

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
ВОРОНЕЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ**

**ХИМИКО -ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НА ГРУППУ  
ВЕЩЕСТВ, ИЗОЛИРУЕМЫХ ЭКСТРАКЦИЕЙ И СОРБЦИЕЙ.  
НАРКОТИЧЕСКИЕ И ДРУГИЕ ОДУРМАНИВАЮЩИЕ  
СРЕДСТВА**

*Учебно-методическое пособие для студентов  
по специальности*

*060108 – Фармация*

**Воронеж 2004**

Утверждено научно-методическим советом фармацевтического факультета, протокол №3 от 11.05.2004 г.

Составители: асс. Евстигнеева В.П.  
асс., к.б.н. Шкутина И.В.  
асс., к.ф.н. Брежнева Т.А.  
проф., д.ф.н. Сливкин А.И.  
проф., д.х.н. Селеменев В.Ф.

Пособие подготовлено на кафедре аналитической химии химического факультета Воронежского государственного университета

Рекомендуется для студентов 4 и 5 курсов дневного отделения фармацевтического факультета.

## Содержание

ВВЕДЕНИЕ .....	4
<b>ОБЩИЕ ВОПРОСЫ</b>	
Понятие о веществах, вызывающих одурманивание.....	5
Особенности химико-токсикологического анализа на содержание одурманивающих средств.....	6
Особенности интерпретации результатов при анализе биологических объектов на содержание веществ, вызывающих одурманивание.....	9
<b>ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b>	
Правила отбора проб на обнаружение наркотических средств, психотропных и других токсических веществ .....	10
Осмотр объектов исследования и определение некоторых свойств.....	15
Характеристика биологических объектов. Пробоподготовка .....	16
<b>ЭКСТРАКЦИЯ КАК МЕТОД ИЗОЛИРОВАНИЯ НАРКОТИЧЕСКИХ И ОДУРМАНИВАЮЩИХ СРЕДСТВ</b>	
Основные понятия экстракции .....	20
Основные количественные характеристики процесса экстракции .....	22
Влияние различных факторов на процесс экстракции .....	23
Твердофазная экстракция .....	24
Жидкость-жидкостная экстракция .....	25
<b>ТОНКОСЛОЙНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ В АНАЛИЗЕ ВЕЩЕСТВ, ВЫЗЫВАЮЩИХ ОДУРМАНИВАНИЕ</b>	
Принцип метода .....	26
Качественный и количественный анализ методом тонкослойной хроматографии .....	27
<b>НЕНАПРАВЛЕННЫЙ АНАЛИЗ НАРКОТИЧЕСКИХ И ОДУРМАНИВАЮЩИХ ВЕЩЕСТВ</b>	
Анализ неизвестных образцов .....	30
ТСХ-скрининг веществ кислотного и основного характера .....	31
<b>ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ОТДЕЛЬНЫХ ГРУПП НАРКОТИЧЕСКИХ И ОДУРМАНИВАЮЩИХ ВЕЩЕСТВ (НАПРАВЛЕННЫЙ АНАЛИЗ)</b>	
Производные барбитуровой кислоты.....	32
Алкалоиды группы опия .....	33
Производные 1,4-бензодиазепина .....	35
Производные фенотиазина .....	36
Каннабиноиды .....	37
Кокаин .....	38
Амитриптилин .....	39
Димедрол .....	40
Промедол .....	41
Эфедрин, эфедрон .....	41
<b>ЛИТЕРАТУРА .....</b>	
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ .....</b>	<b>44</b>

## ВВЕДЕНИЕ

Употребление наркотиков стало одной из актуальных проблем современного общества. Характерной чертой оборота наркотических средств в России является значительное расширение их ассортимента вследствие появления многочисленных легальных медицинских препаратов и интенсификации контрабандных поставок. При этом увеличивается доля незаконно производимых высокотоксичных синтетических контрабандных поставок. Угроза здоровью и жизни людей усугубляется распространением вируса ВИЧ вследствие антисанитарного внутривенного введения наркотиков; растет число детей с тяжелыми заболеваниями и серьезными умственными и физическими недостатками, рождаемыми матерями, употребляющими наркотические средства.

Незаконное производство и оборот наркотиков, а также злоупотребление ими, сопровождаемые противоправными действиями, создают угрозу для здоровья и жизни людей, наносят серьезный ущерб экономике, подрывают нравственные основы общества.

Одним из средств государства в борьбе с наркоманией является аналитическая служба, осуществляющая химико-токсикологический анализ средств, вызывающих одурманивание, позволяет контролировать уголовно наказуемые деяния и способствует эффективной диагностике и лечению больных наркоманией.

Специфика борьбы с незаконным оборотом наркотиков требует для достоверного выяснения всех обстоятельств дела привлечение специалистов разных профилей: криминалистов, химиков-токсикологов, врачей-наркологов. Одним из решающих направлений при этом является проведение судебно-медицинского обследования подозреваемых с целью установления факта употребления наркотиков, результаты которого во многом зависят от лабораторного исследования биологических проб исследуемого.

Настоящее учебно-методическое пособие посвящено одному из разделов курса “Токсикологическая химия” – химико-токсикологическому анализу наркотических и одурманивающих средств. В пособии рассмотрена классификация наркотических средств, дана характеристика объектов исследования, обсуждаются особенности химико-токсикологического анализа одурманивающих средств, методы их изолирования и обнаружения.

## ОБЩИЕ ВОПРОСЫ

### Понятие о веществах, вызывающих одурманивание

Наркомания и токсикомания с медицинской точки зрения рассматриваются как болезнь, причиной которой является употребление средств, вызывающих зависимость (психическую, а иногда и физическую) между живым организмом и химическим веществом.

*Психическая зависимость* – состояние, при котором наркотик (одурманивающее вещество) вызывает чувство удовлетворения и которое требует периодического или постоянного приема наркотика с целью получения удовольствия или во избежание неприятных психических ощущений.

*Физическая зависимость* – адаптация, проявляющаяся в сильном физическом расстройстве при задержке приема наркотика. Данное расстройство (синдром абстиненции) складывается из определенного множества симптомов и признаков психического или физического свойства, характерных для каждого вида наркотиков.

Средства, вызывающие одурманивание, подразделяются на наркотические средства и токсикоманические средства, в том числе средства, вызывающие лекарственную зависимость.

Термин “наркотическое средство” содержит в себе три критерия: медицинский, социальный и юридический. Они взаимосвязаны и в правовом аспекте обязывают признавать средство наркотическим только при единстве трех критериев, а именно: *медицинского*, если соответствующее средство оказывает специфическое действие на ЦНС, что и является причиной его немедицинского применения; *социального*, если его немедицинское применение принимает массовые масштабы, приобретающие социальную значимость, и *юридического*, если, исходя из двух вышеуказанных критериев, МЗ страны признало это средство наркотическим и включило его в список наркотических средств.

В случае отсутствия хотя бы одного из критериев одурманивающее средство относится к средствам, вызывающим токсикоманию или лекарственную зависимость.

### Классификация наркотических и одурманивающих веществ

1. Алкалоиды группы опия (морфин, кодеин, наркотин, папаверин и их синтетические производные: героин (диацетилморфин), дионин (этилморфин), промедол).
2. Производные барбитуровой кислоты (фенобарбитал, барбамил, бутобарбитал, этаминал натрия).
3. Производные 1,4-бензодиазепина (хлордиазепоксид, диазепам, оксазепам, нитразепам).

4. Производные фенотиазина (аминазин, дипразин, левомепромазин, тиоридазин).
5. Каннабиноиды (каннабидиол, каннабиол, тетрагидроканнабинол, тетрагидроканнабиноловая кислота).
6. Фенилалкиламины (эфедрин, эфедрон, амфетамин, метамфетамин).
7. Кокаин.
8. Галлюциногены (ЛСД, псилоцибин, мескалин, фенциклидин).
9. Этиловый спирт.
10. Растворители (бензин, ацетон, трихлорэтилен, эфиры, хлороформ).
11. Второстепенные психостимуляторы (никотин, кола, кат, кофеин).

Конвенцией ООН по борьбе с незаконным оборотом наркотических средств и психотропных веществ и Резолюцией Генеральной Ассамблеи ООН по вопросу о международном сотрудничестве в борьбе с незаконным оборотом и распространением наркотических и психотропных средств рекомендовано странам-участницам взять под свой контроль: 1) производство, изготовление, склонение к употреблению, предложение с целью продажи, распространение, продажу, поставку на любых условиях, посредничество, переправку, транзитную переправку, транспортировку, импорт или экспорт любого наркотического средства или наркотического вещества; 2) культивирование опийного мака, кокаинового куста, конопли (индийской, южной маньчжурской или южной чуйской) либо других запрещенных к возделыванию наркотикосодержащих культур в целях производства наркотических средств в нарушении положений Конвенции ООН; 3) изготовление, транспортировку, распространение и продажу оборудования и полупродуктов для производства наркотических средств.

Ответственность за правонарушения, связанные с наркотиками, в Российской Федерации регламентируется Уголовным кодексом, Кодексом РФ об административных правонарушениях, Гражданским кодексом, а также Кодексом о браке и семье и Жилищным кодексом РФ.

### **Особенности химико-токсикологического анализа на содержание одурманивающих средств**

*Целью анализа* наркотических и других одурманивающих средств является установление факта присутствия наркотических и других одурманивающих средств независимо от тяжести состояния, т.е. от найденного количества вещества. *Главная задача анализа* – идентификация средств, вызывающих одурманивание. В анализе наркотических и других одурманивающих средств существуют два основных направления: судебно-правовое (установление факта присутствия, употребления) и клиническое (диагностика, лечение, реабилитация). При судебно-правовой направленности вещество анализируется как минимум двумя методами, причем один из этих методов используется для предварительного исследования, а другой – для подтверждающего исследования.

Отличительной особенностью ХТА, выделяющей его из других видов анализа, является определение экзогенных веществ в объектах, которые по своей природе весьма разнообразны. *Объекты*, подвергаемые анализу, можно разделить на следующие группы:

- биологические образцы (моча, кровь, волосы, ногти, внутренние органы, диализаты, промывные воды);
- образцы растительного происхождения (конопля, опиум), их экстракты и производные;
- твердые субстанции (порошки);
- таблетки, драже;
- инъекционные растворы.

К *основным этапам ХТА* средств, вызывающих одурманивание, относятся:

- забор проб и хранение биоматериала;
- пробоподготовка;
- предварительные и подтверждающие методы анализа;
- обработка и интерпретация полученных результатов.

В силу специфики анализа на содержание наркотических и других одурманивающих веществ (сокрытие факта употребления, фальсификация проб и т.д.) в основу его методологии положен метод скрининга, используемый при ненаправленном анализе, т.е. при анализе на неизвестное вещество. При анализе известного вещества, т.е. при направленном анализе, применяются частные методики определения.

Надежность результатов анализа, полученных с помощью скрининга, определяется:

- правильностью организационных мероприятий (отбор пробы, хранение проб, постоянный контроль за работой оборудования, чистотой реагентов и др.);
- чувствительностью и специфичностью используемых методов;
- знанием природы вещества, способов введения в организм, распределения в организме, степени метаболизма, путей выведения, а также индивидуальными особенностями организма.

