации, сопоставимой с концентрацией анализируемого вещества. Чтобы контролировать весь процесс пробоподготовки и анализа, внутренний стандарт часто рекомендуют добавлять к аликвоте биожидкости, отобранной для гидролиза или изолирования. В этом случае внутренний стандарт подвергается всем операциям вместе с анализируемым веществом.

В таком варианте использования внутреннего стандарта результаты количественного определения будут более точными и воспроизводимыми. Содержание каннабиноидов рассчитывают по калибровочному графику, выражающему зависимость высоты (площади) пика ионов анализируемого вещества (внутреннего стандарта) от концентрации в диапазоне 1,0-10,0 мкг/мл.

Высокоэффективная жидкостная хроматография. Определение концентрации каннабиноидов проводят, используя метод добавок, метод внутреннего или внешнего стандарта.

ЗАКЛЮЧЕНИЯ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ АНАЛИТИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Положительная проба мочи по данным иммунного анализа указывает на потребление марихуаны (или продуктов ее переработки) в течение периода от 1 ч до нескольких недель от момента отбора пробы.

Возможны следующие варианты.

- общая концентрация каннабиноидов в моче менее 50 нг/мл - *употребление дозы ранее чем период 36 ч, или долговременная экскреция у хрон.потребителей.*
- при последовательных еженедельных анализах первая проба была положительной, а вторая и третья отрицательные - *случайное или разовое потребление.*
- пробы положительны в течение 3 или более недель, но концентрация постепенно уменьшается и в течение длительного времени (не менее двух недель) пробы остаются отрицательными, - *прекращение использования марихуаны хроническим потребителем.*
- пробы положительны в течение неск. недель без тенденции к уменьшению концентрации - *хроническое потреблении марихуаны.*

2. Индикатор недавнего использования марихуаны - в моче метаболит 8, 11-ди-ОН-дельта-9-ТГК, появляется в первые несколько часов после приема.

3.Разовая единственная положительная проба мочи не означает, что субъект, принимавший марихуану, находился в момент отбора пробы под ее воздействием. Положительная проба мочи означает лишь то, что субъект принимал марихуану в недавнем прошлом (часы, дни или недели)

КРАТКАЯ ИСТОРИЯ КОКИ



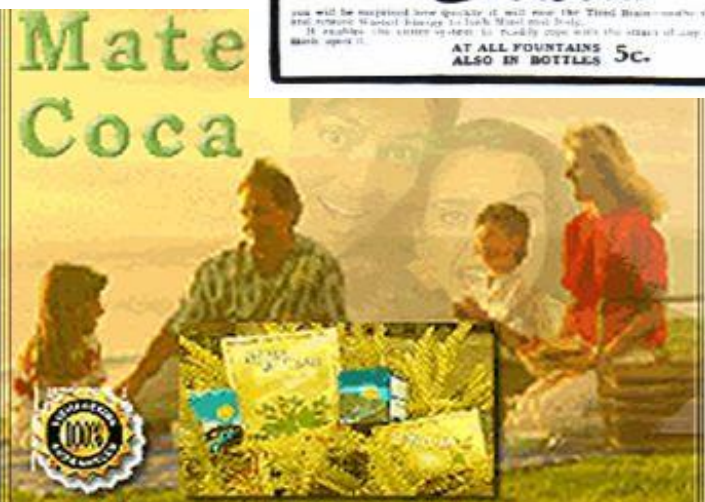
- Южноамериканские индейцы используют кокаиновый куст по крайней мере 5000 лет для вхождения в транс при религиозных обрядах, для улучшения самочувствия, снятия усталости и уменьшения чувства голода.
- Кокаин выделен из листьев коки в 1859 г немецким химиком Фридрихом Гедке, назвав выделенный алкалоид эритроксилином
- Альбертом Ниemanом усовершенствовал процедуру выделения алкалоида и назвал его кокаином, его структура расшифрована в 1898 г., а синтез осуществлен в 1902 г.
- В 18 – 19 веках кокаин широко распространялся как свободно доступный и «безвредный» стимулятор. Он использовался для местного обезболивания, входил в состав большого числа лекарств, прохладительных напитков, тоников, вин и лакомств.
- Наиболее известным из них являлись смеси вин с кокаином, например, «Vin Mariani.», потребление которых считалось привилегией высшего общества и интеллектуальной элиты общества А. Франц, Г. Ибсен, Жюль Верн, А. Дюма, Р. Стивенсон, К. Доль, Масне, Гуно, королева Виктория, короли Греции и Испании, персидские шахи и президенты США.

КРАТКАЯ ИСТОРИЯ КОКИ

ниже представлены образцы рекламных буклетов 18 – 19 веков для различных напитков, вин и аперитивов, содержащих кокаин.



КРАТКАЯ ИСТОРИЯ КОКИ



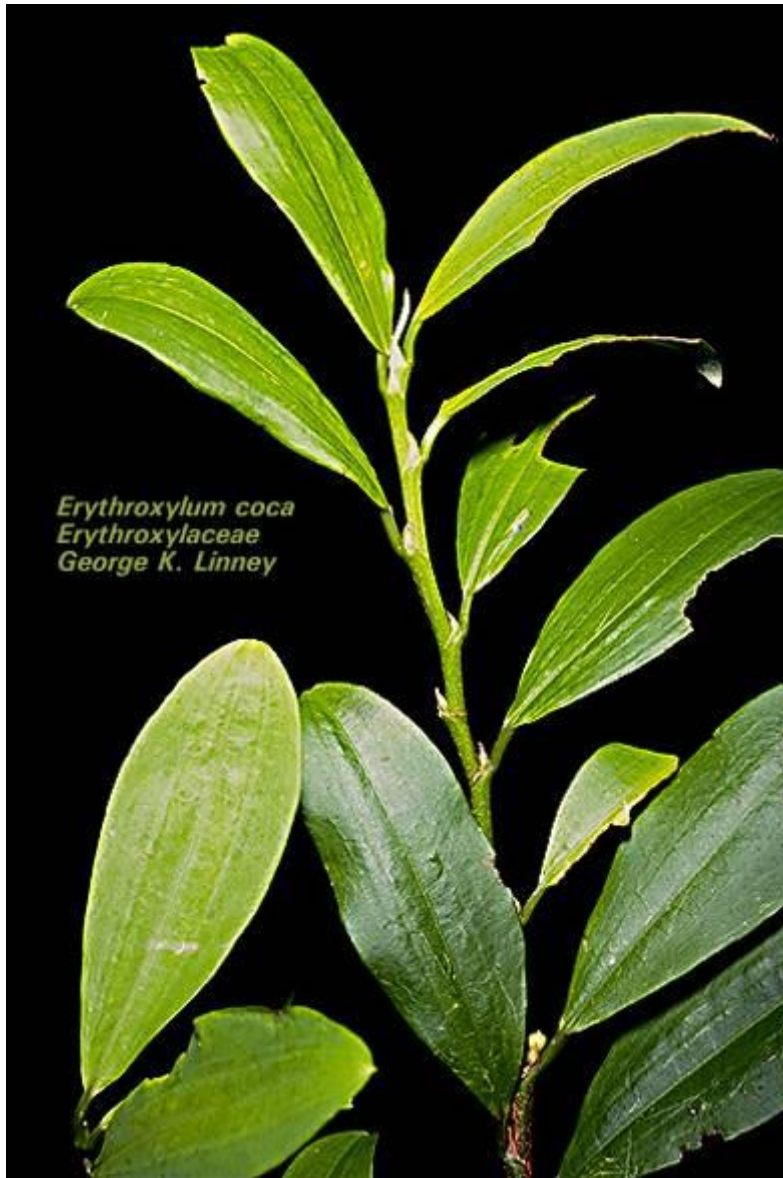
•В 1886 г. американский аптекарь и большой любитель коки Джон Помбертон (John Pemberton), пытаясь спасти от запрещения свободного распространения указанные выше напитки, заменил в них алкоголь на сахарный сироп. Полученный напиток называли «Кока-кола: напиток для трезвенников».

•По настоянию правительства США начиная с 1904 года «Кока кола» выпускается по технологии, не допускающей присутствия в нем кокаина.

•В 1914 в США и ряде других стран принимаются первые законодательные меры для ограничения употребления кокаина.

•Международная конвенция 1961 г. установила нынешний статус всех наркотических средств, получаемых из кокаинового куста.

Растительное сырье



- Родина кокаинового куста - Перу, Боливия и восточные склоны Анд.
- В настоящее время дикие растения практически не встречаются.
- Издавна культивировался, сначала индейцами, затем, в конце XX в. плантации были заложены на о-ве Ява, о-ве Шри-Ланка и других районах Юго-Восточной Азии, позднее - в Африке.
- Известно около 200 видов растений рода *Erythroxylum*. По крайней мере 17 из них накапливают кокаин. Но только два: *Erythroxylum coca* и *Erythroxylum novogranatense*, обычно производят достаточное с экономической точки зрения количество кокаина, чтобы оправдать расходы на их культивирование.

Химический состав



- Листья кокаинового куста содержат сумму алкалоидов (0,5 - 1,5%), главным из которых является **кокаин**. На его долю приходится около 30% от всей суммы алкалоидов. Остальные алкалоиды: производные эгонины - **метилэгонин, цис- и транс-циннамоилкокаины, бензоилэгонин, тропакочаин, труксиллиновые кислоты** и др. Все производные эгонины используются для промышленного полусинтеза кокаина. Кроме того, в листьях содержатся алкалоиды гигрин, кускгигрин, эфирные масла, жирные кислоты.

Основные
регионы
нелегального
производства
кокаина

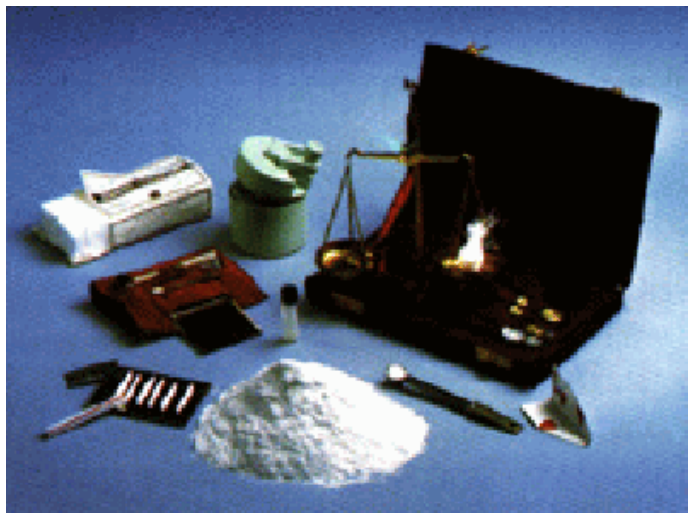


Наркотические средства коки



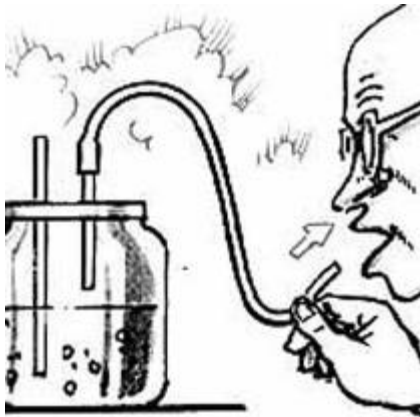
• **Листья коки.** Потребление листьев коки первоначально было прерогативой элиты древних индейцев. Сегодня, этому потворствует большинство аборигенов Южной Америки. Листья коки в настоящее время широко используются при производстве чая «Coca mate». Питье этого чая успокаивает ЖКТ, Этот чай более мягкий стимулятор, чем кофе.

• **Паста кокаина** — Сульфат кокаина, basuco, basa, pitillo, тесто. Это – низкосортный наркотик, который применяется в городских трущобах Южной Америки. Паста представляет собой промежуточный продукт переработки листа коки.



