

ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ОПИАТОВ

1. Классификация опиатов и наркотических анальгетиков

По источникам получения и химическому строению суррогаты опия и наркотические анальгетики делятся на:

- природные алкалоиды, содержащиеся в растении *Papaver somniferum*
- морфин и морфиноподобные вещества (опиаты);
- полусинтетические соединения, полученные путем химического модификации молекулы морфина;
- соединения, созданные в результате полного химического синтеза, обладающие опиоподобными свойствами (опиоиды).

Нелегальные и фармакопейные препараты – опий, героин, морфин, пантопон, морфилонг, омнопон, кодеин, дионин, бупренорфин, метадон, фентанил и его аналоги; препараты, содержащие вещества группы опия – капли и таблетки желудочные, кодтерпин, кодтермокс и др., особенно суррогаты опия, могут быть причиной острых экзогенных отравлений.

Основные классы опиатов и наркотических анальгетиков представлены в таблице 2.

Таблица 2. Основные классы опиатов и наркотических анальгетиков

Наркотические вещества, изготавливаемые из растения <i>Papaver somniferum</i>	Наркогены: ● Маковая соломка («кокнар»), ● Настойка маковой соломки, ● Опий-сырец, ● Медицинский опий, ● Суррогаты опия «ханка», «черняшка», «султыга»
Наркотические вещества, извлекаемые из опия	Фармацевтические средства: ● Морфин, ● Кодеин
Полусинтетические производные морфина:	Наркогены: ● Героин, ● Героин + кокаин (Speed ball) ● Героин + стрихнин Фармацевтические средства: ● Апоморфин ● Налорфин
Синтетические морфиноподобные вещества	Фармацевтические средства: ● Пентазоцин (производное бензоморфана), ● Нальбуфин (производное морфинана), ● Трамадол (производное морфинана). Средства заместительной терапии героиномании: ● Метадон, ● Пропоксифен.
Опиоиды	Наркогены: ● Фентанил и его гомологи. Фармацевтические средства:

	● Петидин, ● Этогептазин, ● Лоперамид.
--	--

Виды опия:

Опий-сырец - опийная смола - мягкая бесформенная масса темно-бурого цвета со специфическим запахом. Представляет собой сгущенный млечный сок, получаемый из недозревших головок снотворного мака. Высушенный сок – это опий-сырец. После высушивания при температуре до 60 °С превращается в порошок от светло-желтого до светло-бурого цвета. В состав входят более 50 алкалоидов, содержание которых доходит до 20% общей массы. Остальную часть составляют углеводы, кислоты, жиры, аминокислоты.

Медицинский опий – тонкий порошок светло-коричневого цвета, имеет характерный запах. В состав опия входят различные активные алкалоиды (от 25 до 50 и более), ряд органических и неорганических компонентов, а также индифферентные вещества (меконин, меконоизон и опионин). Входящие в состав опия алкалоиды являются производными фенантрена (морфин, кодеин, тебаин) и изохинолина (папаверин, наркотин, нарцеин и др.)

Суррогаты опия - комплекс морфиноподобных соединений, экстрагированных кустарным способом из маковой соломки или опия-сырца - “ханка”, “черняшка”, «султыга» и др. В них неизбежно присутствие веществ, используемых для извлечения активной фракции в процессе обработки (уксусный ангидрид, ацетон и др.).

Опиумные шлаки - продукт, остающийся в трубке после курения опия, еще содержит значительные количества морфина. Смешивается с сырцом или обработанным опиумом для дальнейшего использования.

Омнопон – это смесь гидрохлоридов алкалоидов опия. В состав входят около 50% морфина и 32-35% других алкалоидов. Омнопон представляет собой порошок от кремоватого до коричневатого-желтого цвета. Он растворяется в воде (1:15) и этаноле (1:50). При взбалтывании водных растворов омнопона они сильно пенятся. Омнопон применяется в тех же целях, что и морфин. Меконовая кислота и меконин в омнопоне отсутствуют.

Характеристическим компонентом опия является – меконовая кислота, содержание которой может доходить до 15% и лактон меконин, не обладающие психоактивными свойствами. Алкалоидный состав опия представлен в таблице 3.

Таблица 3. Алкалоидный состав опия

Группа	Содержание в опии, %	Структура молекулы	Представители
Морфина	3-23	Фенантреновый цикл	Морфин, кодеин, тебаин, псевдоморфин, неопин
Папаверина	0,5-1,3	Бензил-изохинолиновый цикл	Папаверин, лауданозин, некоторые другие минорные алкалоиды

Наркотина	2-8	Фталил- изохинолиновый цикл	Наркотин, нарцеин
-----------	-----	--------------------------------	-------------------

2. Токсикологическое значение опиатов

Опий наиболее доступный для наркоманов продукт. Его могут употреблять в виде смесей для курения. Однако чаще всего из него готовят вытяжки для внутривенного введения.

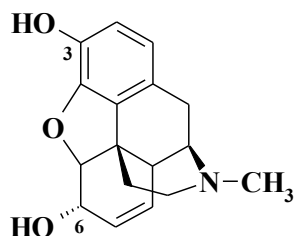
Острое отравление развивается постепенно, так как эти препараты медленно всасываются. Появляется головокружение, тошнота, рвота, наступает сонливость, а затем непробудный сон. Зрачки узкие, не реагирующие на свет. Дыхание поверхностное, замедленное, иногда, пульс слабый, еле прощупывается. Лицо бледное с синюшным оттенком. Глубокое угнетение ЦНС заканчивается параличом дыхательного центра. Смертельный исход наступает при явлениях нарастающего отека легких. Дифференциальная диагностика отравления опиумом с отравлением морфином затруднена.