Выбор аналитических методов для скрининга одурманивающих средств определяется целью анализа – добиться минимума отрицательных и максимума положительных результатов – и связан с такими главными параметрами анализа, как чувствительность и специфичность, так как этими параметрами определяется наличие ложноотрицательных и ложноположительных результатов соответственно.

*Чувствительность* аналитического метода определяется как отношение сигнала анализируемого вещества к сигналу базовой линии и выражается в нанограммах на миллилитр (нг/мл) или в граммах на килограмм (г/кг) биообъекта.

Под *специфичностью* метода понимают способность метода отличать химическую структуру данного соединения от ему подобных (аналогов).

В качестве основных *предварительных скрининговых методов* для обнаружения средств, вызывающих одурманивание, используются химические (хромогенные, микрокристаллические реакции), иммунохимические методы (ИФА, ПФИА, РИА и др.) и тонкослойная хроматография.

В качестве *подтверждающих методов* исследования используются ГЖХ, ВЭЖХ, ГХ/МС. Подтверждающие методы должны быть выше или равными по чувствительности, чтобы уменьшить количество ложноотрицательных результатов, но обязательно должны быть выше по специфичности, для того чтобы снизить количество ложноположительных результатов.

Таблица

Сравнение преимуществ и недостатков  
некоторых аналитических методов

Преимущества	Недостатки
<b>Иммунохимические методы</b>	
1. Объективность результатов 2. Хорошая чувствительность 3. Полуколичественная оценка 4. Простота выполнения 5. Умеренная стоимость реагентов 6. Быстрота анализа	1. Перекрестно реагирующие вещества могут дать ложноположительный результат 2. Групповой метод не различает индивидуальных соединений внутри группы, что приводит к частичному сокрытию полного набора веществ
<b>Хроматографические методы</b>	
1. Хорошая чувствительность 2. Высокая специфичность 3. Количественное определение	1. Требуется высококвалифицированный персонал 2. Относительная длительность анализа 3. Иногда зависит от субъективной интерпретации результатов

При выборе аналитического метода необходимо учитывать его преимущества и недостатки, а также вид анализируемого образца и обстоятельства дела. Но даже при использовании самого чувствительного метода, результаты скрининга должны быть подтверждены аналитическими методами, основанными на других физико-химических принципах.

*Требования, предъявляемые к работе лабораторий, занимающихся анализом наркотических и других одурманивающих веществ*

1. Лаборатория должна пройти внешнее профессиональное тестирование и быть аттестована.
2. Каждый химик-эксперт должен доказать свой профессиональный уровень.
3. Каждый прибор должен иметь инструкцию по эксплуатации.



4. Все используемые реагенты должны иметь отметку о дате изготовления и паспортизованы.

5. Каждый этап методики должен быть подробно описан и иметь метрологическую оценку (воспроизводимость, предел обнаружения, линейность и др.).

6. Используемые эталонные вещества должны быть паспортизованы.

7. Должны быть известны пределы обнаружения анализируемых веществ по каждому используемому аналитическому методу.

8. Правила отбора и хранения образцов должны быть регламентированы.

9. Каждый положительный результат должен быть подтвержден другим аналитическим методом. Исключение может быть сделано только в случае направленного анализа.

### **Особенности интерпретации результатов при анализе биологических объектов на содержание веществ, вызывающих одурманивание**

Используя полученные результаты, аналитик-токсиколог должен не только подтвердить или опровергнуть предположение о присутствии одурманивающего средства в анализируемом образце, но и различать случаи хронического и разового использования наркотических веществ. Последнего можно достичь, если сопоставить концентрации обнаруженного вещества и его метаболитов. Как правило, более высокие концентрации метаболитов свидетельствуют о хроническом применении, а значительное превышение концентрации вещества над концентрацией метаболита – об остром отравлении (разовом употреблении).

Для правильной интерпретации результатов анализа важно знание формы и способа введения. Внутривенное введение или ингаляция в начальный момент дают более высокие концентрации вещества в крови, чем внутримышечное, оральное, подкожное.

В случае анализа трупного материала равные концентрации, обнаруженные в печени и крови, свидетельствуют о хроническом использовании высоких доз наркотических веществ. В случае острого отравления концентрация анализируемого вещества в печени значительно превышает концентрацию его в крови. Высокие концентрации одурманивающих средств в крови на раннем этапе после внутривенного или орального введения будут соответствовать более высоким концентрациям в легких и печени, в то время как в период выведения концентрация в желчи и моче будет выше, чем в крови.

Одурманивающие средства основного характера дают сравнительно низкие концентрации в крови, а отношение концентраций в печени и в крови часто выше 10. Соединения кислого характера дают умеренно высокие концентрации в крови, и это отношение находится в пределах от 2 до 5. Для веществ нейтрального характера наблюдаются высокие концентрации в крови и почти одинаковое содержание в других тканях.

Для корректной интерпретации полученных данных такого биообъекта, как моча, необходимо также знание дозы, времени, способа и периодичности введения вещества, кинетики распределения, однако в случае наркотиков подобная информация редко доступна и не всегда полна. Однако можно отметить некоторые закономерности:

1. Чем выше введенная доза, тем больше вероятность их обнаружения. Высокие дозы обычно дают более высокие концентрации в плазме и моче.
2. Концентрация вещества в плазме зависит от его распределения в организме, метаболизма и выведения. Для каждого вещества его фармакокинетика индивидуальна. Концентрация наркотических веществ в моче варьируется по сравнению с плазмой и зависит от объема и рН мочи.
3. Каждое вещество сохраняется в организме разное время и зависит от химического строения и частоты употребления.
4. Поскольку концентрация большинства веществ в моче (за исключением этанола) не коррелирует с их концентрацией в крови и степенью наркотического воздействия, время употребления наркотического вещества по концентрации в моче не может быть установлено.

## **ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **Правила отбора проб на обнаружение наркотических средств, психотропных и других токсических веществ**

Результаты исследования во многом зависят от точности соблюдения методики пробоотбора биологических объектов, условий хранения и транспортировки. На стадии пробоотбора в анализе наркотических веществ следует учитывать возможность уничтожения или фальсификации объекта; анализируемая проба может быть мала по массе, загрязнена и иметь химический состав, отличный от первоначального из-за воздействия окружающей среды при неправильном хранении.

Документальное оформление химико-токсикологических исследований. Основным документом “кабинета”, осуществляющего экспертизу опьянения, а также отбор биологических проб для химико-токсикологического исследования, является рабочий журнал кабинета экспертизы опьянения. Журнал является юридическим документом, будучи прошнурованным и опечатанным, заполняется и ведется по установленной форме. В журнале обязательно должны быть указаны ФИО больного, номер медицинской карты стационарного или амбулаторного больного или номер акта медицинского освидетельствования, дата и время исследования (начало и окончание исследования), а также все операции, проведенные с исследуемой пробой, на основании которых дается заключение о нахождении или отсутствии токсического вещества в исследуемой пробе. При количественном исследовании в журнале записывают показания приборов и объема исследуемых объектов.

На всех хроматограммах, спектрограммах и других документах должны быть проставлены ФИО больного, номер медицинской карты стационарного или амбулаторного больного или номер акта медицинского освидетельствования, дата и время исследования. Первичный документ без указанных атрибутов не может служить основанием для заключения о химико-токсикологическом исследовании.

В журнале регистрации химико-токсикологических исследований записывают результаты анализа на основании записей в рабочем журнале. При заполнении журнала регистрации химико-токсикологических исследований следует соблюдать общие правила ведения документации такого рода: записи производятся шариковой или перьевой ручкой; запрещаются записи карандашом, а также ручками с красными и зелеными чернилами; запрещается использование прочерков или кавычек в графах “Дата”, “Время”, “ФИО”, “Результат”, исключение составляет графа “Время” при исследовании одной и той же пробы на несколько групп веществ; в графе “Объект исследования” указывают количество взятого на исследование объекта и обязательно делают пометки в случаях нарушения правил отбора биологических проб; в графе “Метод и найденные величины” после указания метода записывают значения физико-химических параметров веществ; в графе “Результат” записывают название обнаруженного (или не обнаруженного) вещества или группы веществ (в соответствии с принятой номенклатурой), а также концентрации найденных веществ в единицах измерения “СИ”. Нумерация анализов сквозная независимо от числа журналов и начинается от 0 ч 00 мин 1 января и заканчивается в 24 ч 00 мин 31 декабря каждого года. За один номер (единицу исследования) принимают исследование на вещество или группу веществ, которые идентифицируются одним реактивом, прибором или методом. Результаты исследования на алкоголь записываются отдельным номером независимо от выявления в пробе других веществ; исправления в графах “Время”, “ФИО”, “Результат” недопустимы, в случаях ошибочных записей текст аккуратно зачеркивается, скрепляется подписью исследовавшего и рядом вносится новая запись.

Результаты химико-токсикологического исследования оформляются актом, который выдается на руки или высылается почтой по запросу направившего учреждения, о чем делается соответствующая запись в журнале регистрации химико-токсикологических исследований. Акт подписывается лицами, проводившими исследование, и заверяется главным врачом. Копия акта хранится в лаборатории.

Сопроводительная документация: “Направление на химико-токсикологическое исследование” и “Справка о доставке проб на химико-токсикологическое исследование” заполняются по установленным формам и передаются в химико-токсикологическую лабораторию (ХТЛ) вместе с пробами.

Направление на химико-токсикологическое исследование остается в ХТЛ, является главным документом, на основании которого ХТЛ проводит химико-токсикологический анализ и выдает результаты о содержании или отсутствии

алкоголя в пробе представителям органов здравоохранения. Направление на химико-токсикологическое исследование подписывается дежурным врачом и медсестрой (фельдшером), производившими отбор проб, и хранится в ХТЛ в течение двух месяцев.

Справка о доставке проб на химико-токсикологическое исследование выдается лицу, осуществляющему транспортировку образцов и документации в ХТЛ, и служит документом, удостоверяющим полномочия лица на доставку, а также содержит сведения об отправке и получении образца. Справка составляется в двух экземплярах, первый экземпляр остается в ХТЛ, второй экземпляр заверяется штампом ХТЛ и возвращается в “кабинет”.

В случае когда ХТЛ и “кабинет” территориально располагаются в одном здании (одном больничном комплексе) лечебного учреждения, справка о доставке не заполняется.

#### Правила отбора жидких биосред.

*Моча.* Процедура отбора пробы должна производиться в условиях, исключающих подмену или замену ее другими жидкостями. Проба мочи собирается в прозрачный стеклянный широкогорлый градуированный сосуд объемом 300-600 мл. Объем пробы должен быть не менее 200 мл.

После завершения процедуры освидетельствуемый передает сосуд с пробой персоналу. Сосуд с пробой накрывается покровной пластиной (крышкой).