• **Кокаина гидрохлорид** - белый кристаллический порошок (chow), обычно без запаха, или большие, иногда бесцветные, кристаллы (rock). Используется для внутривенного введения или получения кокаина основания. Содержание собственно кокаина обычно 80-90%. Для уличной торговли разбавляется до 12 – 50 % добавлением пирацетама, кофеина, лидокаина, прокаина, бензокаина, сахарами и крахмалом.

Наркотические средства коки и способы их маскировки



- **Кокаина основание / крэк** (freebase/crack) получается из кокаина гидрохлорида.
- **«Коричневый» кокаин** — для маскировки наркотика под растворимый кофе или чай соли кокаина смешиваются с хлоридами кобальта или железа до получения состава, содержащего примерно 40% кокаина.
- **«Черный» кокаин** получают смешиванием солей кокаина с полимерным материалом, из которого затем изготавливают статуэтки, дипломаты, подставки и прочие предметы.
- **«Спидбол»** - смесь кокаина и героина в равных пропорциях.

Фармакокинетика кокаина

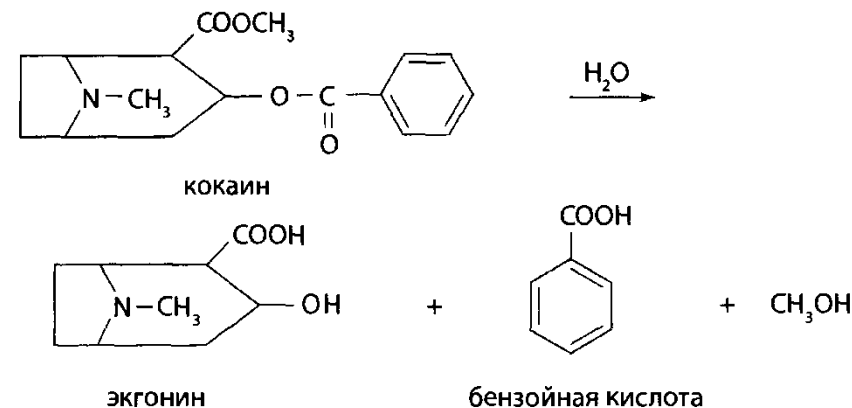


- Клиническая доза кокаина – **1,5 мг/кг**
- Смертельная доза (для человека ранее не употреблявшего) – **200 мг**
- Разовая «уличная» доза – **15 – 60 мг**
- Для интраназального введения («дорожка» длиной 3 – 5 см) – **от 10 – 20 мг до 50 – 100 мг**
- Токсическая доза – **орально 500 мг**
- Летальная доза – **1,2 г**, при индивидуальных отклонениях может снижаться **до 20 мг и менее** или повышаться **до 8 – 10 г**.

Метаболизм и фармакокинетика кокаина

I фаза

а) гидролиз



Время полувыведения

- кокаин – 38 – 67 мин
- бензоилэконин – 4 – 6 часов
- метилэконин – 2,5 – 7,6 ч.

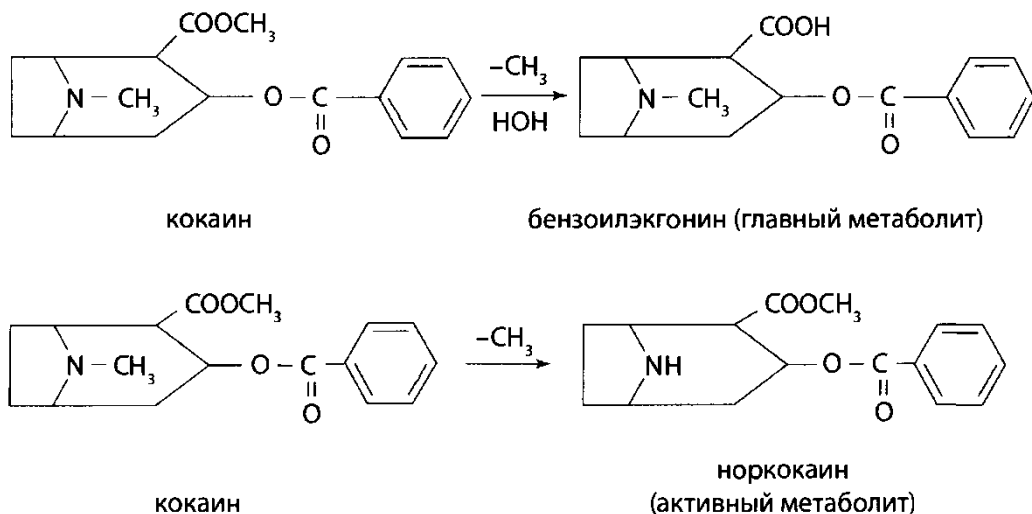
Биодоступность при различных способах введения

оральный	20 – 40%
интраназальный	20 – 40%
курение	6 – 32%
внутривенный	100%

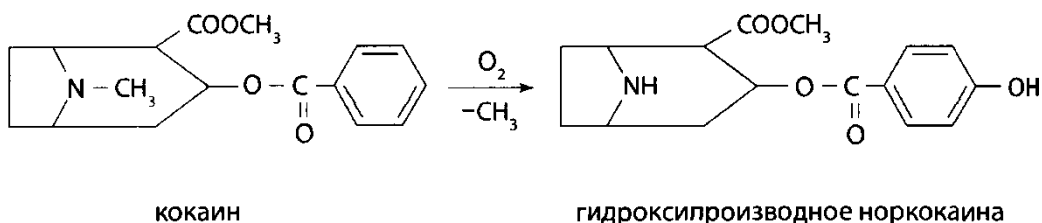
Разовая доза кокаина выводится с мочой на 90 – 95% за 2 – 3 дня в основном в виде метаболитов:

кокаин (1-9%), бензоилэконин (35-60%), метилэконин (32-49%), эконин (1-8%), норкокаин и гидроксилированные метаболиты (до 10%)

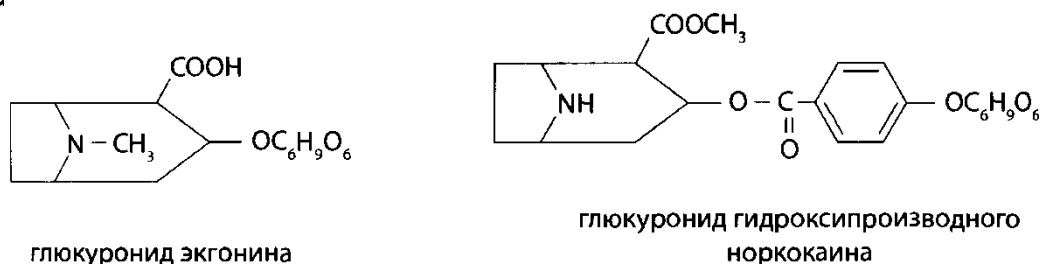
б) деметилирование



в) гидроксилирование



II фаза – образование глюкуронидов



При *изолировании* из биологических объектов кокаин экстрагируются хлороформом из водных вытяжек из объекта при рН=8-10.

При проведении общего *ТСХ-скрининга* алкалоиды - производные тропана и экгонина обнаруживаются на хроматографических пластинках в виде оранжевых пятен при обработке их реактивом Драгендорфа

Рекомендованные системы растворителей

- | | |
|---|---------------|
| 1. Хлороформ: Диоксан: Этилацетат: Аммиак | 25: 60: 10: 5 |
| 2. Метанол: конц. Аммиак | 100: 1,5 |
| 3. Циклогексан: Тoluол: Диэтиламин | 75: 15: 10 |

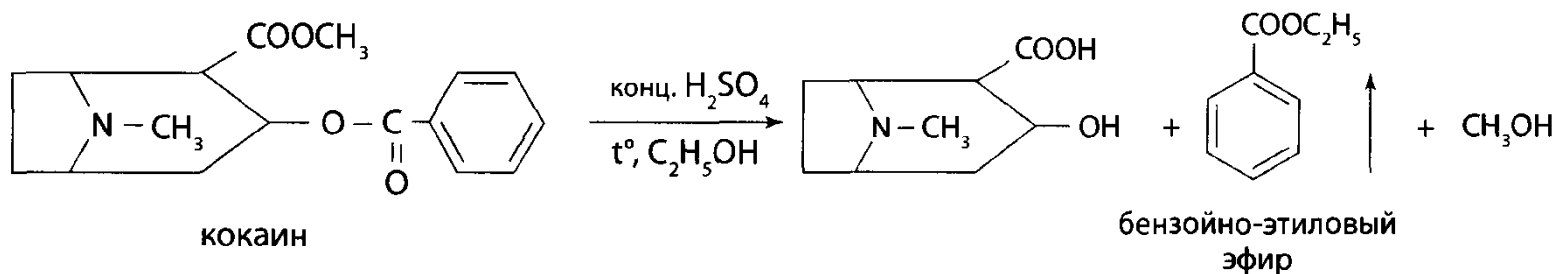
Пластины

СОРБТОН, СОРБФИЛ, Кизельгель G 60

Химические методы.

Реакция Скотта на кокаин. При добавлении к остатку после испарения извлечения из объекта или к образцу наркотического средства 5 капель 2% раствора тиоцианата кобальта, смешанного с глицерином (1:1) - появляется синее окрашивание, которое исчезает при добавлении 1-2 капель концентрированной хлороводородной кислоты. Если к окрашенному раствору добавить несколько капель хлороформа, его слой окрашивается при встряхивании в синий цвет.

Реакция образования бензойно-этилового эфира. К нескольким крупинкам исследуемого вещества или к сухому остатку экстракта из объекта прибавляют 2 мл концентрированной серной кислоты и 2 мл этилового спирта. Смесь нагревают на водяной бане 5 мин. Появляется характерный запах бензойно-этилового эфира. Этот запах ощущается более четко, если полученную жидкость разбавить 5-10 кратным объемом холодной воды очищенной.



Реакция с перманганатом калия. К сухому остатку добавляют каплю 10% хлороводородной кислоты и выпаривают досуха, а затем наносят на остаток каплю 1% раствора перманганата калия. Через 10-20 мин наблюдают появление красно-фиолетовых кристаллов в форме прямоугольных пластинок и сростков из них.

Предел обнаружения - 4 мкг кокаина в исследуемой пробе.

Реакция с платинохлороводородной кислотой. К сухому остатку, полученному после выпаривания хлороформного экстракта, прибавляют каплю 0,1 М раствора хлороводородной кислоты и каплю 10% раствора платинохлороводородной кислоты. Кокаин образует светло-желтые кристаллы, имеющие форму перистых дендритов.

Предел обнаружения - 3,3 мкг кокаина в исследуемой пробе.

ИК-спектроскопия. К остатку после испарения хлороформного экстракта из объекта или к нескольким мг исследуемого образца наркотического средства добавляют 1 каплю 25% раствора аммиака и 1 мл диэтилового эфира (или пентана), высушивают, остаток прессуют и используют для регистрации ИК-спектра. В ИК-спектре обнаруживают характерные волновые числа **1275, 1700, 1106, 1728, 710, 1040, 1280**. Полученные значения волновых чисел должны соответствовать стандартным образцам.

Высокоэффективная жидкостная хроматография.

Обнаружение проводят по времени удерживания (объему удерживания) и по спектральным отношениям при нескольких длинах волн. Полученные результаты сравнивают с данными по атласам ВЭЖХ-спектров и при совпадении параметров удерживания делают вывод об обнаружении определенного соединения.