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

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

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

Морфин и другие морфиновые алкалоиды встречаются в растениях рода мак, стефания, синомениум, луносемянник. Реже они встречаются в родах кротон, коккулюс, триклизия, окотея.



Морфин один из основных представителей группы наркотических анальгетиков, используемых в медицинской практике. Это сильное болеутоляющее средство, действие которого обусловлено стимуляцией μ -, δ - и κ -опиатных рецепторов. Морфин оказывает противошоковое действие при травмах, которое объясняется понижением возбудимости болевых центров. Снотворное действие морфина проявляется при принятии больших доз. Медицинская промышленность

выпускает морфин в виде порошка во флаконах по 0,3 г, таблеток по 0,01 г, 1% раствора в ампулах и шприц-тюбиках по 1 мл.

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

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

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

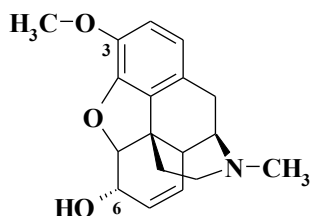
Постоянное употребление препаратов опийной группы приводит к психической и физической деградации и ранней гибели больных. При внезапном прекращении приема морфина развивается коллаптоидное состояние, опасное для жизни, которое длится от нескольких часов до 5-6 суток.

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

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

Физико-химические свойства морфина: белые игольчатые кристаллы или белый или мелкокристаллический порошок, желтеющий при хранении. Основание морфина трудно растворимо в воде, спирте и диэтиловом эфире. Соли морфина (ацетаты, гидрохлорида, сульфаты, тартраты) растворимы в спирте и воде, нерастворимы в эфире. Кристаллизуется с одной молекулой воды. При 100 °С теряет воду, при 254 °С плавится с разложением.

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



В медицинской практике кодеин назначают для подавления возбуждения кашлевого центра и реже при диарее. Его часто сочетают в лекарственных формах с анальгином, кофеином, фенobarбиталом. Кодеин способен усилить действие жаропонижающих и анальгезирующих средств. Такие комбинированные лекарственные препараты применяют при головных болях, невралгиях, мигренях и т.п. Максимальные дозы кодеина: разовая – 0,05 г. суточная – 0,2 г. Выпускают кодеин в виде порошка и таблеток (с гидрокарбонатом натрия) по 0,015 г. Кодеин входит в состав комбинированных препаратов «Коделак», «Терпинкод», «Кодтерпин», «Таблетки от кашля», «Пенталгин», «Кодипронт», «Седалгин».

Кодеина фосфат по характеру действия и показаниям аналогичен кодеину (содержит 80% кодеина основания).

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

При приеме больших доз кодеина (0,2-0,3 г) отмечается угнетение дыхательного центра, возбуждающий эффект с подъемом нервно-психического тонуса. Смертельная доза кодеина составляет 0,5 г. Признаки отравления проявляются через 30-40 мин после приема симптомами сонливости, головной боли, шума в ушах, тошноты, жжения в под ложечкой, сухости во рту, заторможенности.

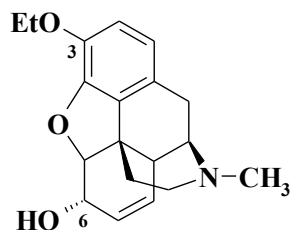
При тяжелом отравлении развивается глубокая кома с полной потерей рефлексов. Смерть наступает от остановки дыхания.

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

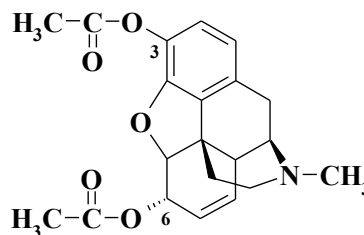
Физико-химические свойства кодеина: основание кодеина хорошо растворимо в воде, эфире, хлороформе, спирте. Соли кодеина (гидрохлорид, фосфат, сульфат) хорошо растворимы в воде и плохо растворимы в хлороформе, спирте.

Этилморфин (дионин). Этот лекарственный препарат по действию близок к кодеину. Этилморфин применяют внутрь (редко) для уменьшения возбуждения кашлевого центра при хронических бронхитах, туберкулезе легких и как болеутоляющее средство. Его назначают по 0,01-0,03 г на прием. Максимальные дозы: разовая – 0,03 г, суточная – 0,1 г. Иногда этилморфин используют в офтальмологической практике. Препарат оказывает анальгезирующее действие на глаза при кератите, ирите, инфильтратах роговой оболочки, конъюнктивите, воспалении радужной оболочки и других заболеваниях глаз. В глазной практике этилморфин применяют в виде 1-2% растворов или мази. Формы выпуска - порошок и таблетки по 0,015 г. Этилморфин оказывает слабое действие на ЦНС. Картина отравления этилморфином напоминает картину отравления кодеином.

Физико-химические свойства этилморфина: это белый кристаллический порошок без запаха, горького вкуса. Гидрохлорид этилморфина хорошо растворим в воде и спирте, но плохо растворим в хлороформе и эфире.