Предварительное исследование пробы включает:

- измерение температуры (не более, чем через 4 минуты после отбора пробы) стеклянным ртутным термометром;
- измерение величины рН с помощью универсальной индикаторной бумаги для определения рН мочи;
- визуальное наблюдение (цвет, мутность и т.п.).

Температура должна находиться в пределах 32,5-37,7°C, рН мочи в норме должен быть в интервале 4-8 ед. рН, визуально проба должна выглядеть естественно.

Если результаты предварительного исследования вызывают подозрение в фальсификации, персонал обязан провести повторную процедуру отбора пробы в условиях, исключающих фальсификацию

Отобранную пробу мочи разливают в два стеклянных или пластмассовых герметично закрывающихся сосуда емкостью 100-150 мл каждый.

*Кровь* отбирается при строгом соблюдении асептических условий из поверхностной вены через иглу самотеком в сухой пенициллиновый флакон, содержащий раствор гепарина (3-5 капель на каждые 10 мл крови). Флакон тотчас же закрывают стандартной резиновой пробкой, фиксируют пробку, содержимое флакона сразу же перемешивают. Для химико-токсикологического исследования необходимо не менее 10 мл крови, для исследования только на наличие алкоголя достаточно 2-3 мл крови.

*Слюна* отбирается в стерильный сухой флакон из-под пенициллина в количестве 5 мл и тут же закрывается пробкой.

У всех флаконов с отобранными пробами (мочи, слюны или крови) фиксируют пробки алюминиевыми колпачками с помощью приспособления для обжима колпачков, обеспечивающего герметизацию флакона, и ставят их в холодильник. В случае герметизации другим способом флаконы должны быть опечатаны. На каждый флакон наклеивается этикетка с указанием номера пробы (по регистрационной книге), даты, времени забора пробы, фамилии освидетельствуемого, фамилии медицинского работника, подготовившего пробу.

Исследование на наличие алкоголя проводится в течение 1 часа после получения биологических проб. Допускается хранение пробы при условии асептического отбора в холодильнике при температуре  $0+2^{\circ}\text{C}$  не более суток. При длительном хранении биосред с нарушением температурного режима в них развиваются бродильные и гнилостные процессы, которые могут существенно исказить результаты количественного определения. Данные об отборе биологической пробы заносятся в журнал регистрации анализов и их результатов. При этом указываются: порядковый номер, дата и время взятия мочи, крови или слюны; фамилия, имя, отчество обследуемого, год рождения, пол; фамилия, имя, отчество врача, производившего взятие пробы крови (откуда взята кровь и способ обработки кожи), количество взятых биосред, дата и время передачи биосред на анализ, дата проведения исследования, результаты исследования.

Склянки, пробирки, предназначенные для взятия крови и мочи, моются 2% раствором соды, ополаскиваются дистиллированной водой и стерилизуются обычным способом.

*Правила отбора волос, ногтей и потожировых выделений для химико-токсикологического исследования на наличие наркотических средств и психотропных веществ.*

*Волосы* отбирают отдельно с лобной, теменной, затылочной, правой и левой височных областей волосистой части головы в виде пучка в количестве не менее 15-20 волос, которые обрезаются у корня ножницами как можно ближе к коже. При необходимости отбирают образцы волос с других волосистых участков тела. Отобранные образцы волос помещают каждый в отдельный конверт с соответствующей надписью, который затем опечатывают. Все полученные конверты с образцами помещают в один общий конверт, который опечатывают.

*Ногти* отбирают отдельно с каждой руки или, при необходимости, с каждой ноги. Ногти обрезаются ножницами по возможности ближе к коже. Отобранные образцы ногтей с каждой руки или ноги помещают в отдельный конверт с соответствующей надписью, который затем опечатывают. Все полученные конверты с образцами помещают в один общий конверт, который также опечатывают.

Отбор образцов *потожировых выделений* на руках и других участках тела производится ватным тампоном, смоченным спиртом. Вес тампона должен составлять 400-500 мг при расходе этанола до 1 мл.

Данным тампоном тщательно протираются поверхности рук и лица (главным образом вокруг рта), после чего тампон высушивается на воздухе. Во избежание взаимопередачи исследуемых веществ с одного тампона на другой, каждый из них упаковывают в отдельный полимерный пакет, имеющий соответствующую маркировку. Все полученные пакеты с образцами помещают в один общий конверт, который опечатывают.

Подготовка образцов и документов к транспортировке в ХТЛ. Для отправки биопроб в ХТЛ готовятся два сосуда, в которых находится проба биожидкости одного освидетельствуемого. Первый – “образец” – предназначен для анализа, второй – “контрольный образец” – по прибытии в ХТЛ помещается на хранение без нарушения упаковки и используется для повторного анализа пробы в случае необходимости: при повторной экспертизе, по требованию правоохранительных органов, при необходимости использования более совершенных методов анализа и связанной с этим необходимости отправки контрольного образца в другую ХТЛ и т.д.

Для маркировки сосудов готовят два “ярлыка”. Надпись на ярлыке содержит шестизначный код обследуемого (для кодирования используется произвольный ряд чисел от 0 до 9, например: 008745 и т.д.), дату и код данного пункта (по общей системе кодирования “кабинета” и ХТЛ наркологических диспансеров и больниц). При этом ярлык контрольного образца содержит букву “К” после шестизначного кода, а также подпись освидетельствуемого на оборотной стороне. Заполненные ярлыки должны лежать надписью вниз, когда освидетельствуемый приглашается поставить подпись на одном из них (контрольном). Освидетельствуемый не должен видеть своего кода.

Рекомендуется, чтобы заполнение ярлыков проводилось лицом, ответственным за ведение рабочего журнала “кабинета”. Во избежание путаницы оборотная сторона ярлыка контрольного образца отмечается каким-либо образом, например, цветным карандашом.

Ярлык крепится к сосуду с помощью клейкой ленты так, чтобы лента проходила через дно, боковую поверхность и головку сосуда, а надпись располагалась на стенке. Место соединения концов ленты на головке сосуда заливается сургучом, на нем делается оттиск штампа “кабинета”. Допускается использование современных надежных средств для опечатывания.

В случае, если обследуемый не согласен с правильностью произведенного отбора пробы персоналом “кабинета”, он может:

- оставить запись в рабочем журнале;
- потребовать повторного взятия пробы (безотлагательно);
- сделать заявление в вышестоящие органы.

Транспортировка образцов и документов. Транспортировку образцов проб с направлениями на химико-токсикологическое исследование осуществляет лицо, на имя которого составлена справка о доставке. ХТЛ незамедлительно уведомляется об отправке проб и документации использованием телефона, телефакса или телеграфа.

Независимо от степени удаленности образцы рекомендуется транспортировать в контейнере-ящике, в который вмещается достаточное

количество образцов. Каждый контейнер маркируется номером и кодовым обозначением “кабинета”. После упаковки образцов контейнер закрывается крышкой, запирается и заклеивается бумажной лентой. Лента располагается таким образом, чтобы было невозможно вскрыть контейнер без нарушения ее целостности. Перевозка образцов в жаркое время года производится в сумках - холодильниках.

Передача образцов и документов в ХТЛ. В лабораторию пробы мочи, крови и слюны передаются с направлением, в котором указаны порядковый номер пробы (по регистрационной книге), наименование, количество, дата и время взятия биосред, условия хранения, цель анализа, Ф.И.О. направившего врача, адрес направившего учреждения.

При получении образцов проб в ХТЛ производят наружный осмотр целостности упаковки. Доставленные образцы проб вскрывает заведующий ХТЛ или ответственное лицо. Проверяется наружная упаковка образцов и соответствие записей на ярлыках. Распакованные образцы проб передают персоналу ХТЛ для анализа. Все сведения по приемке образцов регистрируются в журнале регистрации результатов химико-токсикологических исследований ХТЛ.

Контрольные образцы ставят на хранение в запираемые и опечатываемые холодильные шкафы (при температуре  $-18^{\circ}\text{C}$ ) для возможных контрольных исследований в течение 2-х месяцев со дня поступления в ХТЛ. Если в течение этого срока отсутствовала необходимость в повторном химико-токсикологическом исследовании, то по истечении двух месяцев образец уничтожают.

При пробах *небиологического происхождения* (растительное сырье, порошки, таблетки, экстракты и др.) навеска для анализа отбирается произвольно, если она только не оговорена методикой и не ограничена малым объемом образца. Самая малая проба должна быть проанализирована самыми чувствительными методами. Критерием выбора метода в данном случае является предел обнаружения вещества. Образцы *небиологического происхождения*, как правило, изымаются в процессе оперативно-следственных мероприятий и являются вещественными доказательствами.

### **Осмотр объектов исследования и определение некоторых свойств**

При осмотре объектов исследования отмечают внешний вид, цвет и запах доставленных образцов.

При подготовке пробы к анализу следует обращать внимание на *внешний вид* доставленных биообъектов, который может служить важной подсказкой при проведении анализа, например, изменение цвета содержимого желудка может быть связано с отравлением такими веществами, как

- перманганат калия – пурпурный или розовый цвет;
- соли меди – зеленый или голубой;
- соли никеля-зеленый;

соли кобальта – розовый;  
 кислоты азотная, пикриновая – желтый;  
 кислоты серная, соляная, щавелевая – цвет кофейной гущи.

При осмотре мочи также отмечают необычный цвет и запах, которые наблюдаются при отравлениями следующими препаратами.

Красно-коричневый цвет имеет моча при отравлении производными пиразола, фенотиазина, ферроцероном, рифадином;  
 зелено-синий – фенолом, метиленовой синью;  
 желтый – фенацетином, витаминами, производными нитрофурана, пикриновой кислотой.

Запах фиалок наблюдается при отравлении скипидаром;

Запах ацетона – при отравлении изопропиловым спиртом, ацетоном, у больных диабетом.

*Цвет* препарата также может быть подсказкой при его идентификации.

Желтые препараты: производные нитрофурана, невиврамон, нифедипин, нитазол, но-шпа, нистатин, меркаптопурин, пиразидол, тетрациклиновые антибиотики, тавегил, леворин, лепонекс, котарнин, курантил, риванол, пикриновая кислота, калия бихромат, фурацилин ...

Желто-оранжевые препараты: витамин В<sub>2</sub>, фолиевая кислота ...

Зеленые: рутин, бриллиантовая зелень...

Розовый: витамин В<sub>12</sub>, розоватый – манинил.

Красные: первиниум памоат, рубомицин ...

Красно-коричневые: рифадин, ферроцерон...

Темно-фиолетовый – калия перманганат.

Черно-коричневый – иод.

Необходимо отметить, что кроме лекарственных веществ в некоторые лекарственные формы входят вспомогательные вещества, консерванты, стабилизаторы, которые бывают добавлены в значительных количествах. Они могут извлекаться из биологического материала и при оценке результатов анализа приводить к ошибочным заключениям. Например, в таблетки могут входить гипс, фосфаты, тальк, желатин, агар, коллоидные салицилаты, маннитол и др.

*Запах.* Солод, ментол, метилсалицилат, камфора, ксероформ, некоторые витамины, формалин, бензин, керосин, ароматические и хлорированные углеводороды, эфиры этиленгликоля обладают специфическим запахом.