Газожидкостная хроматография

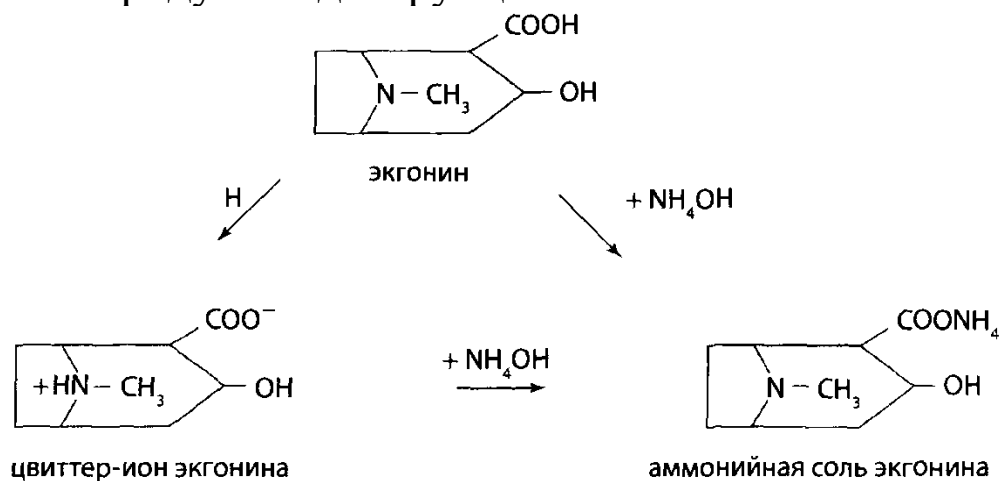
УФ-спектрофотометрия. Проводится после очистки извлечений ТСХ, элюируют с пластинки с помощью 0,1 М раствора серной кислоты. В УФ-спектре в области 200-320 нм обнаруживают следующие максимумы поглощения - 233, 275 нм.

Хроматомасс-спектральный анализ. Обнаружение проводится по времени удерживания и характеристическим ионам для каждого соединения.

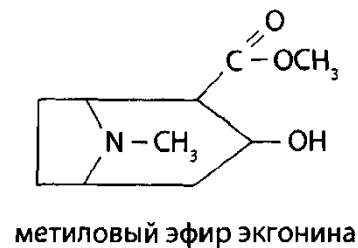
Анализ трупного материала на кокаин

Кокаин можно обнаружить в трупном материале только при приеме значительных количеств вещества и в только вскоре после смерти. Кокаин в организме легко гидролизуется до бензоилэкгониина, который под влиянием ферментов печени переходит в экгонин и бензойную кислоту.

При изолировании объекты подкисляют щавелевой или серной кислотами до $\text{pH}=2-3$. В этих условиях экгонин существует в форме цвиттер-иона. Последующее подщелачивание на второй фазе изолирования раствором аммиака перед экстракцией хлороформом до $\text{pH}=8-10$ приводит к образованию аммонийной соли по карбоксильной группе. Соли экгонины нерастворимы в хлороформе, поэтому в процессе экстракции они не извлекаются ни при $\text{pH}=2-3$, ни при $\text{pH}=8-10$. Это позволяет отделить алкалоид от продуктов деструкции



Для *изолирования* экгонины перед проведением экстракции его переводят в метиловый эфир, экстрагируют его хлороформом и проводят исследование.



Обнаружение экгонины.

Реакция с фосфорно-молибденовой кислотой. При добавлении к остатку, полученному после испарения хлороформного экстракта, раствора фосфорно-молибденовой кислоты образуются сферические сростки из желто-зеленых кристаллов

Количественное определение

Метод ВЭЖХ Используют метод добавок, методы внутреннего и внешнего стандарта. Расчет концентрации кокаина проводят по формулам.

Метод ГЖХ. Расчет проводят по высоте или площади полученных пиков на хроматограмме исследуемого вещества и внутреннего стандарта с использованием калибровочных графиков.

Метод ГХ/МС. В качестве внутренних стандартов используют аналоги, меченные изотопами, и расчеты ведут по отношению m/z анализируемого вещества к m/z стандарта по калибровочным графикам.

Интерпретация результатов

- После разовой дозы кокаина последний может обнаруживаться в моче в неизменном виде от 8 до 24 часов, а бензоилэкгонин и метилэкгонин – до 48 часов
- При хроническом потреблении сроки детектирования увеличиваются до 5 дней
- Обнаружение в моче этилового эфира бензоилэкгонина указывает на одновременное потребление кокаина и этанола
- Обнаружение метилового эфира ангидроэкгонина указывает на курение крэка и основания кокаина

Исследование волос и ногтей на кокаин

ВНЕШНИЙ ОСМОТР

На данном этапе определяют:
для волос: вес; цвет; длину; направление роста
для ногтей: вес и их общее количество

ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ поверхности объектов

Проводится с целью обнаружения исследуемых веществ, попавших на эту поверхность из внешней среды или выделившихся из организма с секретами желез

ОЧИСТКА ПОВЕРХНОСТИ

проводится до получения **полной уверенности** в отсутствии на ней исследуемых веществ

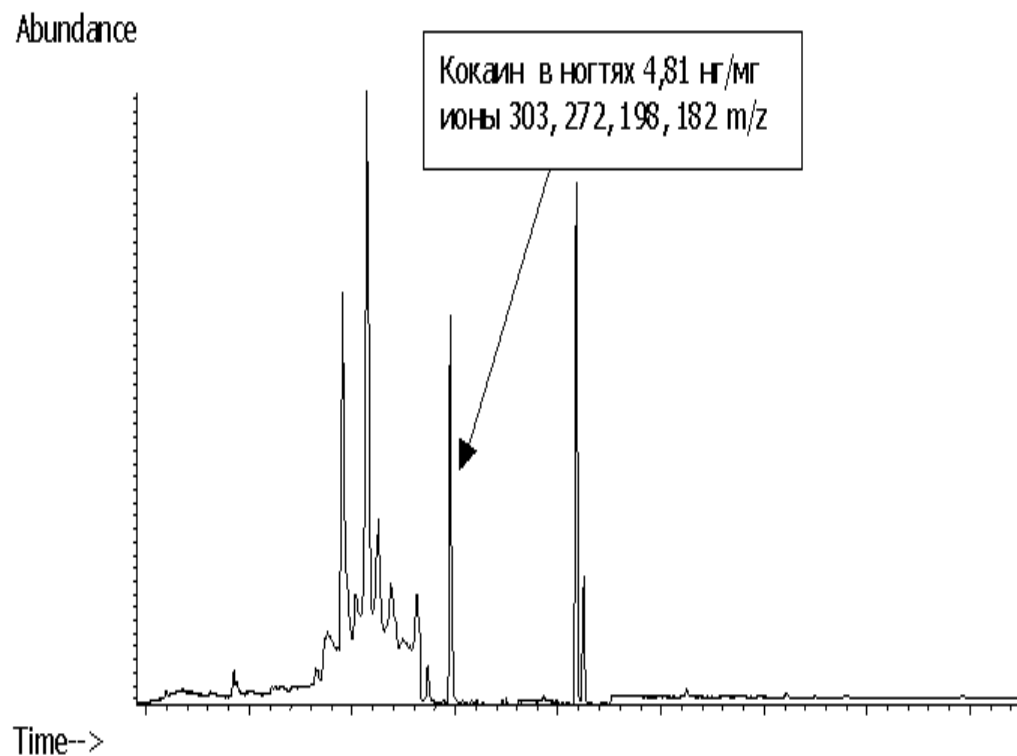
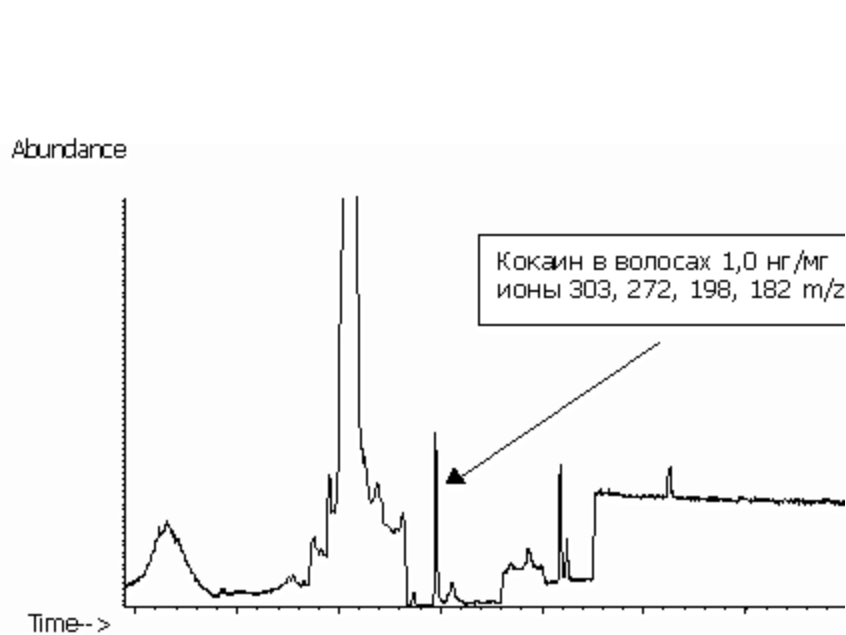
ВЫДЕЛЕНИЕ ВЕЩЕСТВ

из внутренних слоев волос и ногтей
осуществляется при помощи разрушения структуры объекта или без такового

ОБНАРУЖЕНИЕ ВЕЩЕСТВ

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Пример обнаружения кокаина в волосах и ногтях



Интерпретация результатов исследования волос

- Минимальная доза кокаина, определяемая в волосах
20 – 35 мг
- Длительность определения в волосах разовой дозы
2 – 6 мес
- Содержание кокаина в волосах не зависит от способа введения
- Содержание кокаина в волосах **от 0,1 до 16 нг/мг** (если полученная концентрация выше 20 нг/мг, то результаты следует рассматривать как ошибочные)
- Содержание бензоилэкгонины в волосах **менее 1 нг/мг**
- Содержание метилэкгонины на уровне предела обнаружения метода или ниже.
- Максимально содержание кокаина в волосах приходится на **1-2 мес** после приема разовой дозы.