Этилморфин



Героин

Героин. Это быстродействующий наркотический анальгетик с малым периодом полувыведения. Он относится к числу наиболее опасных наркотических средств. Героин является синтетическим веществом, изготавливаемым в подпольных лабораториях. Его получают по реакции ацетилирования из морфина и морфинсодержащего сырья, к которому относится морфин-сырец, экстракционный опий, экстракт маковой соломки и др. Продуктом реакции является 3,6-ди-О-ацетилморфин. Полученный таким образом героин содержит примеси алкалоидов, не подвергшихся ацетилированию, 6-О-ацетилкодеин, носкапин, меконин (продукт восстановительного разложения носкапина) и др.

На нелегальный рынок с целью разбавления героин часто поступает с добавками прокаина или в виде смеси с кокаином основанием (speed ball), которая предназначена в основном для курения. Героин используют в виде раствора для подкожных или внутривенных инъекций, порошкообразную форму курят, вдыхают или втягивают носом. Применение героина часто сочетается с приемом алкоголя или депрессантов.

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

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

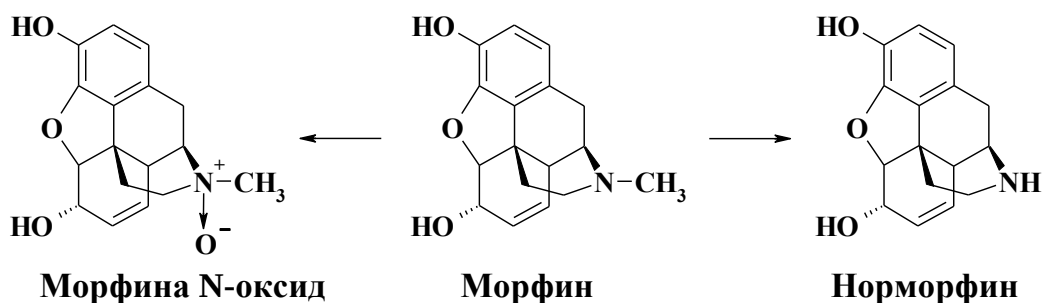
Физико-химические свойства героина: это белая или коричневая пудра, хорошо растворимая в воде и спирте.

4. Пути метаболизма опиатов

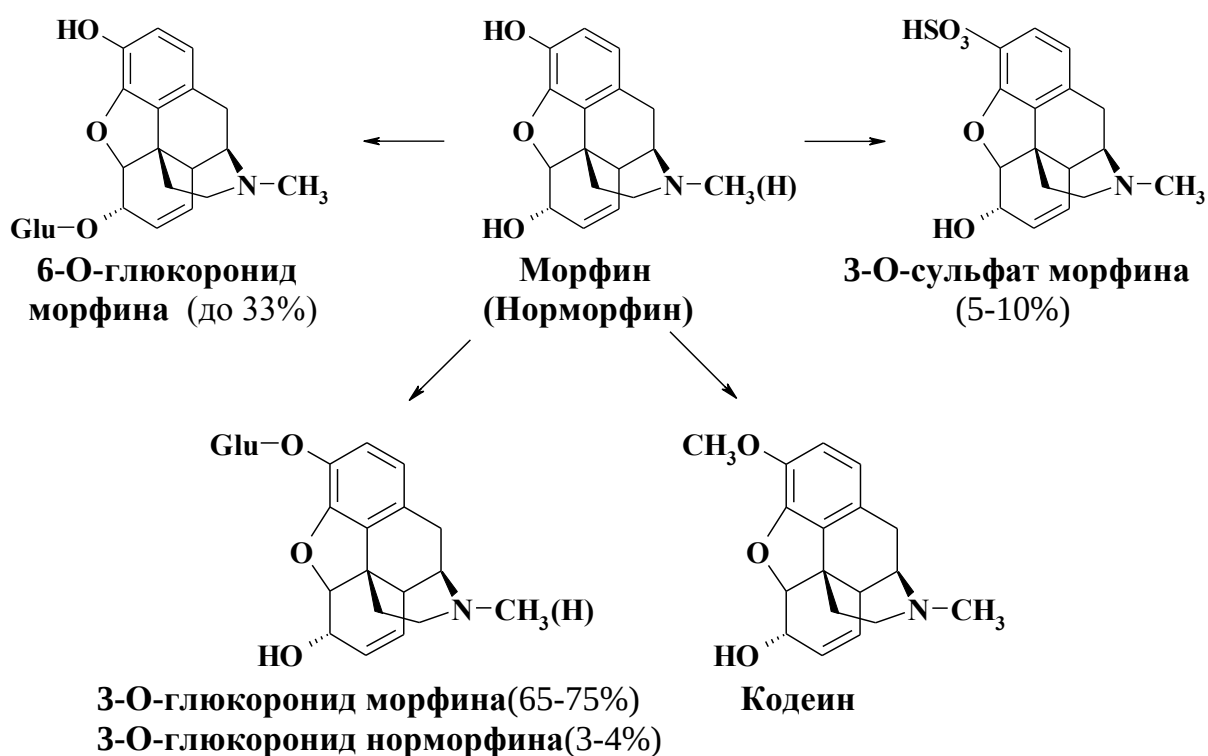
Превращение опиатов и их синтетических аналогов в живом организме проходит несколькими путями и включает обе фазы метаболизма.

Метаболизм морфина.

I фаза – Деметилирование и окисление.