Фенолы, креозот имеют фенольный запах; ацетон, хлороформ – сладковатый; алифатические спирты и их эфиры – спиртовой, фруктовый запах. “Раздражающий” запах характерен для азотной, соляной, хлорной, уксусной, трихлоруксусной, муравьиной кислот; чесночный запах – для фосфора, теллура, мышьяка.

## **Характеристика биологических объектов. Пробоподготовка**



На стадии пробоподготовки образец очищается от примесей и загрязнений, которые не следует отбрасывать, так как они могут быть источником дополнительной информации. Пробоподготовка – стадия риска потерять анализируемое вещество и объект. Поэтому все предпринимаемые действия должны быть логически оправданы и направлены на сохранение образцов, отобранных для анализа, для дальнейшего исследования.

*Моча* – наиболее распространенный объект исследования на лекарственные токсичные соединения и наиболее простой биообъект для анализа вследствие низкого содержания белковых компонентов.

Важным показателем мочи как биообъекта является рН, поэтому работа с ней требует постоянного внимания к изменению рН. Величина рН мочи повышается со временем из-за действия бактериальной флоры, выделяющей аммиак. Такое увеличение можно предотвратить путем хранения ее при пониженных температурах (при анализе очень лабильных веществ – в замороженном виде). Необходимо учитывать также, что при хранении мочи в холодильнике в ней происходит новообразование этанола до концентрации 0,5 %. При сахарном диабете новообразование этанола в моче, хранящейся в холодильнике, доходит до 1,1%. Вместе с тем следует помнить, что при большом объеме воздушного слоя во флаконе над кровью или мочой происходит окисление алкоголя и снижение его содержания в объекте.

Действие бактериальной флоры можно замедлить добавлением фторида натрия, борной кислоты и других бактериостатических препаратов, однако надо учитывать их дальнейшее участие в экстракции и образовании фона. Мочу можно лиофилизировать, предварительно переведя летучие соединения в соответствующие соли.

При анализе мочи и других биологических объектов на содержание одурманивающих веществ необходимо обращать внимание на потенциальные фоновые соединения как эндогенного, так и экзогенного характера, присутствие которых в анализируемом образце неизбежно при любом способе пробоподготовки.

Из потенциальных эндогенных соединений необходимо отметить присутствие низкомолекулярных продуктов метаболизма аминокислот и сахаров (амины, мочевины, карбоновые кислоты, соли карбоновых кислот и др.), небольших количеств пептидов и сахаров (в норме), стероидов, пигмента уробилина, окрашивающего мочу в желтый цвет и других веществ.

К фоновым экзогенным соединениям относятся продукты биотрансформации веществ, поступивших с пищей, и различных лекарственных веществ, используемых наркоманами для усиления наркотического эффекта, снятия синдрома абстиненции, смягчения “выхода” из состояния наркотического опьянения (барбитураты, производные 1,4-бензодиазепина), а также метаболиты других химических веществ, попавших в организм (красители, антиоксиданты, продукты табакокурения и т.д.).

На содержание эндогенных и экзогенных компонентов в пробе влияют: возраст, пол и вес человека, определяющие во многом распределение яда и его метаболизм; 2) параллельное присутствие других экзогенных химических

веществ (лекарственные средства, кофеин, табак, алкоголь и др.), изменяющих фармакокинетические и фармакодинамические параметры яда; 3) диета – свободные жирные кислоты связываются с альбуминами и конкурируют на этапе связывания яда с белком; 4) генетический фактор – отдельные индивидуумы обладают повышенной толерантностью к действию некоторых химических агентов; если для одних доза введенного яда является смертельной, то для других эта же доза относительно безвредна (или не вызывает летального исхода); 5) другие факторы, действие которых необходимо предусматривать, – болезнь (может дать повышенный фон некоторых эндогенных соединений), работа с соединениями бытовой или индустриальной химии (повышенный фон эндо- и экзогенных веществ).

Преданалитическая обработка мочи может состоять из различных операций: прямое концентрирование (упаривание некоторого количества мочи до небольшого объема на водяной бане либо роторном испарителе), экстракция растворителями, лиофилизация, хроматографическое разделение или сорбция на твердом сорбенте или комбинация различных операций (концентрирование – экстракция, лиофилизация – экстракция и др.).

*Кровь.* Уровень токсических веществ и их метаболитов у живых объектов и в крови трупа неодинаков вследствие биохимических изменений. Содержание токсического вещества в артериальной или венозной крови также будет различным. Даже положение тела у живого пациента – стоя, сидя или лежа – влияет на биохимический состав пробы, так как в этом случае меняется содержание белков в крови, что особенно важно для токсических веществ, в значительной степени связывающихся с белками.

Обработке экстракцией может быть подвергнута цельная кровь, плазма или сыворотка. Если для предотвращения свертывания крови использовались антикоагулянты, то необходимо учитывать, что гепарин вытесняет жирные кислоты из мест их связывания с альбумином. Это влияет, с одной стороны, на увеличение связывания токсических веществ с белками, с другой – на переход жирных кислот в органический растворитель при экстракции. Для уменьшения энзиматической активности кровь рекомендуется хранить в холодильнике в замороженном виде. Поскольку стеклянные стенки посуды содержат большое количество свободных гидроксильных групп, возможно связывание полярных токсических соединений стенками посуды за счет образования водородной связи. Это явление особенно важно учитывать при анализе следовых количеств вещества. Предварительное силилирование стенок посуды позволяет свести это явление к минимуму. Альтернативой является использование посуды из полипропилена или тефлона, хотя при этом необходимо считаться с загрязнением пробы мономерами смолы.

Из эндогенных соединений помимо жирных кислот в экстрактах из крови встречаются различные стероидные гормоны (тестостерон и др.), холестерин, которые в крови находятся в связанном состоянии с протеинами плазмы. При хранении крови более суток при комнатной температуре происходит новообразование алкоголя, достигая концентрации 1‰.

*Слюна* является продуктом секреции желез ротовой полости. Отобранную пробу центрифугируют и для хранения замораживают, чтобы замедлить активность ферментов. Хранить лучше всего слюну в склянках из тефлона или пропилена, чтобы избежать поглощения следовых количеств анализируемого вещества стенками стеклянной посуды. Установлено, что неионизированные формы токсического вещества, находящиеся в водном растворе плазмы, пассивно диффундируют в слюну, так что существует прямая зависимость между концентрацией анализируемого вещества в слюне и его концентрацией в крови.

*Волосы* представляют относительно гомогенный (с точки зрения агрегатного состояния) биологический субстрат. Являясь легкодоступным для отбора, они представляют значительный интерес в качестве объекта при проведении химико-токсикологического анализа как на неорганические, так и на органические вещества. При анализе волос наркотики могут быть обнаружены в отдаленные сроки после окончания их приема и в тех случаях, когда анализ биожидкостей дает отрицательный результат. Использование волос в качестве объекта исследования позволяет проследить динамику поступления наркотического вещества в организм человека. Анализ волос длиной 6-8 см (6-8 месяцев) позволяет судить о степени наркотической зависимости.

По сравнению с биожидкостями, исследование твердых кожных образований имеет целый ряд отличительных особенностей, которые накладывают отпечаток на все этапы проведения работ. Исследование волос включает в себя две принципиально важные с точки зрения интерпретации результатов стадии: предварительное исследование поверхности волос на присутствие анализируемых веществ и проведение очистки указанной поверхности от мешающих дальнейшему исследованию веществ с обязательной проверкой эффективности данной операции. К основным методам разрушения волос относятся следующие: экстракция органическими растворителями; кислотный или щелочной гидролиз; энзиматическое разрушение; экстракция органическими растворителями при сверхкритических условиях; термическое разложение объектов.

*Желчь* является продуктом секреторной деятельности печени, желчного пузыря и двенадцатиперстной кишки. Эта жидкость содержит большое количество воды, эндогенных веществ, подобных тем, которые находятся в крови, плазме и сыворотке, а также желчные кислоты и пигменты. Желчь различается по величине рН (в пределах 6,7-8,3), что заставляет контролировать рН в ходе подготовки к экстракции, а при необходимости использовать подходящий буфер. Рекомендуются пробу также центрифугировать при низких скоростях (для удаления холестерина) и осадить белки добавлением смеси хлороформ – метанол (2:1) или хлороформ – изопропанол (9:2).

*Печень* представляет собой центральный орган химического гомеостаза. В печени находится большое разнообразие экзогенных и эндогенных веществ: продукты белкового, углеводного, жирового обменов, продукты биотрансформации экзогенных, в том числе токсических веществ. С точки

зрения присутствия эндогенных и экзогенных веществ в экстракте из печени этот объект является самым неудобным вследствие их большого разнообразия. Даже самая длительная и многоступенчатая экстракция, например, кислых лекарственных средств дает в хлороформном экстракте до восьми разнообразных эндогенных соединений.

## **ЭКСТРАКЦИЯ КАК МЕТОД ИЗОЛИРОВАНИЯ НАРОТИЧЕСКИХ И ОДУРМАНИВАЮЩИХ СРЕДСТВ**

### **Основные понятия экстракции**

В химико-токсикологическом анализе метод экстракции широко используется для изолирования токсических веществ из объектов биологического происхождения, для очистки вытяжек из биологического материала от примесей, для выделения токсических веществ из предварительно очищенных вытяжек, для концентрирования исследуемых веществ, находящихся в сильно разбавленных растворах.

*Экстракция* – процесс извлечения растворителями соответствующих веществ из различных объектов. Объекты, из которых извлекают соответствующие соединения, могут быть твердыми веществами или жидкостями. Поэтому процессы изолирования подразделяют на экстракцию в системе твердое тело – жидкость (твердожидкостная экстракция) и на экстракцию в системе жидкость-жидкость (жидкостная экстракция).

*Экстрагент* – органический растворитель, в индивидуальном состоянии или содержащий какие-либо реагенты, извлекающий (экстрагирующий) данное вещество из водной фазы.

В химико-токсикологическом анализе метод твердофазной экстракции применяется для изолирования исследуемых веществ из органов трупов, растений, почвы и других объектов. При экстракции веществ в системе твердое тело–жидкость в качестве экстрагентов применяют органические растворители. Для данной системы в ряде случаев используют выщелачивание.

*Выщелачивание* – извлечение компонентов из твердых тел с помощью воды.

*Жидкостная экстракция* – процесс распределения растворенного вещества между двумя несмешивающимися жидкими фазами, одной из которых в большинстве случаев является вода, а второй – несмешивающийся с водой органический растворитель.

*Экстракционный реагент* – составная часть экстрагента, взаимодействующая с извлекаемым веществом с образованием экстрагирующегося соединения.

*Экстракт* – отделенная жидкая органическая фаза, содержащая экстрагированное из водной фазы вещество.

*Реэкстракция* – процесс обратного извлечения вещества из экстракта в водную фазу.

*Реэкстрагент* – раствор реагента, используемый для извлечения вещества из экстракта.

*Реэкстракт* – отделенная водная фаза, содержащая вещество, извлеченное из экстракта.