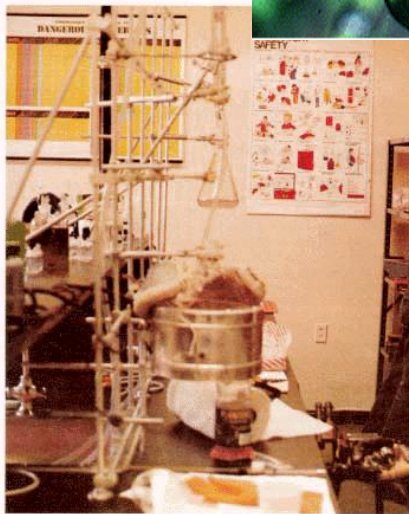
Химико-токсикологический анализ амфетаминов

Классификация фенилалкиламинов по источникам получения и происхождению

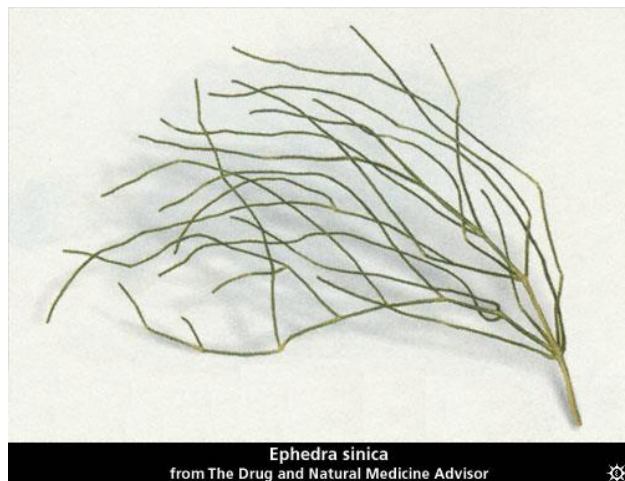


- Природные фенилалкиламины

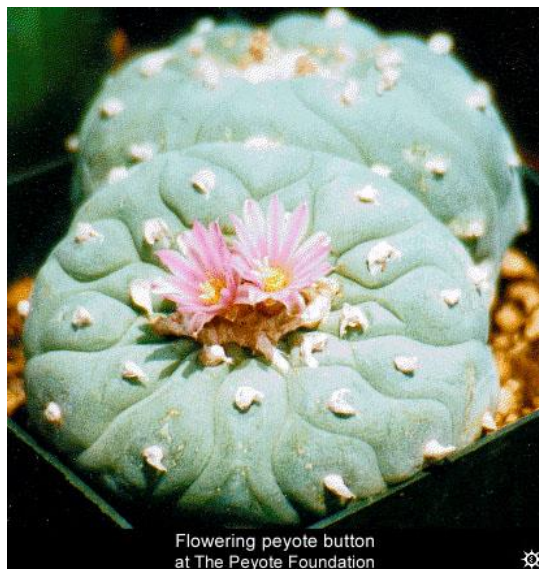
Полусинтетические и синтетические фенилалкиламины



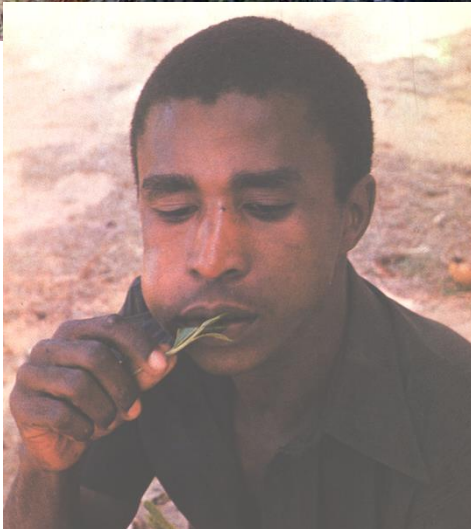
Фенилалкиламины природного происхождения



- Кат съедобный
- Трава эфедры
- Пейот



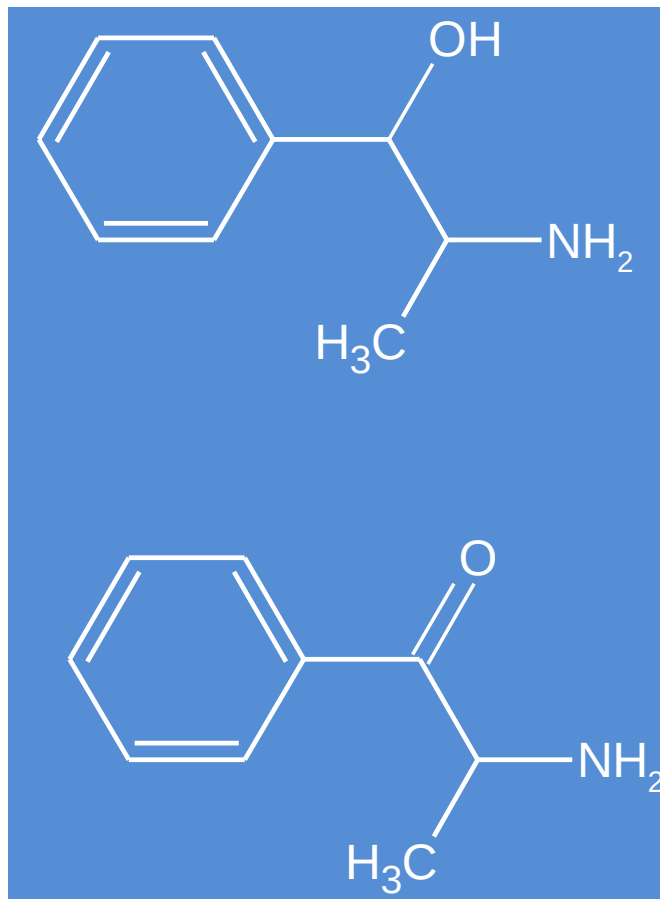
Кат съедобный



- Молодые побеги и листья вечнозеленого кустарника *Catha edulis* Forsk. sp. Celastraceae (кат съедобный), произрастающего на юге Аравийского полуострова и Восточной Африке интенсивно используются населением этих регионов в качестве возбуждающего, стимулирующего и эйфоризирующего средства, называемого **khat, chat, gat, Kus-es-Salahin, miraa, tohai** и **tschat**.
- Высушенные листья этого растения известны как **Абиссинский** или **Арабский чай**.
- Первые упоминания о кате относятся к 15 веку н.э.

Кат съедобный

химический состав



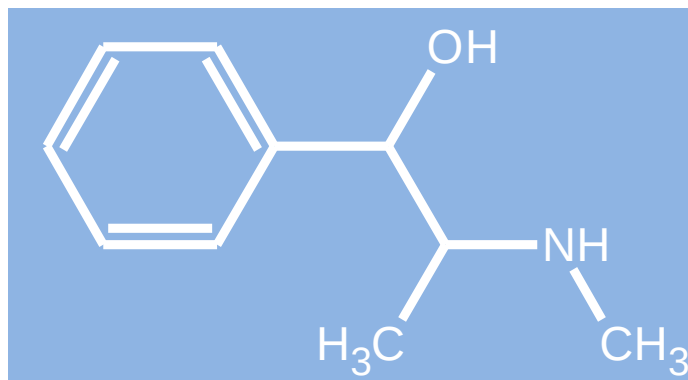
Основным действующим началом ката съедобного является **катин** (сверху) и **катинон** (снизу).

Кроме них, кат съедобный содержит жирные кислоты, эфирные масла, алкалоиды.

Содержание действующих компонентов в кате составляет от 0,5 до 2%.

После срезания, под воздействием ферментов, в течение нескольких часов катин и катинон быстро разрушаются.

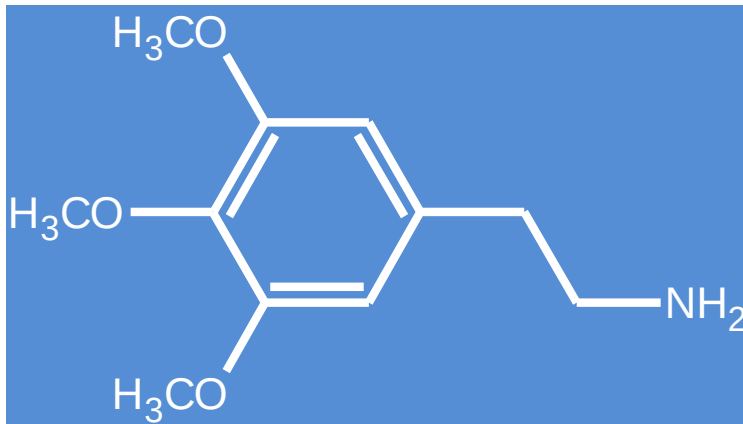
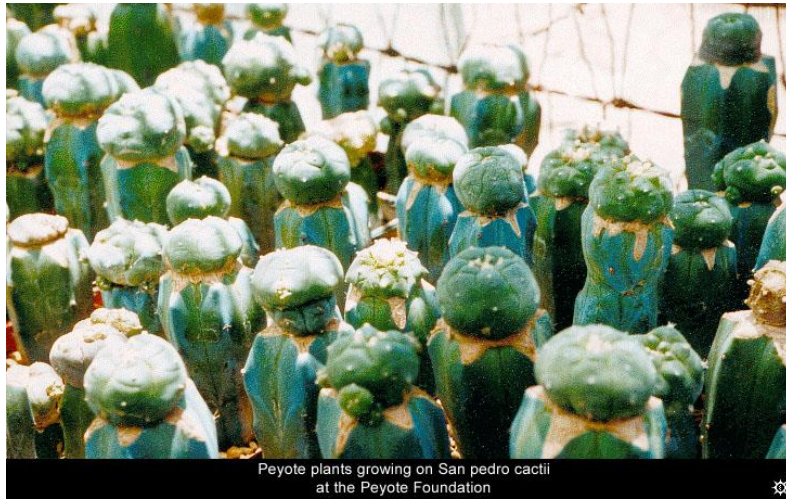
Трава эфедры



- трава эфедры - **Ephedrae heiba**
- В Китае это дикорастущее растение используют уже более 5000 лет от слабого кровообращения, **лихорадки, кашля** и для **повышения работоспособности**. Несколько позднее, такое же применение получили и другие виды Ephedra уже из Индии и Испании.
- В настоящее время Ephedrae herba - сборное обозначение для всех видов Ephedra, которые содержат действующее вещество **эфедрин**.
- Эфедра растет **небольшим кустиком**, внешне напоминающим хвощ, и достигает в высоту 30-40 (50) см. Прутьевидные членистые ветки расположены в мутовках, с кожистыми влагалищами возле узлов и лишены зеленых листьев. Цветки этого двудомного растения не приметны.

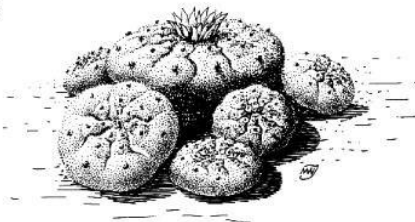


Пейот



- Южноамериканские индейцы использовали мескалинсодержащие кактусы при проведении религиозных обрядов за несколько веков до открытия Америки Колумбом. Для этого использовали настои из нарезанных колечками и подсушенных кактусов (**пейот**).
- Галлюциногенный алкалоид - **мескалин** впервые выделен в 1896 г. из кактуса пейот (**Lophophora williamsii**), произраставшего Северной Мексике.
- В незаконном обороте встречаются желатиновые капсулы, содержащие толченые сухие кактусы, содержащие до 8% мескалина..
- Галлюциногенные дозы мескалина оцениваются как 200-500 мг в виде гидрохлорида или сульфата.
- Эффекты от разовой дозы наблюдаются в течение 12 часов

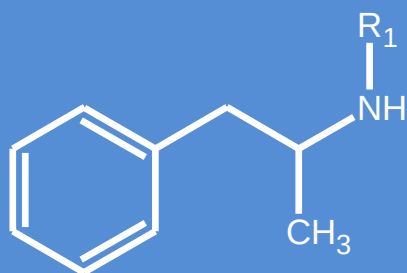
Пейот



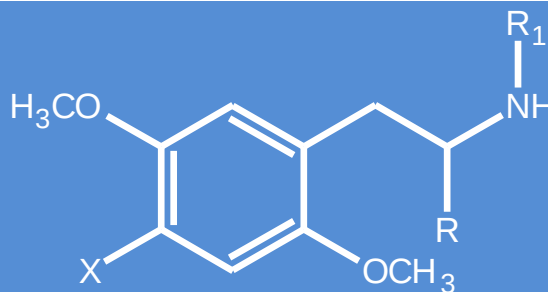
Lophophora williamsii

- Употребление разовой дозы мескалина вызывает **галлюцинации**, приводит к **повышению сексуальной активности** и обострению **чувствительности**.
 - Токсическими эффектами являются **агрессивность**, **тревога** и **чувство беспокойства**, **неадекватное ощущение пространства и цвета**, **психотические реакции**.
 - Мескалин получают экстракцией из различных частей кактуса **Lophophora Williamsii Lemaire** или **синтезируют** в лаборатории. Наряду с мескалином, другие алкалоиды Lophophora Williamsii, такие как **ангалонидин**, **ангалонин** и **пеллотин**, также вызывают галлюциногенные эффекты.
- Наибольшее содержание **мескалина** в цветках, которые имеют окраску коричневого цвета и размер 2,5-5 см в диаметре. Они редко встречаются в незаконном обороте, т.к. имеют очень горький вкус. Поэтому цветки обычно растирают в темно-коричневый порошок и продают в желатиновых капсулах.