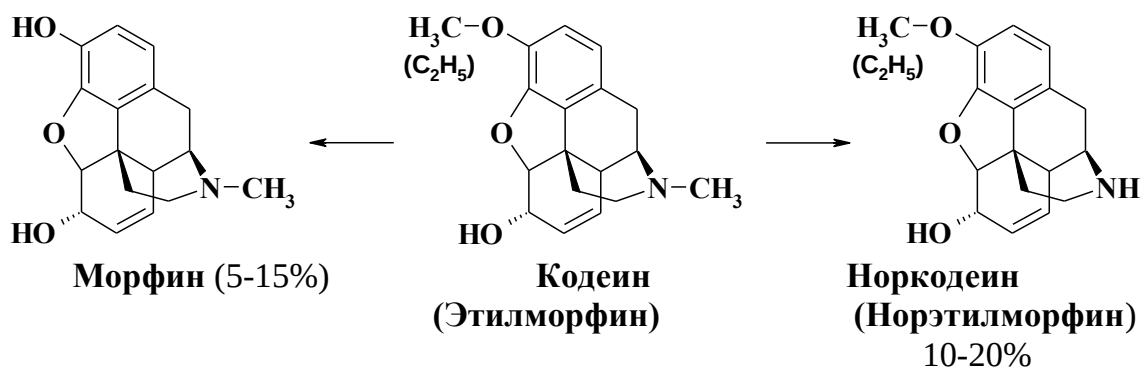


II фаза – образование конъюгатов:

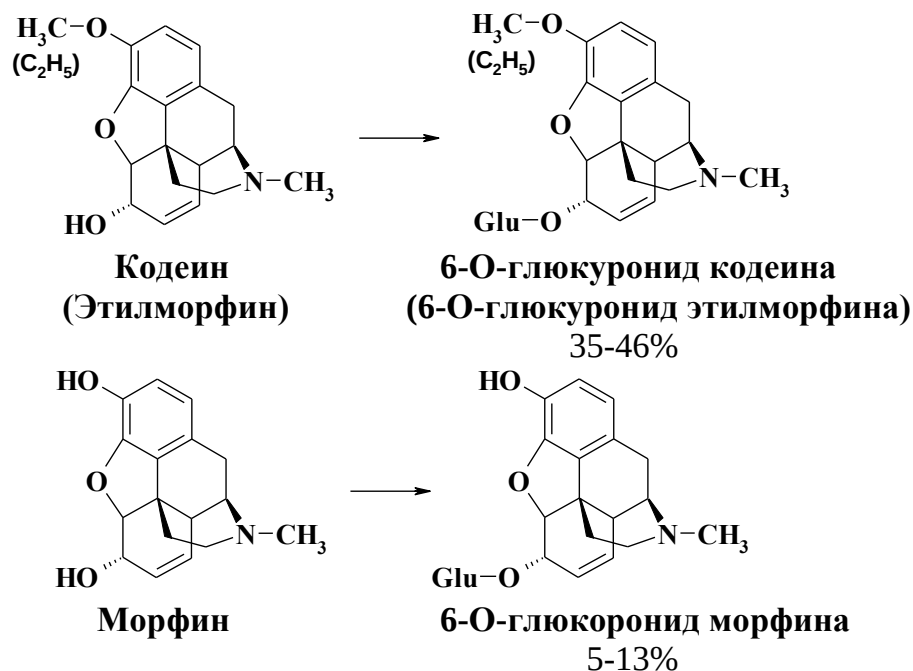


Метаболизм кодеина и этилморфина.

I фаза – O- и N-Дезалкилирование:

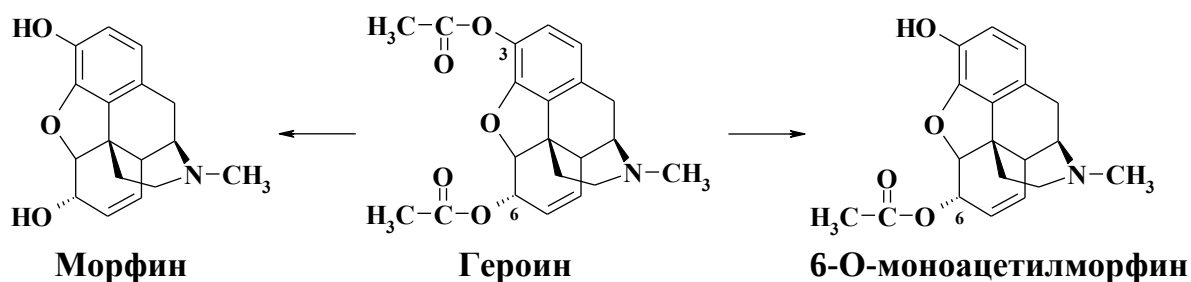


II фаза – образование глюкуронидов:

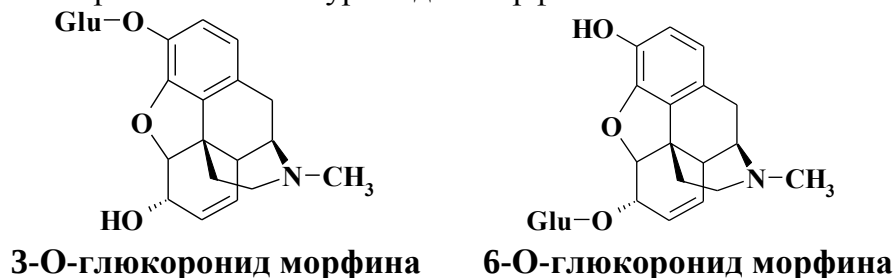


Метаболизм героина.

I фаза – Гидролиз:



II фаза – образование глюкуронидов морфина:



5. Методы изолирования морфина

Изолирование алкалоидов из биологического материала при химико-токсикологическом анализе проводится подкисленным этанолом или подкисленной водой. Однако оба этих метода приводят к потерям морфина, достигающим 97-98,5%, что связано с амфотерными свойствами морфина. Из водных растворов морфин лучше всего извлекается изоамиловым спиртом (около 73-78%) при pH 8,5-9,5.