*Разбавитель* – относительно инертный органический растворитель, прибавляемый к экстрагенту для улучшения его физических или экстракционных свойств.

*Промывка* – процесс частичного или полного удаления примесей из экстракта или реэкстракта.

*Периодическая экстракция* – экстракция вещества из одной и той же фазы, проводимая отдельными порциями экстрагента.

*Непрерывная экстракция* – экстракция, проводимая при непрерывном перемешивании одной жидкой фазы (другая жидкая фаза остается неподвижной).

*Противоточная экстракция* – экстракция, осуществляемая при встречном движении обеих фаз.

В лабораторных условиях экстракцию обычно проводят с помощью делительной воронки. В воронку помещают исследуемый раствор, содержащий растворенное вещество, подлежащее экстрагированию, и не смешивающийся с водой органический растворитель, которым извлекается экстрагируемое вещество из водного раствора. Воронка энергично встряхивается (обычно 2-5 мин). При этом обе жидкие фазы диспергируются друг в друга, образуя капли различного размера. Экстрагируемое вещество через границу раздела водной и органической фаз переходит из водной фазы в органическую до тех пор, пока в системе не наступит межфазное равновесие, при котором достигаются равновесные концентрации экстрагируемого вещества в водной и в органической фазах. При достижении межфазного равновесия скорость перехода растворенного вещества из водной фазы в органическую становится равной скорости перехода того же вещества из органической фазы в водную, т.е. осуществляется состояние динамического равновесия. После прекращения встряхивания обе жидкие фазы расслаиваются, причем тем быстрее, чем больше разница в плотности воды (водного раствора) и применяемого органического растворителя, плотность которого может быть как выше, так и ниже плотности воды.

#### Требования, предъявляемые к органическим растворителям

- Органический растворитель должен обладать способностью эффективно и по возможности избирательно извлекать экстрагируемое вещество из исследуемого раствора.
- Растворитель должен мало растворяться в воде и мало растворять воду, не гидролизироваться. Плотность органических растворителей по возможности должна отличаться от плотности воды.
- Растворитель должен быть нелетучим и достаточно высококипящим (температура кипения при атмосферном давлении должна быть выше 50°C).

- Органические растворители должны быть неогнеопасными, нетоксичными и дешевыми.

Растворители, которые обладали бы всеми этими свойствами в полной мере, встречаются редко. В химико-токсикологическом анализе наиболее часто используются следующие растворители: диэтиловый эфир, хлороформ, бензол, н-амилацетат, этилацетат, н-бутиловый, изоамиловый, изобутиловый спирты, н-гексан, н-гептан.

При использовании метода экстракции отсутствует химическое превращение разделяемых веществ и не образуются побочные продукты. Вещества, выделенные с помощью метода экстракции, как правило, не содержат примесей, связанных с процессами адсорбции и окклюзии. Этот метод может использоваться для разделения термолабильных веществ. Применение метода экстракции для концентрирования позволяет переводить вещества из сильно разбавленных растворов в небольшой объем органического растворителя.

### Основные количественные характеристики процесса экстракции

Для расчета количества вещества, которое экстрагируется органическими растворителями, необходимо знать константу и коэффициент распределения, степень экстракции.

*Константа распределения вещества* – величина, выражающая отношение концентраций распределяемого вещества, находящегося в водной и органической фазах (после наступления равновесия) в одной и той же форме.

$$P = \frac{[A]_{орг}}{[A]_{водн}},$$

где  $P$  – константа распределения;  $[A]_{орг}$  – концентрация вещества в фазе органического растворителя, моль/л;  $[A]_{водн}$  – концентрация вещества водной фазе моль/л.

Величина константы распределения зависит от природы распределяемого вещества, состава и свойств применяемого экстрагента, температуры, при которой проводится экстракция. Эта константа не зависит от равновесных концентраций экстрагируемого вещества и объемов водной и неводной фаз.

*Коэффициент распределения* – отношение суммарной аналитической концентрации вещества в фазе органического растворителя к суммарной аналитической концентрации этого вещества в водной фазе (без учета того, в какой форме находится вещество в каждой фазе):

$$D = \frac{c_{орг}}{c_{водн}},$$

где  $D$  – коэффициент распределения;  $c_{орг}$  – суммарная аналитическая концентрация вещества в фазе органического растворителя, моль/л;  $c_{водн}$  – суммарная аналитическая концентрация вещества в водной фазе, моль/л.

*Степень экстракции* – отношение количества экстрагированного вещества к общему (начальному) количеству этого вещества в водном растворе:

$$R = \frac{n_{орг}}{n_{орг} + n_{водн}} \cdot 100\%,$$

где  $R$  – степень экстракции вещества, %;  $n_{орг}$  – количество вещества, которое экстрагировалось органическим растворителем;  $n_{орг} + n_{водн}$  – общее (начальное) количество вещества в водном растворе.

### **Влияние различных факторов на процесс экстракции**

На экстракцию веществ органическими растворителями оказывают влияние различные факторы: природа экстрагируемого вещества, природа экстрагента, число экстракций, объем экстрагента, температура, рН среды, присутствие электролитов в водных растворах, скорость взбалтывания и др.).

*Число экстракций и объем экстрагента.* Чем больше число экстракций, тем выше степень извлечения экстрагируемого вещества.

Чем больше объем органической фазы экстрагента, т.е. чем выше отношение  $V_{орг} / V_{водн}$ , тем больше степень извлечения экстрагируемого вещества. Однако увеличение числа экстракций сильнее влияет на степень извлечения экстрагируемого вещества, чем увеличение объема экстрагента в то же число раз, поэтому одну и ту же степень извлечения можно получить, уменьшая объем экстрагента  $V_{орг}$ , но увеличивая число экстракций  $n$ . Обычно используют двукратный объем экстрагента по сравнению с водной фазой и применяют 2-6 последовательных экстракций.

*Влияние рН среды* на экстракцию. С повышением рН (т.е. с уменьшением концентрации водородных ионов в водном растворе) увеличивается диссоциация кислоты в растворе, что приводит к уменьшению ее недиссоциированных молекул. В результате понижается экстрагируемость слабой кислоты органическими растворителями.

При повышении концентрации водородных ионов (т.е. с понижением рН) в водном растворе увеличивается число недиссоциированных молекул, а следовательно, возрастает экстрагируемость веществ кислотного характера органическими растворителями.

При прибавлении кислот к органическим основаниям они переходят в соли. При этом увеличивается количество ионов и уменьшается количество недиссоциированных молекул. Вследствие этого уменьшается степень экстракции этих веществ органическими растворителями. От прибавления щелочей к солям органических оснований уменьшается количество ионов и увеличивается количество недиссоциированных молекул этих оснований. В результате этого, в щелочной среде увеличивается степень экстракции органических оснований.

Наибольшие количества амфотерных соединений экстрагируются при значении рН, соответствующем изоэлектрической точке этих веществ.

Влияние *температуры* на экстракцию. Изменение температуры влияет на константу распределения экстрагируемого вещества. Это объясняется тем, что при изменении температуры изменяется растворимость экстрагируемых веществ в каждой фазе, а также изменяется взаимная растворимость органической и водной фаз. Причем с изменением температуры растворимость вещества в каждой фазе изменяется неодинаково.

При изменении температуры может изменяться диссоциация и ассоциация вещества в соответствующей фазе. Поэтому при изменении температуры изменяется гидратация (сольватация) и экстрагируемость химических соединений.

Влияние *электролитов* на экстракцию. Понижение растворимости веществ в водных растворах под влиянием электролитов называется высаливанием, а повышение растворимости – всаливанием.

Высаливание является фактором, понижающим растворимость веществ в воде и повышающим их экстрагируемость органическими растворителями из водных растворов.

### **Твердофазная экстракция**

Лекарственные и наркотические средства, поступающие на исследование, крайне редко являются индивидуальными соединениями. Нередко объектами исследования являются поступающие из незаконного оборота синтетические наркотические средства, которые производятся в подпольных лабораториях. В подавляющем большинстве случаев они имеют в своем составе различные наполнители и добавки (сахар, соли жирных кислот, крахмал, сода, тальк и др.), либо содержат загрязнения или промежуточные и побочные продукты синтеза, содержание же наркотически активного компонента в таких препаратах очень низкое.

При этом разделение, выделение, концентрирование и очистка целевых компонентов традиционными методами (например, жидкостной экстракцией) неэффективны, а иногда просто невозможны. Решение такого рода проблем возможно при применении на стадии пробоподготовки метода твердофазной экстракции, позволяющего осуществлять одновременное разделение, выделение и концентрирование целевых компонентов из биологических жидкостей и их экстрактов, лекарственных и нативных наркотических средств. Такой подход дает возможность получения веществ в чистом виде, что в дальнейшем позволяет проводить идентификацию методами ИК-, УФ-спектроскопии, ТСХ, ГЖ, ВЭЖХ, методом хромато-масс-спектрометрии.

В основе метода твердофазной экстракции лежит принцип колоночной хроматографии, который основан на специфическом взаимодействии выделяемого из биоматериала компонента с сорбентом, находящимся в небольшом патроне. Патрон–картридж имеет полиэтиленовую оболочку, внутри которой находится сорбент, упакованный между двумя пористыми фильтрами. Патроны могут соединяться друг с другом, представляя более



широкие возможности для их использования. Чаще всего для заполнения патронов применяют сорбенты на основе силикагеля и химически модифицированного силикагеля. Для модификации силикагеля используются вещества, содержащие различные функциональные группы (нитрильные, диольные, амино-, карбокси- и сульфогруппы), а также алифатические ( $C_1 - C_{18}$ ) и ароматические (фенильные) группы. Выбор соответствующего типа патрона связан со свойствами определяемого вещества и осуществляется по типу подобия.

Часто в практике ХТА используются отечественные патроны фирмы “Диапак”, заполненные немодифицированным силикагелем (Диапак Силикагель) и силикагелем, модифицированным гексадецильными группами  $C_{16}$  (Диапак  $C_{16}$ ).

При использовании патронов Диапак для большинства веществ проводят следующие операции.

1. Активация – приведение патрона в рабочее состояние путем промывки этиловым или метиловым спиртом (2-10 мл). Скорость пропускания 2,5 мл/мин.

2. Кондиционирование – пропускание буферного раствора (ацетатного или аммиачного) в зависимости от исследуемых веществ. Объем буферного раствора – 10 мл. Скорость пропускания 2,5 мл/мин.

3. Сорбция – пропускание исследуемого раствора через патрон. Объем пробы обычно 100 мл. Скорость пропускания 2,5 мл/мин.

4. Десорбция – удаление исследуемого вещества с сорбента с помощью воздуха шприцем или вакуумным насосом.

5. Элюирование образца осуществляется реагентом, который применялся на стадии активации. Объем элюента – 50-100 мл.

Высокая эффективность выпускаемых патронов позволяет использовать их для пробоподготовки широкого круга объектов – от лекарственных препаратов сложного состава до “уличных наркотиков” и биологических жидкостей (моча, кровь, сыворотка и т.д.), а также экстрактов биологических жидкостей.