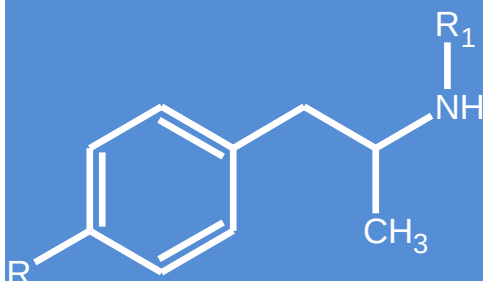
Синтетические фенилалкиламины



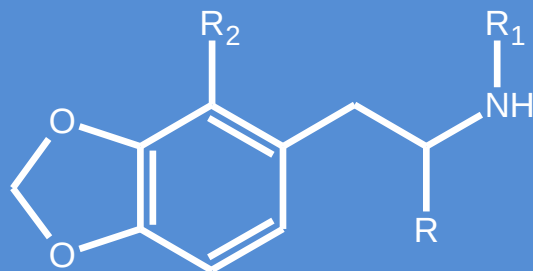
A - B



C



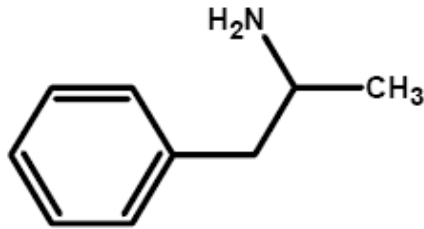
C



D

- A. Амфетамин
- B. Метамфетамин
- C. Метоксизамещенные по бензольному кольцу
- D. Метилendioкси производные

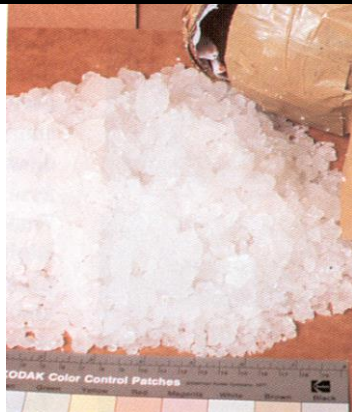
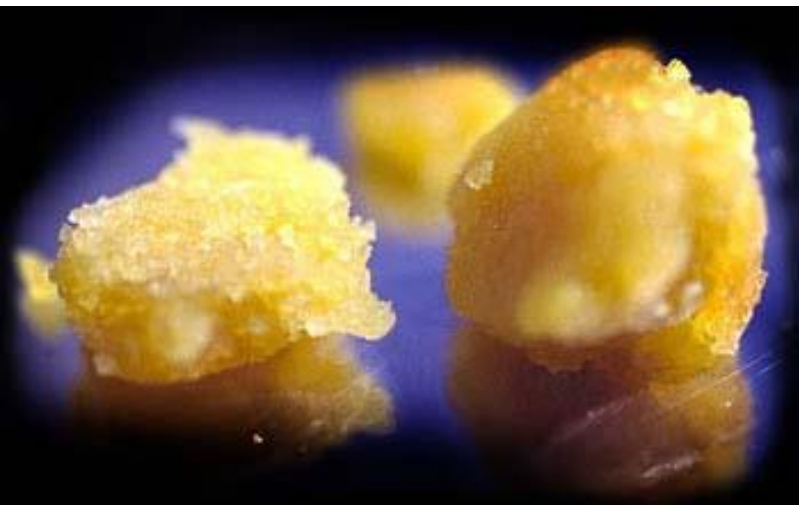
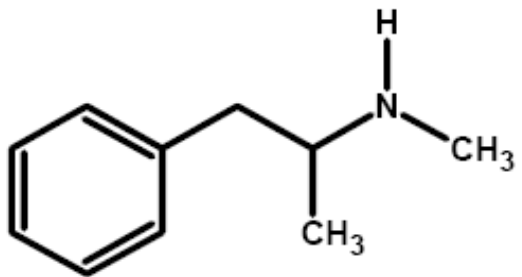
Амфетамин



отнесен к Списку I Перечня
наркотических средств и психотропных
веществ

- Впервые синтезирован в 1887 г, как аналог эфедрина, и получил широкое распространение в медицине в качестве **бронхорасширяющего** средства.
- В 20-30 г 20-века стал использоваться как стимулятор ЦНС, для подавления аппетита, для лечения **гипокинезии** у детей и **нарколепсии**.
- Основными и тяжелейшими последствиями приема являются: увеличение вероятности **инсульта**, **гипертония**, **аритмии**, **параноидальные психозы**.
- Для снижения аппетита и повышения активности использовались разовые дневные **пероральные дозы 5 – 15 мг**.
- Оральная или внутривенная дневная доза для наркоманов может достигать **до 2000 мг**.
- Входит в состав антидота для фосфорорганических веществ из армейской индивидуальной аптечки «А-1» - **афин**.

Метамфетамин

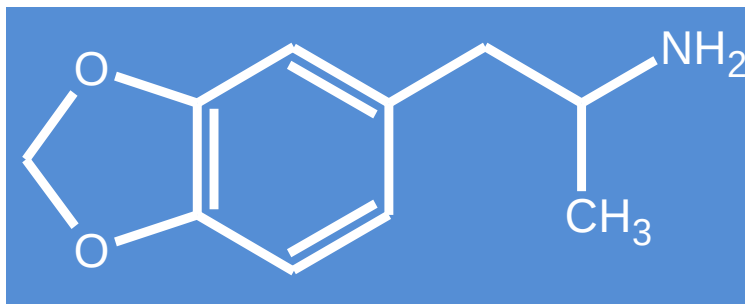


- Впервые синтезирован в 1919 г.
- Незаконно синтезируемый из фенилацетона и N-метилформамида представляет собой **рацемат**, из эфедрина с применением красного фосфора и йодистоводородной кислоты — **d-изомер**.
- Как гидрохлорид в разовых пероральных дозах 2,5-15 мг за рубежом применяется для лечения **ожирения**. Там же доступен в виде таблеток по 2,5-5 мг или таблеток пролонгированного действия по 5-15 мг.
- С немедицинскими целями используется путем **внутривенного** или **внутримышечного** введения, перорально, а также **вдыханием паров**, после смешивания с марихуаной, табаком или петрушкой.
- Наиболее опасной формой является «**лед**» - кристаллическая форма метамфетамина гидрохлорида.
- Часто используется в смесях с **кокаином**, **героином** или **другими наркотиками**.

отнесен к Списку I Перечня наркотических средств и психотропных веществ

Синтетические фенилалкиламины

метилendioксиамфетамин

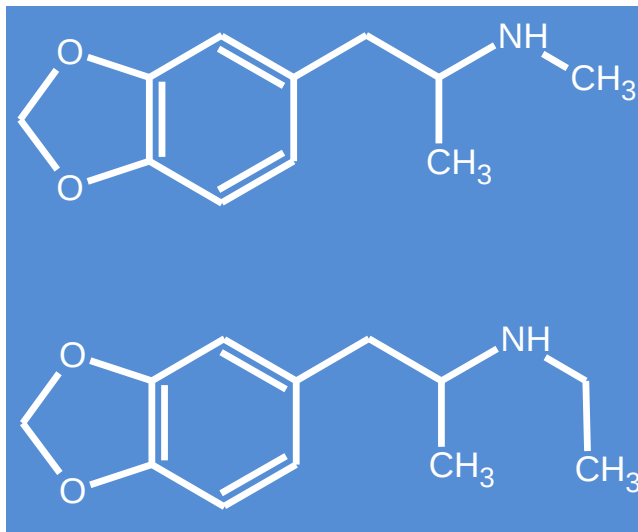


- МДА впервые был синтезирован в 1910 году
- Широкое распространение в незаконном обороте наркотиков МДА получил в Америке в конце 60-х - начале 70-х гг. и был известен как **Mellow Drug** (таблетки Меллоу) или **Love Drug** (таблетки любви).
- При принятии **малых доз** МДА (менее 80 мг) достигается стимулирующий эффект.
- В **средних дозах** (80-150 мг) МДА вызывает психотропные эффекты, проявляющиеся в чувстве расслабленности, прояснении сознания, улучшении настроения, возникновении стремления к общению с людьми, облегчении отношения к себе и прошлому.
- **Большие дозы** (более 150 мг) приводят к галлюциногенным эффектам с искажением визуальных, акустических и тактильных ощущений.
- Доза выше 500 мг является **смертельной**.
- Практически все препараты, в состав которых входит МДА, встречаются в виде **таблеток**, содержащих 200-230 мг вещества, и употребляются перорально.

отнесен к Списку I Перечня
наркотических средств и
психотропных веществ

Синтетические фенилалкиламины

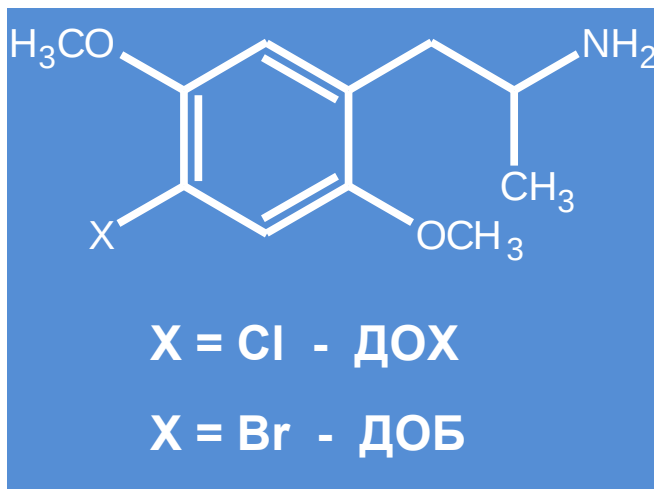
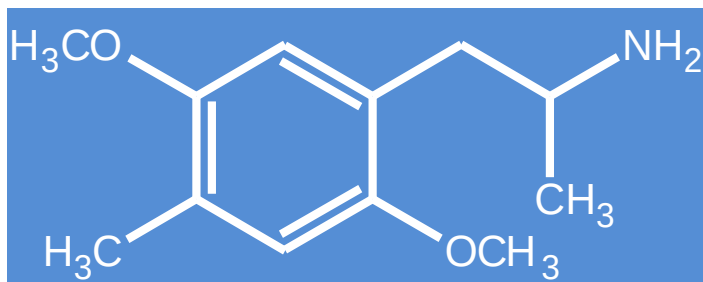
метилendioксиметамфетамин и метилendioксиэтиламфетамин



- **МДМА** - впервые был синтезирован в 1914 году.
- Употребление МДМА расширяет границы и повышает способность восприятия. Потребители МДМА описывают его действие как "отделение души от тела".
- Средняя разовая доза при приеме перорально составляет **около 100 мг**. Действие начинается через 30-60 мин и продолжается 4-6 часов.
- МДМА вызывает высокую психическую зависимость.
- В незаконном обороте этот наркотик появился в конце 70-х гг. в виде таблеток, капсул и порошков, **содержащих 50-100 мг** действующего вещества.
- **N-этил-МДА (МДЕА)** - впервые синтезировали в 1980 г. Действие МДЕА начинается через полчаса после приема, длится 3-5 часов, а затем медленно ослабевает.
- Действующая доза составляет около 120 мг. Смертельная доза - более 500 мг.
- МДЕА вызывает состояние **эйфории**, повышение **коммуникабельности**, в определенных условиях происходит резкая смена настроения от эйфории к депрессии. Вызывает психическую зависимость средней силы.