При анализе трупного материала на морфин был предложен хроматографический метод, основанный на использовании катионита СДВ-3. Через колонку с катионитом пропускают водное извлечение из биологического материала,

подкисленное щавелевой кислотой до pH 5,0-6,0. Последующая десорбция сорбированного морфина проводится 5%-ным водным раствором аммиака.

6. Методы обнаружения морфина

1. Реакции с реактивами группового осаждения алкалоидов. Морфин дает осадки с осадительными реактивами: Бушарда, Драгендорфа, Майера, Зонненшейна и др.

2. Цветные реакции. Морфин с концентрированной азотной кислотой дает красное окрашивание, с реактивом Эрдмана (к. серная кислота с к. азотной кислотой) даёт красно-жёлтое окрашивание, с реактивом Фреде (к. серная кислота с молибденовой кислотой) даёт фиолетовое окрашивание, с реактивом Манделина (к. серная кислота с ванадиевой кислотой) даёт фиолетовое окрашивание, с реактивом Марки даёт фиолетовое окрашивание, с реактивом Мекке (селеновая кислота и серная кислота) - окраска от голубой до зеленой (реактив неспецифичен).

3. Реакция Пеллагри. При нагревании морфина с концентрированными соляной и серной кислотами он превращается в апоморфин, который дает положительную реакцию Пеллагри.

Методика выполнения. В пробирку вносят несколько капель хлороформной вытяжки, которую выпаривают досуха. К сухому остатку добавляют 1-2 капли концентрированной соляной кислоты. После растворения сухого остатка в этой кислоте в пробирку вносят 1-2 капли концентрированной серной кислоты и смесь нагревают на водяной бане до полного выпаривания соляной кислоты. После этого жидкость еще нагревают в течение 15 мин, потом охлаждают и прибавляют 2-3 мл воды. Если при этом образуется осадок, то его растворяют в нескольких миллилитрах разбавленной соляной кислоты. Полученный раствор нейтрализуют 10% раствором карбоната натрия и прибавляют 2-3 капли спиртового раствора йода. При этом появляется зеленая окраска. После добавления 0,5-1 мл диэтилового эфира и взбалтывания водный слой сохраняет зеленую окраску, а эфирный приобретает пурпурно-красную. Избыток йода мешает этой реакции, так как его окраска маскирует окраску конечного продукта реакции.

Реакция не специфична, ее дают и другие вещества: кодеин, этилморфин, героин, апоморфин и др.

4. Реакция с хлоридом железа (III). В фарфоровую чашку вносят несколько капель хлороформной вытяжки, которую при комнатной температуре выпаривают досуха. К сухому остатку добавляют 1-2 капли свежеприготовленного 2% раствора хлорида железа (III), появляется синяя окраска.

5. Реакция с йодноватой кислотой (HIO₃). При взбалтывании раствора морфина, слабо подкисленного серной кислотой, с раствором йодноватой кислоты или раствором иодата калия (KIO₃), не содержащего иодидов, выделяется свободный йод, который при взбалтывании с хлороформом переходит в хлороформный слой, окрашивая его в фиолетовый цвет.

6. Реакция с гексацианоферратом калия (III) и хлоридом железа (III). Гексацианоферрат калия (III) окисляет морфин и превращается в гексацианоферрат калия (II), который взаимодействует с хлоридом железа (III). При этом образуется берлинская лазурь, имеющая синюю окраску.

Эту реакцию дают и некоторые примеси, которые переходят из биологического материала. Поэтому реакцию с гексацианоферратом калия (III)

применяют для обнаружения морфина в лекарственных препаратах и в хорошо очищенных экстрактах из биологического материала.

7. Реакция с арсенатом калия. При растирании в фарфоровой чашке равных количеств морфина и арсената калия в присутствии нескольких капель концентрированной серной кислоты после осторожного нагревания появляется темно-зеленое окрашивание.

8. Реакция с пероксидом водорода и сульфатом меди. С пероксидом водорода в присутствии аммиака и 1 капли раствора сульфата меди морфин приобретает постепенно исчезающее красное окрашивание.

9. Микрокристаллические реакции. Для проведения реакции хлороформный экстракт из объекта испаряют на предметных стеклах до сухого остатка, добавляют 1-2 капли 0,1 М раствора хлороводородной кислоты и каплю соответствующего реактива. Смесь выдерживают во влажной камере 10-15 мин. наблюдают образование кристаллического осадка с характерной формой кристаллов.

В качестве реактивов используют:

- пикролоновую кислоту. Образуется пикролонат морфина, представляющий собой кристаллический осадок из сферолитов желтого цвета.

- соль Рейнеке. Образуется рейнекат морфина, образующийся в виде осадка сиреневого цвета, состоящий из кристаллов в виде густых пучков тонких игл;

- иодид кадмия. Образуется иодокадмиат морфина в виде осадка белого цвета, состоящий из бесцветных игл;

- хлорид ртути (II). Образуется хлоромеркурат морфина в виде осадка белого цвета, состоящего из игл, собранных в пучки.