### **Жидкость-жидкостная экстракция**

Жидкость – жидкостная экстракция как метод изолирования является на сегодняшний день самым распространенным способом выделения наркотических веществ из биообъектов.

Экстракция веществ кислого и основного характера. 50 мл мочи в делительной воронке на 200 мл подкисляют 2 М соляной кислотой до pH 1-2 по универсальному индикатору. Добавляют 50 мл диэтилового эфира и проводят экстракцию в течение 3-5 минут (перемешивая фазы, без энергичного встряхивания). После разделения фаз нижнюю водную фазу сливают в другую делительную воронку, содержащую 50 мл диэтилового эфира, а органическую фазу фильтруют через безводный сульфат натрия в сухой стакан. Повторную

экстракцию из водной фазы проводят аналогично. Эфирное извлечение фильтруют через безводный  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и обе эфирные вытяжки объединяют (экстракт 1).

Водную фазу сохраняют, переносят в делительную воронку, доводят рН до 9-10  $\text{NaOH}$ . Затем проводят экстракцию 50 мл хлороформа в течение 3-5 минут. Затем нижнюю органическую фазу сливают, фильтруя через безводный сульфат натрия в сухой стакан. Водную фазу повторно экстрагируют 50 мл хлороформа. Органические фазы объединяют (экстракт 2). Водную фазу отбрасывают.

Органические растворители из экстрактов 1 и 2 удаляют в испарительных чашках в токе теплого воздуха. Сухие остатки экстрактов 1 и 2 растворяют в 1-2 мл хлороформа или диэтилового эфира и переносят в маркированные пробирки с притертыми пробками.

Экстракт 1 содержит вещества кислого, нейтрального и слабоосновного характера), экстракт 2 – вещества основного характера. Далее проводят анализ экстрактов.

Некоторые вещества метаболически связаны с белком или конъюгированы (т.е. биохимически переведены в водорастворимые производные, например, с глюкуроновой кислотой). Поэтому биожидкость перед экстракцией необходимо гидролизовать для того, чтобы разрушить конъюгант перед изолированием.

## **ТОНКОСЛОЙНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ В АНАЛИЗЕ ВЕЩЕСТВ, ВЫЗЫВАЮЩИХ ОДУРМАНИВАНИЕ**

### **Принцип метода**

Метод тонкослойной хроматографии (ТСХ) является одним из основных методов исследования веществ одурманивающего действия. Метод тонкослойной хроматографии применяется при проведении скрининговых исследований образца неизвестной природы и подтверждающих (частных) исследований на конкретное средство или вещество, подтверждающих или отрицающих его присутствие в исследуемом образце.

Метод ТСХ относится к плоскостным видам хроматографии. Хроматографическое разделение обусловлено переносом компонентов подвижной фазы вдоль слоя неподвижной фазы с различными скоростями в соответствии с коэффициентами распределения разделяемых компонентов между двумя фазами.

*Сорбенты.* В тонкослойной хроматографии обычно используют закрепленные слои сорбента на металлической, стеклянной или пластиковой подложке. В качестве сорбента применяются силикагели различного зёрнения, обработанные или необработанные реактивами для осуществления как прямого, так и обращеннофазного вариантов хроматографии, а также

целлюлозу, окись алюминия, кизельгель, сефадекс, полиамид и некоторые другие материалы. Иногда к сорбентам добавляют флуоресцентный индикатор. Для закрепления адсорбционного слоя применяются гипс, крахмал, агар-агар и другие связующие материалы. В анализе часто используют готовые пластинки “Силуфол” и “Сорбфил”. В качестве подложки здесь используется алюминиевая фольга или полимерные материалы, сорбент – силикагель.

Обычно в практике ХТА используют пластины размером 5x5, 10x10 или 20x20 см. Хроматографирование веществ проводят в герметически закрытых камерах. При этом наиболее часто из всех возможных вариантов используется восходящее и горизонтальное элюирование хроматографической системы растворителей. В целом ряде случаев хорошие результаты дает многомерная и круговая хроматография.

*Методика ТСХ* заключается в следующем: на линию старта осторожно наносят анализируемые растворы, чтобы не повредить поверхность слоя сорбента. Растворы на пластинку наносят с использованием мерных капилляров или микрошприцов в несколько приемов, обращая внимание на размеры пятна (диаметр пятна не должен превышать 3 мм). Одновременно на пластинку наносят эталонные растворы исследуемых веществ или растворы метчиков. Расстояние между пятнами образцов на линии старта не должно быть меньше 1 см. При работе с хроматографической пластинкой нельзя касаться пальцами слоя сорбента, пластинку берут только за края.

Системы растворителей смешивают в требуемых соотношениях непосредственно перед использованием при помощи интенсивного перемешивания. Камеры герметично закрывают крышкой и оставляют на 0,5-1 час для установления равновесия. Для каждой новой пластинки готовят новую порцию системы. Допускается временное хранение готовой системы в посуде с притертой пробкой.

Количество растворителя для проведения эксперимента рассчитывается таким образом, чтобы при восходящем варианте проведения хроматографии уровень его соответствовал погружению пластины не более чем на 5 мм. Расход системы на стандартную камеру для пластин размером 10x10 см с плоским дном составляет 4-4,2 мл.

Край пластинки погружают ниже стартовой линии в систему растворителей. По мере продвижения жидкости по пластинке под действием капиллярных сил происходит разделение смеси веществ, отделение их от присутствующих примесей. Далее вынимают пластинку, отмечают границу подъема жидкости, сушат и проявляют определенным реагентом. Отмечают положение пятен, отвечающих исследуемым веществам и находящиеся между линиями старта и фронта растворителя.

### **Качественный и количественный анализ методом тонкослойной хроматографии**

Качественный анализ. Наиболее часто при идентификации наркотических и одурманивающих средств проявление хроматографических зон осуществляется по свечению в УФ-свете или гашению флуоресценции индикатора, добавленного к сорбенту. После просмотра пластинок в УФ-свете, их обрабатывают реактивом или последовательно несколькими реактивами в соответствии с методикой. После обработки реактивами отмечают положение и окраску хроматографических зон.

Основной качественной характеристикой вещества в тонкослойной хроматографии является значение  $R_f$  (*относительная скорость перемещения компонента в тонком слое*), расчет которого проводят по формуле:

$$R_f = \frac{L_x}{L_s},$$

где  $L_x$  – длина пробега центра хроматографической зоны исследуемого соединения;  $L_s$  – длина пробега фронта растворителя.

В соответствии с определением  $R_f$  всегда  $\leq 1$ . Величина  $R_f$  зависит от природы носителя, толщины слоя, качества и природы растворителей, их соотношения, способа нанесения пробы, детектирования, т.е. от техники эксперимента, температуры и ряда других факторов.

Для снижения влияния на получаемые результаты факторов, обусловленных условиями проведения эксперимента, часто используют *относительную величину*  $RR_f$ , которая представляет собой отношение значения  $R_f$  исследуемого вещества к значению  $R_f$  стандарта-метчика.

$$RR_f = \frac{R_f}{R_f'}$$

Бесцветные вещества можно перевести в окрашенные путем обработки их специальными реагентами. Для этого пластинку опрыскивают из пульверизатора или наносят реагент капельно в зону вещества или метчика. Для каждого специфического реагента желательно иметь индивидуальный пульверизатор. Пульверизатор, уже использовавшийся, необходимо тщательно промыть! Некоторые возникающие окраски могут быстро исчезать.

Заключение о присутствии или отсутствии исследуемого вещества дается на основании значений  $R_f$ , при сравнении характеристик поглощения или испускания УФ-света при различных длинах волн, а также путем сравнения окраски хроматографических зон исследуемого вещества и использованного стандарта после обработки их специфическим реагентом.

В настоящее время существуют комплексы для идентификации различных классов веществ на основе метода ТСХ, основу которых составляют данные о хроматографическом поведении большого количества, до нескольких сотен или тысяч веществ.

Количественный анализ. При анализе пятен предполагают существование определенной связи между площадью пятна и содержанием исследуемого вещества (например, наличие пропорциональной или линейной зависимости), которую устанавливают методом построения градуировочного графика,

измеряя площади пятен “свидетелей”. Иногда сравнивают интенсивность окраски пятен, полагая, что интенсивность окраски пятна пропорциональна количеству окрашенного компонента.

Разделенные зоны можно снять с пластин вместе со слоем, десорбировать компонент в растворитель и далее проанализировать раствор физико-химическими методами, что позволяет дополнять уже имеющуюся информацию об исследуемых веществах другими методами анализа и проводить их количественное определение.

С помощью ТСХ можно определять вещества в количествах от  $10^{-9}$  до  $10^{-6}$  г, ошибка определения компонентов – 5-10%.

Воспроизводимость результатов исследования методом ТСХ достигается проведением их при следующих условиях:

1. Инструментальные условия проведения эксперимента, которые включают конструкцию используемой хроматографической камеры; способ ее герметизации; условия насыщения камеры парами растворителя и т.д.

2. Свойства хроматографической системы, которые включают тип и способ химической обработки использованного сорбента; величину его зернения; толщину слоя, а также тип подложки, на которую он нанесен; вид и количество внесенных в адсорбент вспомогательных веществ, таких как связующие компоненты и флуоресцирующие вещества; метод активации сорбента, например, выдерживание при повышенной температуре; способ обработки пластинки импрегнирующими буферами, щелочами или кислотами, а также веществами, модифицирующими ее свойства.

3. Методические подходы к нанесению пробы и проведению хроматографирования, которые предусматривают способ нанесения образца на пластинку и использованное при этом устройство; размеры начальной зоны хроматографирования; полярность растворителя, использованного для нанесения образца и его количество; продолжительность исследования и величину пробега растворителя; его состав и чистоту; температуру и влажность окружающей среды в момент проведения исследования.

Представление результатов исследований. В экспертном заключении полученные рассматриваемым методом результаты должны содержать подробное описание условий проведения эксперимента: хроматографические пластины (адсорбент, наличие или отсутствие индикатора в его составе, использованное связующее вещество, тип подложки для адсорбента, фирма – изготовитель, а также проведение специальной обработки пластин перед исследованием, например, высушивание при повышенной температуре или импрегнирование щелочью или буфером). Во многих случаях фирмы – изготовители шифруют некоторую информацию о своей продукции под фирменными названиями, например, SILUFOL и СОРБФИЛ или СОРБИТОН. В этом случае достаточно привести данное название полностью. Далее идет описание использованных систем растворителей с указанием их качественного и количественного состава, способа хроматографирования (вертикальный – обычно опускается, горизонтальный, круговой или многомерный), а также особых приемов, например, проводилось ли хроматографирование без

насыщения камеры или при повышенной температуре. Схема обработки хроматографических пластин должна содержать описание использованных реактивов с их полным качественным и количественным составом, последовательности проведения этапов обработки, их интенсивности и продолжительности. Особо отмечается интенсивность и окраска хроматографических зон исследуемых веществ после обработки каждым реактивом, а также величина их  $R_f$  или  $RR_f$ . При проведении подтверждающих исследований на конкретное вещество допускается указание о том, что в данных конкретных условиях величина  $R_f$  и окраска хроматографической зоны исследуемого вещества использованными реактивами совпадает с величиной  $R_f$  и окраской стандартного раствора-метчика. В заключении приводятся также данные о пределе обнаружения метода.