к Списку I Перечня наркотических средств и психотропных веществ

Замещенные по бензолу амфетамины



- ДОМ/СТР впервые появился в незаконном обороте наркотиков в 1967 г. в США в виде таблеток под названиями, характеризующими его действие: STR, Serenity (безмятежность), Tranquility (спокойствие), Peace (мир).
- ДОМ/СТР действует как галлюциноген и обладает активностью в 80-100 раз более высокой, чем мескалин, но в 50-60 раз более низкой, чем ЛСД.
- Высокой активностью обладает ДОХ. Этот наркотик появился впервые в незаконном обороте в США в 1972 г., а в Канаде, Австралии и Европе в конце 70-х, начале 80-х гг.
- Препараты, содержащие ДОХ, встречаются в виде таблеток, порошков и пропитки на бумажных носителях. Обладает активностью близкой к ДОБу. Описываемые ощущения сравнивают с состоянием комфорта в теле, мыслях, появлении галлюцинаций, связанных с цветными картинками и т.д.
- Для наиболее активных амфетаминов (ДОБ, ДОХ и ДОМ) распространены средства в виде пропитанных веществом бумажек, аналогичных бумажкам с ЛСД. Остальные наркотики этой группы встречаются в виде порошков, капсул, но прежде всего, в виде таблеток.

отнесены к Списку I Перечня
наркотических средств и
психотропных веществ

Внешний вид таблеток «экстази»



144 Ecstasy (MDMA) Tablets
photographer unknown

- Кроме самих амфетаминов или их смеси, в **состав таблеток** могут входить такие вещества как героин, фентермин и флунитразепам.
- Часто в **таблетках** встречаются кофеин, аспирин, парацетамол, альфа-метилбензиламин, эфедрин, хинин, изосафрол, лидокаин, тестостерон, хлорамфеникол.
- В качестве **наполнителей** для таблеток и порошков, как правило, используют крахмал, лактозу, глюкозу, фруктозу, карбонат кальция, маннит, сорбит и др, а в качестве связующего при таблетировании - поливиниловый спирт.



Основные типы фармакологического действия

- Стимулирующее ЦНС
- Галлюциногенное
- Бронхорасширяющее
- Подавление аппетита

Наркотическое опьянение

- Соматические признаки

- резкое повышение артериального давления, учащение дыхания, сердечная аритмия, в частности преждевременное сокращение желудочков сердца

- Вегетативно-неврологические признаки

- тремор, озноб, головокружение, повышенная потливость, гиперрефлексия, резко расширенные зрачки, резкое снижение аппетита, бессонница

- Психическая сфера

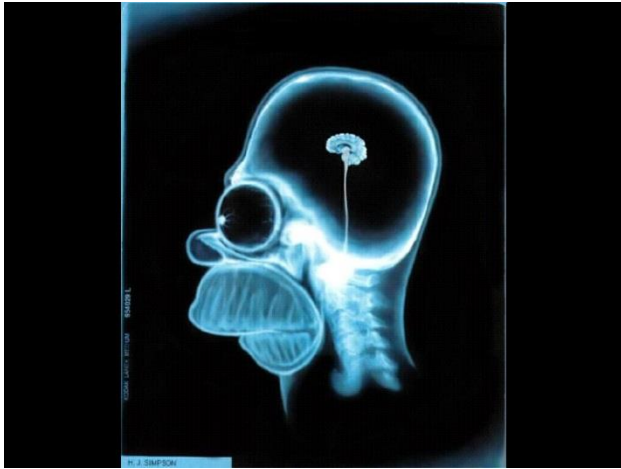
- ощущение притока энергии, веселость, оживление, многоречивость, раздражительность, беспокойство, тревога, агрессивное поведение, стремление все время находиться в движении, стереотипия (многочасовые, монотонные действия), при передозировке – галлюцинации, психотические расстройства и прочее.

Абстинентный синдром

- Амфетамины **не дают выраженных** проявлений физической зависимости, но при резком прекращении приема возникает резко очерченная абстиненция.
- **При резком прекращении приема:**
 - стойкая бессонница, депрессия с идеями самообвинения, иногда с суицидальными тенденциями.
- **Лишение стимуляторов:**
 - психоз, расстройства сна, помрачение сознания, двигательное возбуждение, в некоторых случаях преобладают бредовые идеи преследования, галлюцинации.

Хроническая интоксикация

- Характеризуется **выраженной психической**, иногда очень интенсивной, зависимостью. **Физическая зависимость** – в меньшей степени.
- Амфетамины часто маскируют хроническую усталость, недосыпание, снижение настроения, и их внезапная отмена вызывает **проявление** данных симптомов **в более резкой форме**.
- **Хроническая интоксикация** приводит к общему истощению, заметному падению веса тела, вегето-сосудистым нарушениям, нарушениям функций желудочно-кишечного тракта, бессоннице, тахикардии, аритмии, гипертонии, раздражительности, возбудимости, патологическом развитии личности.
- **Длительное применение стимуляторов** ведет к снижению интеллекта, патологической обстоятельности мышления, заикливанию на несущественных деталях, сужению круга интересов.



Рекомендованные методы анализа

- Капельный химический анализ
- Тонкослойная хроматография
- Газовая хроматография – масс
спектрометрия

Капельный химический анализ

- При исследовании **таблеток**, часть таблетки массой 5-10 мг растирают в ступке, растертый порошок помещают в фарфоровую чашку и добавляют 2-3 капли **реактива Марки**, наблюдая при этом появившуюся окраску. Через 10-15 минут фиксируют изменение окраски, если оно наблюдается.
- При исследовании вещества **на бумажных носителях** к 1-2 измельченным ножницами бумажкам, размером 1 см на 1 см, содержащим ДОБ, ДОХ или ДОМ добавляют 1 мл хлороформа, каплю 0,1 N водного раствора КОН (NaOH), доводят растворитель до кипения, после охлаждения отбирают растворитель, стараясь не захватить водный слой, и упаривают его досуха. К упаренному экстракту добавляют 2-3 капли реактива Марки.

Капельный химический анализ

№ п/п	Амфетамин	Окраска с реактивом Марки
1	МДА	сине-черный → зеленовато-черный
2	МДМА	сине-черный → зеленовато-черный
3	МДЕА	сине-черный → зеленовато-черный
4	ДОМ/СТР	желтый
5	ПМА	светло-серый
6	ДМА	желто-зеленый → коричневый
7	ТМА	оранжевый
8	ДОБ	зелёный → изумрудно-зелёный
9	ДОХ	желто-зелёный
10	МБДБ	сине-черный → зеленовато-черный
11	БДБ	сине-черный → зеленовато-черный
12	ДОЭТ	светло-коричневый → зеленый
13	Мескалин	оранжевый
14	Метамфетамин	коричневый

Тонкослойная хроматография

- Часть **таблетки** массой 3-10 миллиграммов растирают в ступке, добавляют 0,5 мл хлороформа, добавляют каплю 0,1 N водного раствора КОН (NaOH) и нагревают до начала кипения.
- Если соответствующий амфетамин нанесен **на бумажки** (что встречается в случае активных амфетаминов, таких как ДОБ, ДОМ, ДОХ), к 1-2 измельченным ножницами бумажкам, размером 1 см на 1 см, добавляют 1 мл хлороформа, каплю 0,1 N водного раствора КОН (NaOH) и доводят растворитель до кипения, после охлаждения отбирают растворитель, стараясь не захватить водный слой и упаривают его до объема 4-5 капель. После охлаждения 4-5 мкл полученных экстрактов наносят на хроматографическую пластину.
- **Для хроматографирования рекомендуются** следующие системы растворителей:
 - **хлороформ-ацетон-этанол-25%-ный раствор аммиака 20:20:3:1.**
 - **толуол-этанол-триэтиламин 9:1:1.**

Тонкослойная хроматография

Значения R_f в системе хлороформ-ацетон-этанол-25%-ный водный раствор аммиака
20:20:3:1

№ п/п	Вещество	Пластины Merck		Пластины Сорбфил		Окраска хроматографических зон	
		R_f	R_s	R_f	R_s	реактив Марки	нингидрин
1	МДА	0,44	1,76	0,66	1,73	синие-зеленый →зелено- черный	желтый
2	МДМА	0,12	0,48	0,23	0,60	синие-зеленый → зелено- черный	фиолетово- коричневый
3	МДЕА	0,27	1,08	0,46	1,20	синие-зеленый → зелено- черный	сливается с фоном
4	ДОМ/СТР	0,30	1,20	0,46	1,21	желтый	желтый
5	ПМА	0,43		0,64		сливается с фоном	желтый
6	ДМА	0,38	1,52	0,54	1,42	желтый	желтый
7	ТМА	0,30	1,20	0,43	1,13	оранжевый	желтый
8	ДОВ	0,34	1,36	0,41	1,08	желтый→ изумрудно- зеленый	оранжевый
9	ДОХ	0,44	1,76	0,60	1,58	желто-зеленый	желтый
10	МБДБ	0,26	1,04	0,41	1,08	синие-зеленый → зелено- черный	фиолетово- коричневый
11	БДБ	0,60	2,40	0,74	1,95	синие-зеленый → зелено- черный	желтый
12	ДОЭТ	0,36	1,44	0,52	1,37	желтый	желтый
13	Мескалин	0,36	1,44	0,50	1,32	оранжевый	фиолетовый
14	Метамфетамин	0,25	1,00	0,38	1,00	коричневый	фиолетовый