10. Метод тонкослойной хроматографии. На линию старта на хроматографической пластинке наносят 0.2 мл хлороформной вытяжки. Правее на расстоянии 2-3 см на линию старта наносят 0.2 мл раствора «свидетеля» (0,01%-й раствор морфина в хлороформе). Пластинку подсушивают на воздухе и вносят в камеру для хроматографирования, насыщенную парами растворителей (эфир-ацетон-25%-й аммиак в соотношении 20:10:1). Камеру плотно закрывают крышкой. После того как система растворителей поднимется на 10 см выше линии старта, пластинку вынимают из камеры, подсушивают на воздухе и опрыскивают реактивом Драгендорфа. При наличии морфина пятна этого алкалоида на хроматографической пластинке приобретают розовато-бурую окраску ($R_f = 0,18$).

11. Обнаружение морфина по УФ- и ИК-спектрам. Раствор морфина в этиловом спирте имеет максимум поглощения при 287 нм. В 0,1 н. растворе гидроксида натрия максимумы поглощения морфина наблюдаются при длинах волн, равных 250 и 296 нм. В 0,1 н. растворе серной кислоты морфин имеет максимум поглощения при 284 нм. Водные растворы гидрохлорида и сульфата морфина имеют максимум поглощения при 285 нм.

В ИК-области спектра основание морфина (диск с бромидом калия) имеет основные пики при 805, 1243, 1448, и 945 см^{-1} .

Количественное определение морфина

1. Фотоколориметрический метод определения морфина (Метод Крамаренко). Метод, основан на реакции морфина с кремнемолибденовой кислотой, в результате которой возникает синяя окраска.

Методика определения: в мерную колбу вместимостью 25 мл вносят 3 мл 0,11%-го раствора силиката калия K_2SiO_3 , 4 мл воды, 2 мл 0,5 н. раствора соляной кислоты и 2 мл 5%-го раствора молибдата аммония. Через 3 мин прибавляют 2 мл исследуемого раствора и 5 мл 6%-го раствора аммиака. Через 10 мин объем жидкости доводят водой до метки и измеряют оптическую плотность окрашенного в синий цвет раствора с помощью фотоэлектроколориметра ФЭК-М (светофильтр красный, кювета 3 мм). В качестве раствора сравнения берут смесь, состоящую из 3 мл 0,11%-го раствора силиката калия, 2 мл 0,5 н. раствора соляной кислоты, 2 мл 5%-го раствора молибдата аммония, 5 мл 6%-го раствора аммиака и 13 мл воды.

Расчёт содержания морфина в пробах производят по калибровочному графику. Для построения калибровочного графика в 6 мерных колб вместимостью по 25 мл каждая вносят по 3 мл 0,11%-го раствора силиката калия, 4 мл воды, 2 мл 0,5 н. раствора соляной кислоты и 2 мл 5%-го раствора молибдата аммония. Через 3 мин в колбы вносят соответственно по 0,1; 0,5; 0,8; 1,0; 1,5 и 2,0 мл стандартного раствора (в 1 мл стандартного раствора содержится 2 мг гидрохлорида морфина), а далее поступают, как указано выше.

Этот метод позволяет определять от 0,2 до 4 мг морфина в пробе.

2. Экстракционно-фотоколориметрический метод.

Методика определения: 1 мл раствора остатка извлечения из объекта вносят в делительную воронку, добавляют 9 мл ацетатной буферной смеси (рН 4,6) 5 мл 0,1% раствора тропеолина 00 и повторно экстрагируют 5 мл хлороформа. Хлороформные экстракты объединяют, и объем доводят до 50 мл. К 5 мл полученного раствора добавляют 20 мл хлороформа и 2,5 мл 1% раствора концентрированной серной кислоты в метиловом спирте. Оптическую плотность полученного раствора, окрашенного в фиолетово-красный цвет, определяют с помощью фотоэлектроколориметра с использованием зеленого светофильтра и кюветы 10 мм. Расчеты концентрации ведут, используя калибровочный график.

3. Газо-жидкостная хроматография.

Проводят традиционным способом путем измерения высот (площадей пиков) исследуемого вещества и «внутреннего стандарта». Расчет количества проводят по калибровочному графику.

4. Метод ВЭЖХ.

Метод добавок. Проводят анализ экстракта из мочи и параллельно той же пробы с добавкой в нее 0,2 мл 0,11 мкг/мл стандартного раствора морфина. После получения на хроматограмме пиков исследуемого вещества и «стандарта» концентрацию морфина рассчитывают по формуле.

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

Метод внутреннего стандарта. К пробе исследуемого объекта до начала пробоподготовки добавляют в качестве внутреннего стандарта налорфин. Затем проводят изолирование, очистку извлечений и в полученном остатке определяют морфин методом ВЭЖХ.

5. УФ-спектрофотометрия.

Используется после очистки извлечения из объекта от эндогенных соединений с помощью ТСХ или твердофазной экстракции. Анализ ведут при

длинах волн, соответствующих максимумам светопоглощения морфина. Расчет концентрации проводят по калибровочному графику.

4. Иммунохимические методы. Для количественного определения морфина используют поляризационный иммунохимический анализ на приборах фирмы «Эббот».

7. Методы изолирования и определения кодеина

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

Кодеин отличается от морфина тем, что морфин не экстрагируется эфиром из щелочных растворов поскольку образует соли – морфинаты. Это свойство используется для разделения этих алкалоидов в ходе анализа.

Предварительная проба на наличие кодеина в моче.