## НЕНАПРАВЛЕННЫЙ АНАЛИЗ НАРКОТИЧЕСКИХ И ОДУРМАНИВАЮЩИХ ВЕЩЕСТВ

### Анализ неизвестных образцов

*Анализ неизвестных таблеток.* Если на анализ доставлены неизвестные таблетки, отмечают их цвет, форму, размер, маркировку на поверхности и сравнивают с коллекционными образцами. Затем таблетку, при необходимости под струей воды, отмывают от оболочки, измельчают и смешивают с этанолом (метанолом). При этом в осадке окажутся входящие в состав таблетки, нерастворимые в спирте наполнители. Ниже представлен краткий перечень некоторых вспомогательных веществ, добавляемых при изготовлении лекарственных форм.

Лекарственная форма	Вспомогательные вещества
Аэрозоли	Фтороуглеродороды (три- и дихлорфлюорометан)
Ингаляторы	Инертные газы
Инъекционные растворы	Пропиленгликоль, этилолеат, бензилбензоат, фенол, крезол, хлорбутанол, бензиловый спирт, цитраты, ацетаты, фосфаты и др.
Свечи	Пропиленгликоль, полиэтиленгликоль
Таблетки	Гипс, фосфаты, тальк, желатин, агар, коллоидные салицилаты, маннитол и др.

Полученную спиртовую вытяжку фильтруют и используют для проведения предварительных проб, цветных тестов, ТСХ.

Если доставленный препарат маркирован, но в лаборатории отсутствует методика для его исследования, необходимо узнать химическое название или формулу препарата, определить, к какому классу соединений он относится, какие функциональные группы, определяющие принадлежность препарата к

данному классу соединений, могут быть использованы для его обнаружения в биосредах, при каком значении рН он будет экстрагироваться органическим растворителем из биосред. После отработки метода определения его на доставленном препарате этот метод можно использовать при работе с биоматериалом.

Анализ объектов растительного происхождения. При осмотре объекта растительного происхождения обращают внимание на его внешний вид: отмечают степень измельченности, наличие семян (мак), цвет и запах. Маковая соломка имеет цвет от серо-зеленого до серого, гашиш – от серо-зеленого до коричневого и имеет ароматический запах. Из доставленного на анализ растительного объекта готовят спиртовое извлечение, для приготовления которого берут 1 г растительного сырья и 10 мл смеси этанола с хлороформом (1:2), нагревают на водяной бане до начала кипения. Полученное извлечение фильтруют исследуют методами ТСХ, проводят цветные тесты.

Анализ порошка органической природы. (См. “Анализ неизвестных таблеток”).

Анализ жидкости неизвестного состава.

Доставленную на исследование жидкость сначала подвергают органолептическому анализу.

1. Отмечают цвет, запах.
2. Устанавливают величину рН по универсальному индикатору (кислота, щелочь).
3. Проверяют смешиваемость с водой.
4. Измеряют показатель преломления жидкости на рефрактометре.
5. Проводят предварительные пробы.

### **ТСХ-скрининг веществ кислотного и основного характера**

Хроматографический скрининг преследует цель отобрать, отсеять часть веществ, чтобы сузить круг исследования и сократить время анализа.

ТСХ-скрининг в анализе веществ кислотного и слабоосновного характера, экстрагируемых хлороформом из кислого раствора (рН 2-2,5)

Из лекарственных веществ, имеющих определенное токсикологическое значение, в извлечениях из кислого раствора могут быть: производные барбитуровой кислоты, пиразолона, 1,4-бензодиазепина, кофеин. Пластинку помещают в общую систему растворителей: хлороформ – диоксан – ацетон – 25%-ный раствор аммиака (45:47,5:5:2,5). Когда растворитель поднимется на высоту 10 см, пластинку вынимают, высушивают и обрабатывают реагентами в следующей последовательности:

- 5%-ный раствор сульфата ртути(II) в конц. серной кислоте и 0,1%-ный раствор дифенилкарбазона (ДФК) в хлороформе. При этом на пластинке обнаруживаются производные барбитуровой кислоты в виде фиолетовых пятен.

- 10%-ный раствор хлорида железа(III). Обнаруживаются производные пиразолона.

- модифицированный реактив Драгендорфа. Обнаруживаются соединения, содержащие в структуре вторичный и третичный атом азота (производные 1,4-бензодиазепина, пиразолона, кофеин).

- 10%-ный раствор серной кислоты. Для повышения чувствительности реактива Драгендорфа.

Если ни в одной из зон не проявилось ни одного пятна, то делают заключение о ненахождении веществ в извлечении из кислого раствора.

ТСХ-скрининг в анализе веществ основного характера, экстрагируемых хлороформом из щелочного раствора (рН 8-10)

Из лекарственных веществ, имеющих определенное токсикологическое значение, в извлечениях из щелочного раствора могут быть алкалоиды и синтетические вещества основного характера. Пластинку помещают в систему растворителей: хлороформ – диоксан – ацетон – 25%-ный раствор аммиака (45:47,5:5:2,5). Когда растворитель поднимется на высоту 10 см, пластинку вынимают, высушивают и обрабатывают реагентами в следующей последовательности:

- 10%-ный раствор хлорида железа(III). При этом обнаруживаются производные пиразолона и фенотиазина.

- 16%-ный раствор серной кислоты в этаноле. Обнаруживаются производные фенотиазина.

- 10%-ная серная кислота и УФ-свет. Обнаруживается хинин.

- модифицированный реактив Драгендорфа. Обнаруживаются соединения, содержащие в структуре третичный азот.

- 10%-ная серная кислота. Для повышения чувствительности и усиления окраски пятен с реактивом Драгендорфа.

Если ни в одной из зон не проявилось ни одного пятна, то делают заключение о ненахождении веществ в извлечении из щелочного раствора.

**ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ОТДЕЛЬНЫХ ГРУПП  
НАРКОТИЧЕСКИХ И ОДУРМАНИВАЮЩИХ ВЕЩЕСТВ  
(НАПРАВЛЕННЫЙ АНАЛИЗ)**

**Производные барбитуровой кислоты**

Изолирование. 10 мл мочи в делительной воронке подкисляют 2 М раствором соляной кислотой до рН 2, трижды экстрагируют хлороформом по 10 мл. Хлороформные фазы отделяют и объединяют, фильтруя через безводный сульфат натрия. Органический растворитель удаляют в токе теплого воздуха.

Хроматографическая очистка и обнаружение Остаток растворяют в небольшом объеме (0,1-0,2 мл) хлороформа и количественно с помощью капилляра переносят на стартовую линию хроматографической пластинки



“Силуфол”. На расстоянии 2 см от анализируемой пробы в одну точку (диаметр не более 0,5 мл) последовательно вносят по 0,02 мл спиртовых растворов (1 мг/мл) барбитала, фенобарбитала и этаминала натрия.

Пятна подсушивают, хроматографирование проводят в системе хлороформ – н-бутанол – 25%-ный раствор аммиака (70 : 40 : 5). Камера предварительно насыщается системой растворителей в течение 20 минут. Длина пробега растворителей 10 см. После подсушивания при комнатной температуре или в токе теплого воздуха до полного удаления растворителей, пластинки опрыскивают соответствующими реагентами.

*Реагенты, используемые для проявления пластинки.*

1. Раствор сульфата ртути(II),  $\text{HgSO}_4$ , 5%-ный раствор.
2. Раствор дифенилкарбазона (ДФК), 0,02%-ный раствор (следует избегать избытка дифенилкарбазона).

Барбитураты обнаруживают в виде сине-фиолетовых или красных пятен на исчезающем сиреневом фоне.

Предел обнаружения: 1 мкг анализируемого соединения.

*Значения  $R_f$ :*

Барбитал 0,70-0,75.

Фенобарбитал 0,49-0,55.

Этаминал натрия 0,94-0,96.

Барбамил 0,85-0,92.

Бутобарбитал 0,78-0,85.

Величины  $R_f$  по отношению к метчикам дают возможность сделать предположение о присутствии барбитуратов в исследуемой пробе.

При положительном результате хроматографического исследования проводится дополнительное обнаружение с помощью цветных тестов или микрокристаллоскопических реакций. Данные реакции проводятся с остатками после удаления органического экстрагента и проведения изолирования из новой аликвоты мочи (10 мл) по методике, описанной выше.

*Цветной тест:* на фильтровальную бумагу в одну точку наносят 2-3 капли раствора барбитурата в органическом растворителе или кислого извлечения из мочи, подсушивают, затем наслаивают 1-3 капли 1%-ного спиртового раствора нитрата кобальта  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ , подсушивают и вносят бумагу в пары 25%-ного раствора аммиака – пятно приобретает красно-фиолетовое окрашивание.

*Микрокристаллоскопическая реакция:* к сухому остатку на предметном стекле добавляют одну каплю 10%-ного раствора аммиака, а после растворения остатка одну каплю 10%-ного раствора серной кислоты. Через 10-15 минут наблюдают характерные сростки кристаллов.

### **Алкалоиды группы опия**

*Изолирование.* 20 мл мочи подкисляют 6 М  $\text{HCl}$  до pH 2 и гидролизуют на водяной бане в течение 20 минут. Гидролизат охлаждают, добавляют 10%-ный раствор аммиака до pH 9,0-9,5. Экстрагируют 2 раза в течение 5 минут двойным количеством смеси хлороформ – бутанол (9:1). Отделяют органический слой, объединяют оба извлечения для дальнейшего исследования.

Фильтруют через бумажный фильтр с безводным сульфатом натрия и выпаривают в фарфоровой чашке.

Хроматографическая очистка и обнаружение. Система для хроматографирования: этилацетат – этанол (метанол) – аммиак (17: 2: 1).

В качестве метчиков наносят растворы морфина, кодеина, наркотина, папаверина. Длина пробега – 10 см.

*Реагенты, используемые для проявления пластинки.*

1. Реактив Марки.

2. Реактив Фреде.

Реактивы наносят капельно от старта до финиша сначала в зону метчиков, а затем в исследуемые зоны.

Соединение	Окрашивание	
	с реактивом Марки	с реактивом Фреде
Морфин	красно-фиолетовое	фиолетовое
Кодеин	фиолетовое	фиолетово-зеленое
Наркотин	фиолетовое	сине-зеленое
Папаверин	фиолетовое	сине-зеленое
Омнопон	красно-фиолетовое	фиолетовое
Героин	красно-фиолетовое	фиолетовое

Микрориспаллоскопические реакции.

Сухой остаток на предметном стекле растворяют в капле 0,1 М раствора соляной кислоты и добавляют каплю реагента.

*Морфин*

1. Реакция с иодидом калия, KI, 15%-ный раствор.

Наблюдается образование белого осадка, состоящего из бесцветных игл, собранных в пучки. Предел обнаружения: 2,5 мкг морфина.