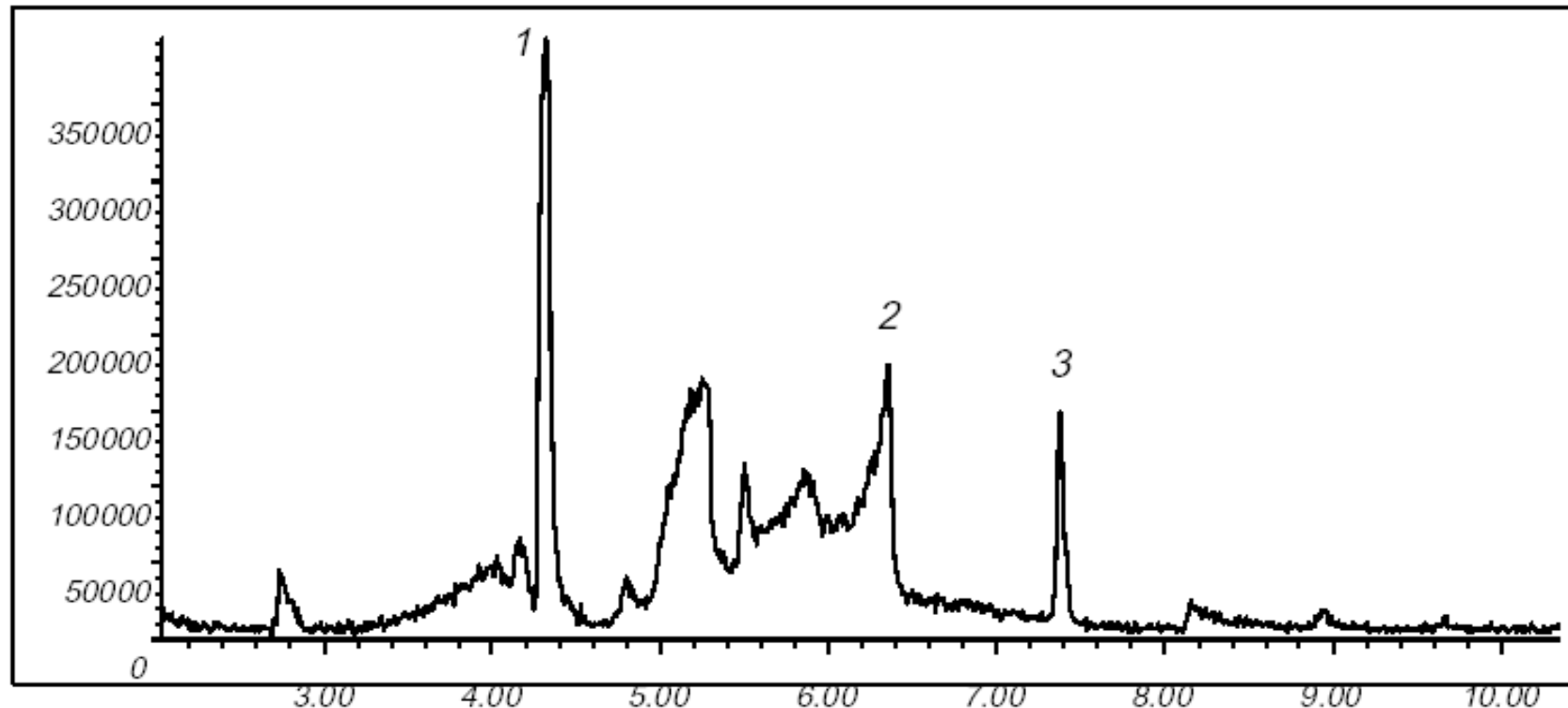
Тонкослойная хроматография

Значения Rf амфетаминов в системе толуол-этанол-триэтиламин (диэтиламин)
9:1:1

№ п/п	Вещество	Пластины Merck		Пластины Сорбфил		Окраска хроматографических зон
		Rf	Rs	Rf	Rs	Реактив Марки
1	МДА	0,31	0,86	0,46	1,00	сине-зеленый → зелено-черный
2	МДМА	0,36	1,00	0,46	1,00	сине-зеленый → зелено-черный
3	МДЕА	0,56	1,56	0,64	1,40	сине-зеленый → зелено-черный
4	ДОМ/СТР	0,32	0,89	0,43	0,93	желтый
5	ПМА	0,21	0,58	0,36	0,63	сливается с фоном
6	ДМА	0,33	0,92	0,42	0,91	желтый
7	ТМА	0,19	0,53	0,30	0, 65	оранжевый
8	ДОБ	0,30	0,83	0,40	0,87	желтый→изумрудно-зеленый
9	ДОХ	0,31	0,86	0,43	0,93	желто-зеленый
10	МБДБ	0,54	1,50	0,62	1,35	сине-зеленый → зелено-черный
11	БДБ	0,48	1,30	0,59	1,28	сине-зеленый → зелено-черный
12	ДОЭТ	0,36	1,0	0,40	0,87	желтый
13	Мескалин	0,10	0,28	0,12	0,26	оранжевый
14	Метамфетамин	0,36	1,00	0,46	1,00	коричневый

Газовая хроматография

недериватизированные амфетамины



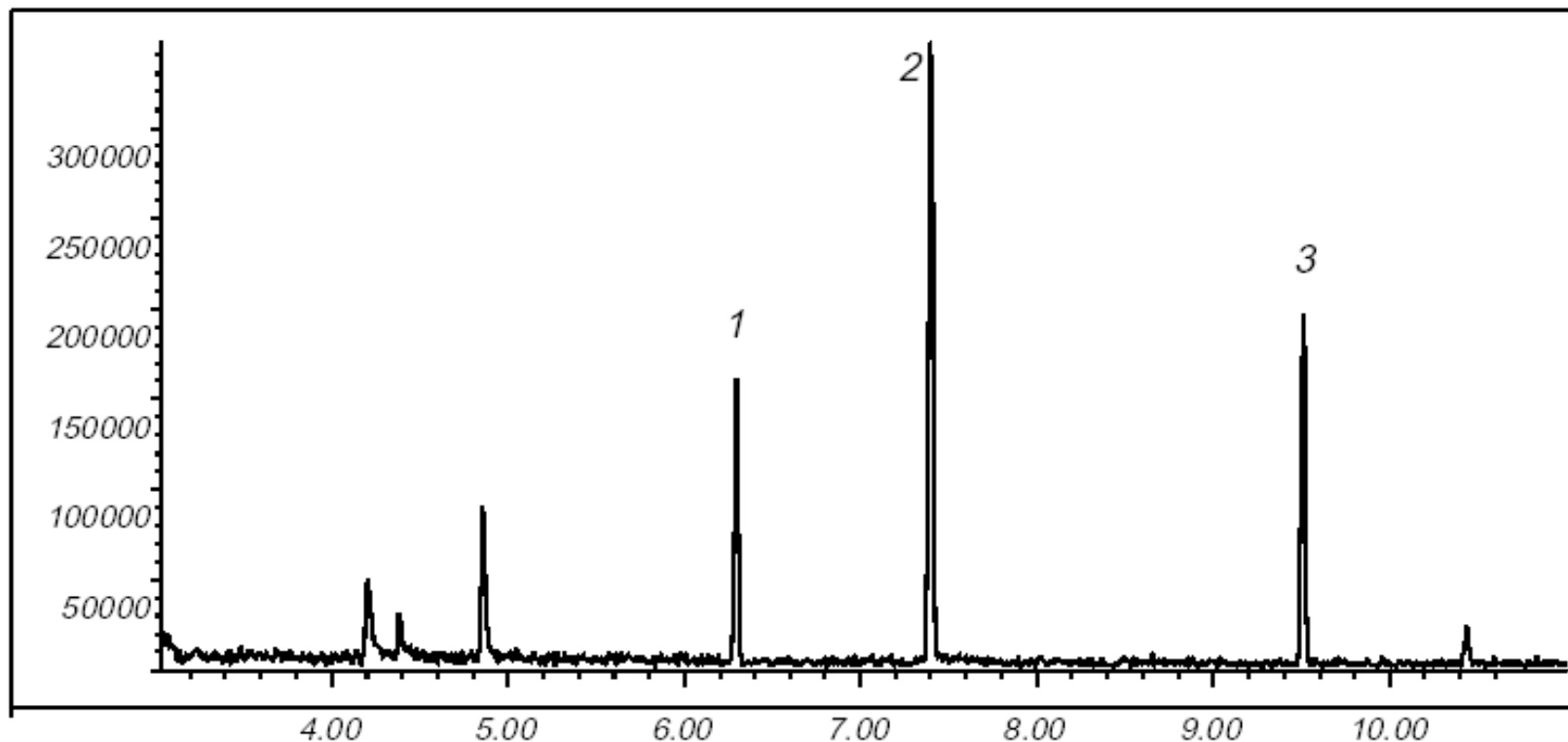
1. Amphetamine 2. Methamphetamine 3. Ephedrine

DB-5ms 30 m x 0.25 mm I.D., 0.25 μ m

Split 1:100 MS full scan

Газовая хроматография

ТФА-производные амфетаминов

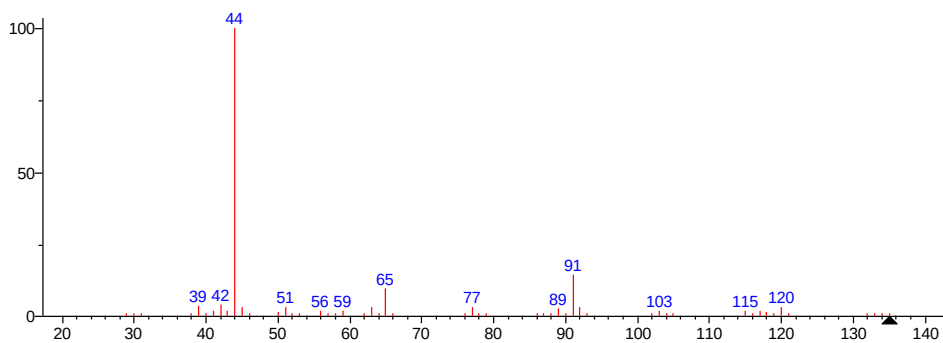


1. Amphetamine 2. Methamphetamine 3. Ephedrine
DB-5ms 30 m x 0.25 mm I.D., 0.25 μ m
Split 1:100 MS full scan

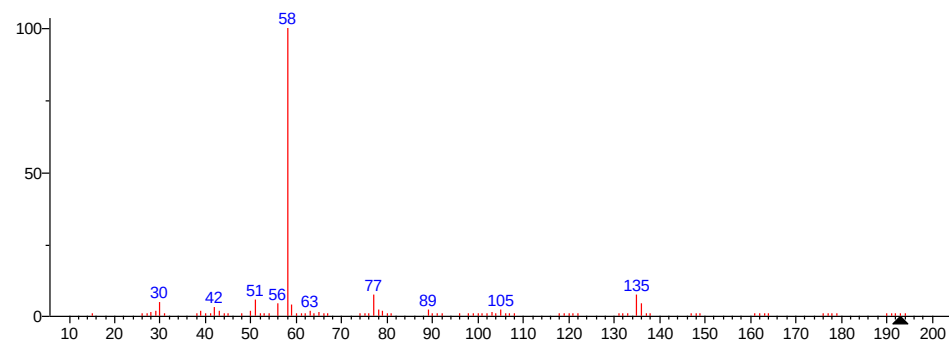
Методика получения производных

- Сухой остаток после экстракции растворяют в 0,5 – 1,0 мл толуола.
- Добавляют 50 – 100 мкл дериватизирующего реактива.
- Закрывают и нагревают до 60⁰С в течение 30 мин.
- Охлаждают до комнатной температуры.
- Добавляют 1,0 мл 5% раствора бикарбоната натрия и тщательно перемешивают.
- Верхнюю фазу анализируют методом ГХ или ГХ-МС. При необходимости пробу разбавляют.

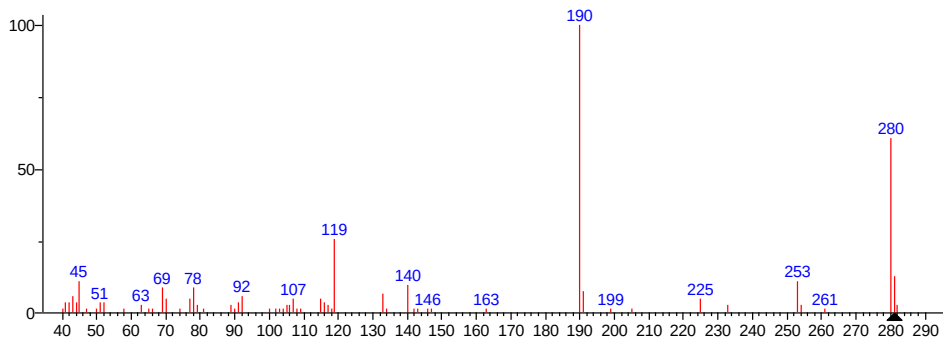
Масс спектры модифицированных и нет амфетаминов