Методика. В делительную воронку вносят 50 мл мочи, подщелачивают раствором аммиака до pH 10, прибавляют 50 мл хлороформа и взбалтывают в течение 5 мин. Хлороформную вытяжку отделяют от водной фазы, органическую фазу взбалтывают с 3 мл воды в течение 3 мин. Хлороформную фазу отделяют от водной, фильтруют через безводный сульфат натрия и упаривают досуха. Остаток растворяют в 1 мл этанола. Полученный спиртовый раствор используют для обнаружения кодеина одним из следующих способов:

1) на фильтровальную бумагу наносят каплю полученного раствора и прибавляют каплю реактива Марки. При наличии кодеина пятно приобретает красноватую окраску, переходящую в сине-фиолетовую;

2) на фильтровальную бумагу наносят каплю полученного раствора и прибавляют каплю 0,5%-го раствора ванадата аммония и каплю 2%-го раствора серной кислоты. При наличии кодеина появляется зеленая окраска, переходящая в синюю.

Для подтверждения результатов реакций необходимо провести обнаружение кодеина в вытяжке методом ТСХ.

1. Реакция с осадительными реактивами. При взаимодействии кодеина с реактивами Драгендорфа, Бушарда, Майера и другими образуются соответствующие осадки.

2. Реакция Пеллагри. При нагревании кодеина с концентрированной соляной кислотой, а затем с концентрированной серной кислотой ведет к гидролизу метокси-группы кодеина и образуется апоморфин, который дает соответствующую реакцию со спиртовым раствором иода.

3. Обнаружение кодеина методом ТСХ. На линию старта на хроматографической пластинке наносят 0,2 мл раствора исследуемого вещества. Справа на расстоянии 2 см на линию старта наносят 0,2 мл раствора «свидетеля» (0,01%-ный раствор кодеина). Пластинку подсушивают на воздухе и помещают в хроматографическую камеру и хроматографируют в системе хлороформ-ацетон-диэтиламин в соотношении 25:15:1. После достижения фронтом растворителя финиша, пластинку вынимают из камеры, подсушивают на воздухе и опрыскивают реактивом Драгендорфа, модифицированным по Мунье.

При наличии кодеина в исследуемом растворе пятно этого алкалоида приобретает буровато-розовую окраску с $R_f = 0,40$.

4. Обнаружение кодеина по УФ- и ИК-спектрам. Основание кодеина в растворе в этилового спирта имеет максимум поглощения при 286 нм.

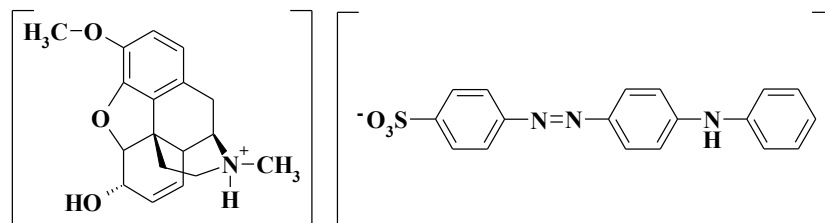
В ИК-области спектра основание кодеина (диск с бромидом калия) имеет основные пики при 1052, 1268 и 1500 см^{-1} .

5. Микрокристаллические реакции. Для проведения реакции к хлороформному раствору добавляют 1 каплю насыщенного раствора пикролоновой кислоты. Образуется аморфный осадок, который при стоянии становится кристаллическим. Под микроскопом видны кристаллы двух типов: сферолиты желтого и пучки из бледно-желтых пластинок

Способы идентификации, позволяющие отличить кодеин от морфина. Кодеин не дает реакций с FeCl_3 , с HIO_3 , гексацианоферратом калия (III), которые дает морфин. Кроме того, кодеин можно отличить от морфина по ИК-спектру.

Количественное определение кодеина

Экстракционно-фотоколориметрический метод определения кодеина. Метод фотоколориметрического определения кодеина основан на реакции с тропеолином 00, при которой образуется ионный ассоциат, который экстрагируют хлороформом:



Методика выполнения: 1 мл исследуемого раствора вносят в делительную воронку, прибавляют 9 мл ацетатной буферной смеси (pH 4,6), 5 мл 0,1%-го водного раствора тропеолина 00 и повторно экстрагируют 5 мл хлороформа. Содержимое воронки взбалтывают в течение 5 мин, хлороформный слой отделяют, водную фазу взбалтывают с новыми порциями хлороформа по 5 мл до тех пор, пока 3-4 капли органической фазы не перестанут давать окраску с 1%-ным раствором концентрированной серной кислоты в метаноле. Хлороформные экстракты объединяют и объем доводят хлороформом до 50 мл. К 5 мл полученного раствора прибавляют 20 мл хлороформа и 2,5 мл 1% раствора концентрированной серной кислоты в метиловом спирте. Затем измеряют оптическую плотность полученного раствора, окрашенного в фиолетово-красный цвет, с помощью фотоэлектроколориметра, используя зеленый светофильтр и кювету 10 мм. В качестве раствора сравнения берут хлороформную вытяжку из смеси, состоящей из 5 мл 0,1%-го раствора тропеолина 00, 9 мл ацетатного буфера (pH 4,6) и 1 мл воды. К полученному хлороформному экстракту прибавляют 2,5 мл 1%-го раствора концентрированной серной кислоты в метаноле.

Расчет концентрации ведут по калибровочному графику. Метод позволяет определить от 0,2 до 2,0 мг кодеина в пробе.

8. Методы определения героина

Героин (диацетилморфин, ДАМ) является полусинтетическим опиатом, который получают из морфина.

Объекты исследования. Используемый биологический материал для диагностики: моча, кровь, слюна, потовые выделения, волосы, ногти.