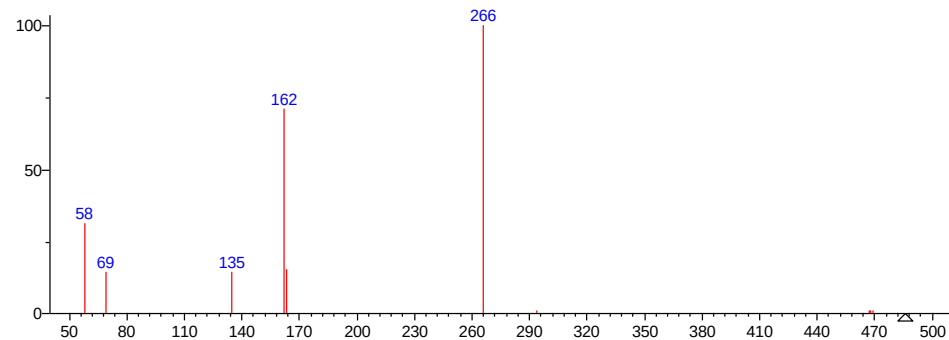
(wiley7n) Benzeneethanamine, ð-methyl-



(wiley7n) 1,3-Benzodioxole-5-ethanamine, N,N-dimethyl-



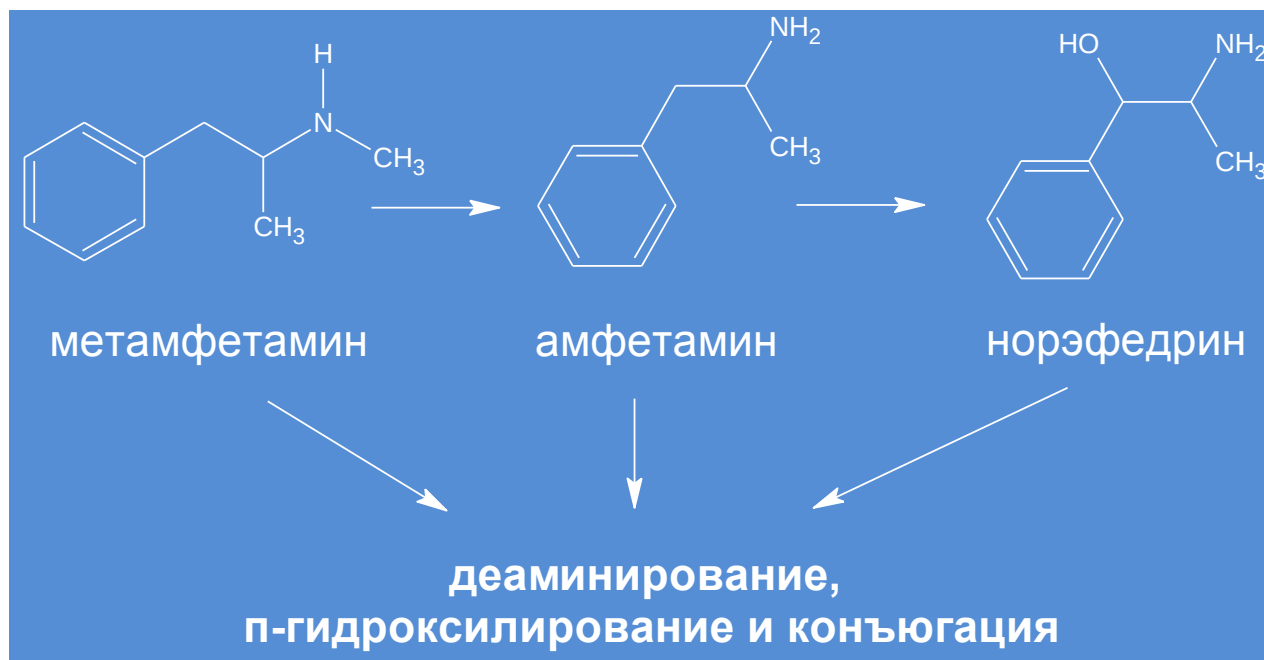
(wiley7n) Amphetamine FFP



(wiley7n) MDMA, N-HFBP derivative

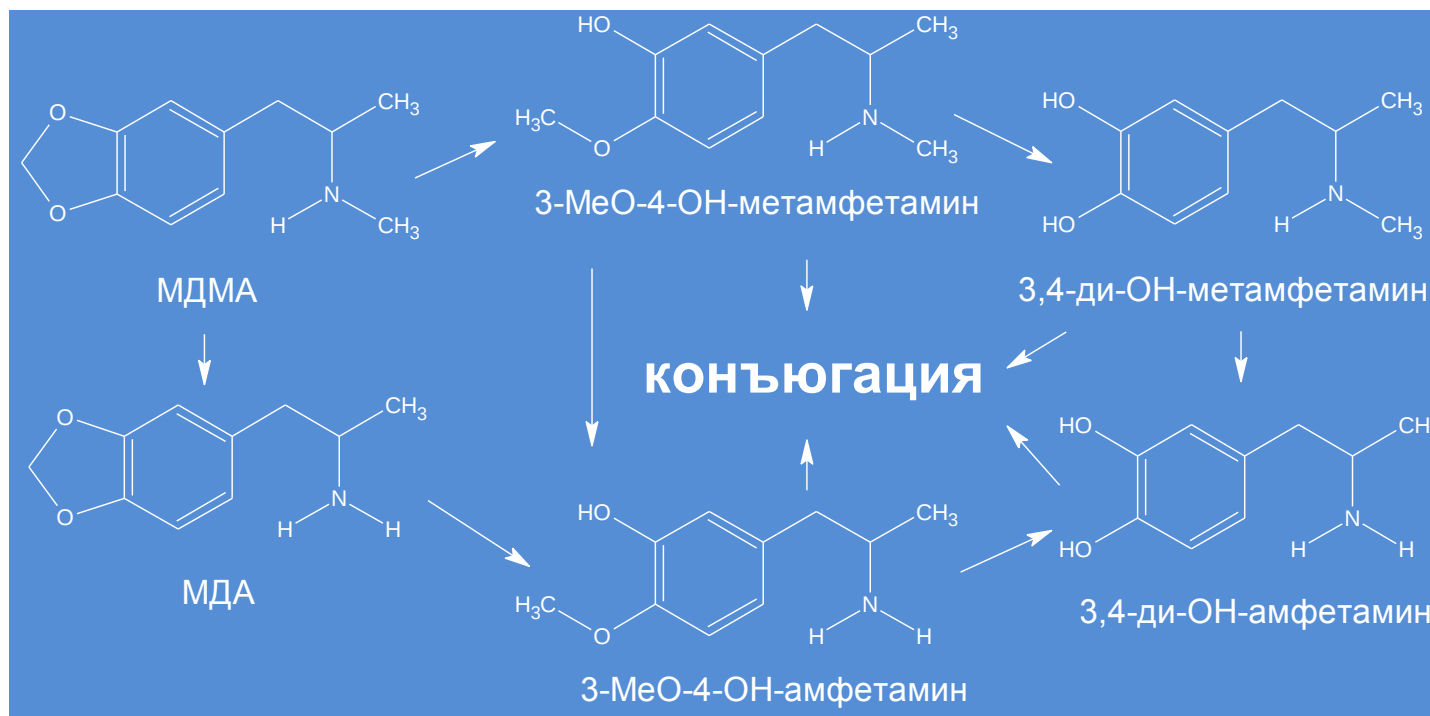
Анализ биообъектов

Схема метаболизма метамфетамина



- Основным метаболитом является **АМФЕТАМИН**.
- При нормальных условиях до 43% от принятой дозы в суточной моче определяется как неизмененный **метамфетамин** и 4-7% как **амфетамин**. В кислой моче до 76% и 7%, а щелочной – 2% и менее 0,1%, соответственно.
- Около 15% от принятой дозы выводится в виде **п-гидроксиметамфетамина**, а также **метаболитов амфетамина**.
- Концентрации метамфетамина в суточной моче после разового приема 10 мг составляют 0,5-4,0 мг/л, а 30 мг – до 7 мг/л. В моче наркоманов концентрации метамфетамина составляют 24-333 мг/л, а амфетамина – 1-90мг/л.

Схема метаболизма МДМА



- Метаболизирует путем N-деметилирования в **МДА**.
- **65%** от принятой дозы выводится с мочой за 3-е суток как неизмененное вещество и **7%** как МДА.
- Концентрация МДМА в моче после приема 105 мг составила **17 мг/л**, а МДА **менее 3 мг/л**.

Общая схема проведения исследований

- Экстракция (*изолирование* из биолог. Материала)
 - (ненаправленный анализ) общими методами хлороформом в виде оснований из водных вытяжек при pH=8-10.
 - направленный анализ производные фенилалкиламинов экстрагируют из водных вытяжек при pH=12 диэтиловым эфиром или хлороформом.
 - для изолирования производных фенилалкиламинов из мочи использовать твердофазную экстракцию.
- Очистка
 - Реэкстракция
- Обнаружение

Химические реакции

С осадительными реактивами фенилалкиламины образуют аморфные или кристаллические осадки.

- *с реактивом Марки.*

-*с нингидрином*

Микрориссталлоскопические реакции .

- *с реактивом Драгендорфа в модификации А. С. Тищенко.*

Эфедрин образует игольчатые кристаллы и кристаллы в виде пластинок неправильной формы и сростки из них

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

Тонкослойная хроматография

Остаток после испарения экстракта из водной вытяжки при pH=11-12 наносят на пластинки <<Сорбфил>>. Параллельно наносят <<стандарты>>

Системы растворителей

- бензол - этанол - диэтиламин (9:1:1),
- хлороформ - ацетон - этанол - 25% раствор аммиака (20:20:3:1)
- толуол - этанол - триэтиламин (9:1:1).

УФ-спектрофотометрия Эфедрин, амфетамин и метамфетамин в среде HCl имеют три полосы поглощения с максимумами при 251, 257 и 263 нм. В УФ-спектре раствора эфедрона обнаруживается одна полоса с максимумом при длине волны 251 нм.

Иммунохимические методы

ГХ-МС

ВЭЖХ

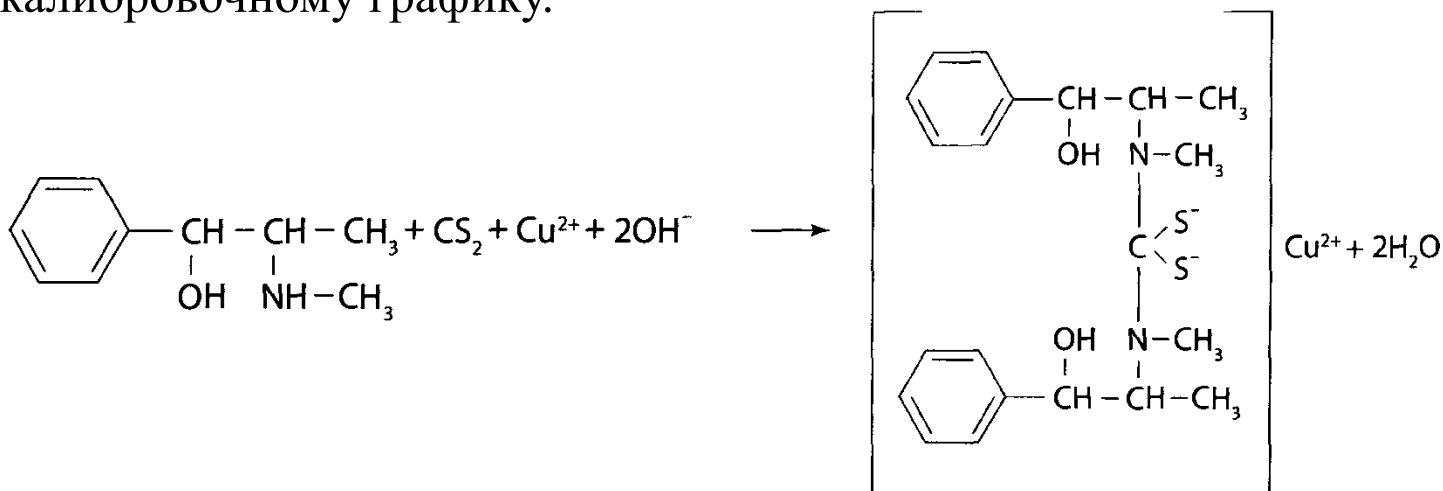
ИК- спектроскопия

Количественное определение

• Экстракционно-фотометрический метод

5 мл мочи подщелачивают 0,5% раствором гидроксида натрия до pH=12 и экстрагируют 3 раза 20 мл диэтилового эфира. Эфирные экстракты объединяют и испаряют досуха. Остаток переносят в колориметрическую пробирку, добавляют до насыщения кристаллический сульфат натрия и смешивают с 1 мл аммиачного раствора сульфата меди и 3 мл 5% раствора сероуглерода в бензоле. Слой бензола **окрашивается в желтый цвет**.

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



○ Высокоэффективная жидкостная хроматография