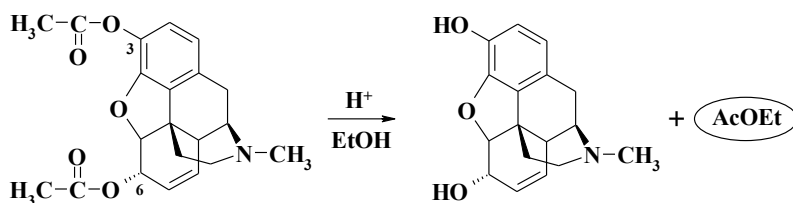
Методы изолирования

100 г мелко измельченного трупного материала вносят в колбу вместимостью 500 мл. Трупный материал заливают 200 мл воды, подкисленной насыщенным водным раствором щавелевой кислоты до pH 2,0-2,5. Смесь биологического материала и подкисленной воды оставляют на 2 ч при периодическом перемешивании содержимого колбы. После указанного времени кислую водную вытяжку сливают с трупного материала, который еще раз в течение часа настаивают с водой, подкисленной щавелевой кислотой до pH 2,5, а затем кислую водную вытяжку сливают с трупного материала. Кислые водные вытяжки соединяют и процеживают через двойной слой марли. Процеженную вытяжку подвергают центрифугированию. Надосадочную жидкость из центрифужного стакана переносят в делительную воронку. Эту жидкость 3-4 раза взбалтывают с новыми порциями хлороформа (по 15-20 мл). Хлороформные вытяжки из кислой среды соединяют и исследуют на наличие токсических веществ, которые экстрагируются хлороформом из кислой среды.

Оставшуюся в делительной воронке кислую водную вытяжку подщелачивают 25 % раствором аммиака до pH 10 и 3-4 раза взбалтывают с хлороформом (порциями по 15-20 мл). Хлороформные вытяжки из щелочной среды соединяют и исследуют на наличие героина.

Химические методы определения героина.

- При добавлении к наркотическому средству концентрированной серной кислоты наблюдают образование синего окрашивания.
- При добавлении к наркотическому средству концентрированной азотной кислоты наблюдают образование желтого окрашивания.
- Реакция этерификации. К части исследуемого наркотического средства добавляют 1 мл концентрированной серной кислоты, несколько капель этилового спирта и нагревают. Ощущается характерный запах этилацетата.



Предварительные методы исследования: тонкослойная хроматография (ТСХ), иммуноферментный анализ (ИФА).

Подтверждающие методы: газовая хромато-масс-спектрометрия (ГХ-МС) или высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ). Время обнаружения наркотика в моче, до 5 дней. При употреблении героина, в неизменном виде это вещество присутствует в организме не более 30 минут.

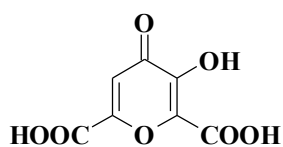
Для доказательства употребления героина необходимо идентифицировать его основной метаболит 6-МAM (другие опиаты его не образуют). Иногда героин может содержать в качестве примеси ацетилкодеин, который при метаболизме могут давать еще и кодеин и морфин.

Таким образом, присутствие в моче только морфина или его конъюгатов указывает на употребление чистого морфина или на злоупотребление героином 1 или 2 днями раньше. При низких концентрациях в моче морфина и кодеина невозможно сделать строго однозначный вывод о веществе, который был употреблен (морфин, героин, кодеин). Обнаружение в моче героина, морфина и 6-МAM свидетельствует о

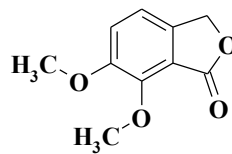
приеме героина, тогда как наличие только морфина указывает на употребление морфина.

9. Анализ биологических объектов на наличие меконовой кислоты и меконина

Обнаружение опия при наличии морфина сводится к обнаружению меконовой кислоты, с которой он образует соль, и меконина. Меконовая кислота и меконин в организме быстро разлагаются, и их обнаружение не всегда возможно, особенно при поступлении в организм небольших количеств опия.



Меконовая кислота



Меконин

Объекты исследования: трупный материал, остатки пищи, моча, рвотные массы.

Изолирование. Для специального исследования на меконовую кислоту исследуют материал и остаток после испарения хлороформного извлечения из кислого раствора настаивают со спиртом, подкисленным соляной кислотой. Вытяжку фильтруют и вновь выпаривают до небольшого объема и делят на 2 части. Одну часть исследуют на меконовую кислоту, вторую – на меконин.

Качественное обнаружение меконовой кислоты. Раствор упаривают досуха на водяной бане. Остаток обрабатывают водой, фильтруют и фильтрат взбалтывают в делительной воронке с бензолом для удаления примесей, затем водную фазу кипятят с избытком MgO для перевода меконовой кислоты в магниевую соль и горячий раствор фильтруют. К фильтрату, подкисленного разведенной соляной кислотой, прибавляют раствор хлорида железа (III) – появляется буровато-красное или кроваво-красное окрашивание.

Окрашивание не исчезает при нагревании (отличие от ацетата железа), а так же при действии золотохлористоводородной кислоты (отличие от роданида железа Fe(SCN)₃). Окраска исчезает при добавлении минеральных кислот. Имеются указания, что этим способом меконовую кислоту можно обнаружить при наличии 0,05 г опия.

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

Качественное обнаружение меконина. Раствор экстрагируют бензолом. Бензол отделяют от водной фазы и выпаривают досуха. Полученный остаток исследуют на наличие меконина.

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