2. Реакция с хлоридом ртути, HgCl<sub>2</sub>, 5%-ный раствор.

Наблюдаются характерные пучки из игл.

3. Реакция с солью Рейнеке.

Образуется сиреневый осадок, содержащий кристаллы в виде сростков из пучков тонких игл. Предел обнаружения: 2 мкг морфина.

*Кодеин*

1. Реакция с раствором пикриновой кислоты.

При соединении капль исследуемого раствора и насыщенного раствора пикриновой кислоты образуется желтый аморфный осадок, который при стоянии становится кристаллическим. Наблюдаются кристаллы двух видов: желтые сфериды и пучки из бледно-желтых пластинок. Предел обнаружения: 1 мкг кодеина.

2. Реакция с хлоридом ртути, HgCl<sub>2</sub>, 5%-ный раствор.

При потирании предметного стекла в области капль стеклянной палочкой выделяется кристаллический осадок из иглообразных и пластинчатых кристаллов. Предел обнаружения: 13 мкг кодеина.

## Производные 1,4-бензодиазепина

I.Изолирование. 20 мл мочи подщелачивают NaOH до pH 10. Экстрагируют дважды хлороформом двойным объемом. Органический растворитель упаривают в токе теплого воздуха.

Хроматографическая очистка и обнаружение. Система для хроматографирования - хлороформ – диоксан – ацетон – 25%-ный раствор аммиака (45:47,5:5:2,5).

*Реагенты, используемые для проявления пластинки.*

Проявляют пластинку реактивом Драгендорфа. Производные 1,4-бензодиазепина обнаруживаются в виде оранжево-коричневых пятен.

Вследствие особенностей распределения и метаболизма производных 1,4-бензодиазепина, их определение целесообразно проводить по продуктам их гидролиза – аминобензофенонам. Это позволяет определять общее количество препаратов (как сумму нативного соединения и его метаболитов) в биологической жидкости.

II.Изолирование. К 10 мл анализируемой мочи или 2 мл крови добавляют соответственно 10 мл и 2 мл концентрированной HCl и нагревают в колбе с обратным холодильником на кипящей водяной бане в течение 1 часа (кислотный гидролиз).

По окончании реакции гидролизат нейтрализуют насыщенным раствором NaOH, доводят pH до 8-10 и экстрагируют дважды хлороформом (10 мл x 2 для мочи и 5 мл x 2 для крови). Слой органического растворителя отделяют на делительной воронке, а затем в объединенных экстрактах упаривают органический растворитель под струей теплого воздуха до объема в несколько капель для ТСХ-анализа и досуха для количественного определения.

Хроматографическая очистка и обнаружение. Остаток экстракта переносят на стартовую линию пластинки “Силуфол”. На ту же стартовую линию наносят пятно метчиков, состоящее из смеси бензофенонов, производных 1,4-бензодиазепина (10-15 мкг каждого). Пробег фронта растворителя 10 см. Подвижная фаза – бензол. По окончании хроматографирования бензол удаляют с пластинки током теплого воздуха.

При концентрации бензофенонов более 5 мкг/мл, их можно обнаружить по собственной желтой окраске или флюоресценции в УФ-свете, при меньших концентрациях – по флюоресценции в УФ-свете и реакции окрашивания Браттона-Маршалла.

*Реагенты, используемые для проявления пластинки.*

1. Нитрит натрия, NaNO<sub>2</sub>, свежеприготовленный 0,1%-ный раствор.
2. Соляная кислота, HCl, 2 М раствор.
3. Мочевина, (NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CO, насыщенный раствор (для удаления избытка нитрита натрия). Пластинку опрыскивают через 2 минуты.
4. N-2-нафтилэтилендиаминдихлорид (или щелочной раствор β-нафтола).

В месте локализации аминобензофенонов появляется оранжево-красное окрашивание.

## Производные фенотиазина

### Предварительная проба.

К 2 мл мочи прибавляют 1 мл реактива FPN. При наличии в исследуемой пробе производных фенотиазина мгновенно развивается окрашивание от розового до синего в зависимости от структуры и количеств соединений в исследуемой пробе. Проба с реактивом FPN не специфична и имеет только отрицательное значение. При отрицательном результате пробы дальнейшее исследование мочи на наличие производных фенотиазина не проводится.

Изолирование. 5-10 мл мочи или 2 мл крови подщелачивают 50%-ным раствором едкого натра до pH 13 и смесь кипятят в течение 10 минут на водяной бане. Полученный гидролизат охлаждают до комнатной температуры и дважды (по 20 мл) экстрагируют н-гептаном, содержащим 3%-ный изоамиловый спирт. Гептановые извлечения из мочи объединяют, промывают водой, насыщенной гептаном, и делят на две равные части. В одной части проводится обнаружение производных фенотиазина методом тонкослойной хроматографии, а в другой – количественное определение. Экстракт из крови полностью расходуется на количественное определение, так как содержит меньшее количество соэкстрагируемых веществ.

Хроматографическая очистка и обнаружение. Из аликвоты органического экстракта удаляют в токе теплого воздуха органический растворитель. Сухой остаток растворяют в 0,2-0,5 мл хлороформа и полученный раствор поровну наносят на две пластинки “Силуфол”. В качестве метчиков наносят аминазин (обязательно) и те производные фенотиазина, которые были обнаружены в процессе предварительного исследования (ТСХ-скрининг). Хроматографирование проводят в системе 1 и 2. Длина пробега – 10 см.

Система –1: бензол – диоксан – 25%-ный раствор аммиака (60 : 35 : 5).

Система –2: этилацетат – ацетон – 25%-ный раствор аммиака в этаноле (1:1) (50 : 45 : 4).

*Реагенты, используемые для проявления пластинки.*

Одну пластинку опрыскивают раствором концентрированной серной кислоты в этаноле (1:9) и при положительном результате на второй пластинке обнаружение проводят с помощью реактива Марки.

Ниже приведены величины и окраски пятен некоторых производных фенотиазина.

Соединение	Реакция окрашивания		Система-1	Система-2
	конц. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> – этанол (1:9)	реактив Марки	R <sub>St</sub> (по аминазину)	R <sub>St</sub> (по аминазину)
Аминазин	темно-красное	темно-красное	1,00	1,00
Дипразин	темно-красное	темно-красное	0,74	2,95
Пропазин	красное	красное	1,29	1,08
Левомепромазин	голубое	голубое	1,56	1,87
Трифтазин	красное	красное	0,48	0,26
Этаперазин	темно-красное	темно-красное	0,34	0,48
Френолон	красное	красное	1,71	3,21

### Каннабиноиды

Основными компонентами, определяемыми в биожидкостях, являются:  $\Delta^9$ -тетрагидроканнабинол,  $\Delta^8$ -тетрагидроканнабинол, каннабинол, каннабидиол.

Отбор пробы осуществляется протираем рук подозреваемого в курении гашиша ватным или марлевым тампоном, смоченным этиловым спиртом. Спирт из образцов испаряют при комнатной температуре, а тампоны упаковывают в полиэтиленовые пакеты и направляют на исследование в лабораторию.

Изолирование. Каннабиноиды экстрагируют из материала тампона два раза диэтиловым эфиром порциями по 10 мл в течение 1 мин. Экстракт упаривают до конечного объема 0,1-0,3 мл и используют как для предварительного определения каннабиноидов характерными цветными реакциями, так и для качественного определения их методом тонкослойной хроматографии.

Для предварительного исследования отбирают 5 мкл от аликвоты упаренного до малого объема экстракта, наносят пробу на фильтровальную бумагу, высушивают и затем опрыскивают 0,5%-ным раствором прочного синего Б в 10%-ном водном растворе карбоната натрия. Отсутствие оранжевого окрашивания пятна служит основанием для заключения, что в пробе не обнаружены каннабиноиды. При появлении оранжевого окрашивания вторую аликвоту экстракта наносят на пластинку “Силуфол”.

Хроматографическая очистка и обнаружение. Хроматографирование осуществляется в системе петролейный эфир-диэтиловый эфир (4:1) двукратно. Выявление пятен осуществляется опрыскиванием хроматограммы 0,5%-ным раствором прочного синего Б в 10%-ном растворе карбоната натрия. При этом в основном выявляется каннабинол ( $R_f = 0,76$ ) и тетрагидроканнабинол ( $R_f = 0,84$ ).

Следует иметь в виду, что обнаружение тетрагидроканнабинола только в смывах с кожи рук не является основанием для заключения, что данное лицо курило гашиш, поскольку возможно случайное соприкосновение с гашишем, о котором освидетельствуемый и не подозревал.

Выявление каннабиноидов в слюне курильщика гашиша.

Отбор проб. У лиц, подозреваемых в курении гашиша, в склянку с притертой пробкой вместимостью 100 мл отбирают примерно 10 мл слюны, после чего промывают полость рта 50 мл 70%-ного этилового спирта, который насыщен хлористым натрием (последний вводят для предупреждения глотания спирта). Слюну и смыв объединяют, склянку закрывают, опечатывают и направляют на исследование в лабораторию.

Изолирование. Полученную пробу смешивают с 50 мл насыщенного водного раствора хлорида натрия. Экстрагируют каннабиноиды 10 мл этилацетата. Время экстракции – 5 мин. Число экстракций – 3. Экстракт высушивают путем добавления 1-1,5 г безводного сульфата натрия. Затем фильтруют экстракт через бумажный фильтр и упаривают до нескольких капель.

Хроматографическая очистка и обнаружение Весь полученный раствор наносят на пластинку “Силуфол”. Хроматографирование осуществляется в условиях, описанных выше. При этом следует учитывать, что отрицательный результат еще не является основанием для вывода, что данное лицо не употребляло гашиш, так как следы гашиша после его курения сохраняются в полости рта до 1 часа, а на коже – до 24 часов (если поверхность кожи не подвергалась протиранию растворителями типа одеколона, этилового спирта).

Выявление каннабиноидов в плазме крови.

5 мл плазмы крови экстрагируют четырехкратно по 5 мл смеси петолейного эфира, содержащего 1,5% пентанола по объему. Объединенный органический экстракт упаривают до объема нескольких капель и переносят на пластинку “Силуфол”. Хроматографируют в тех же условиях, что и экстракт из слюны.

## Кокаин

Изолирование. 5 мл крови экстрагируют 15 мл н-бутилхлорида. Органическую фазу отделяют, добавляют к ней 10 мл 0,1 М HCl, встряхивают в течение 5 мин. Отделяют водную фазу (органическую отбрасывают) и приливают к ней 10%-ный раствор аммиака до pH 10. В делительную воронку помещают подщелоченную водную фазу и дважды экстрагируют по 5 мл хлороформом. Объединенный хлороформный экстракт упаривают до объема 0.5 мл в токе теплого воздуха.

50 мл мочи подкисляют HCl до pH 2 и экстрагируют 50 мл эфира для удаления кислых и нейтральных соединений. Кокаин и его метаболиты остаются в основном в водной фазе. Водную фазу подщелачивают 25%-ным раствором

аммиака до pH 10. Экстракцию производят равным объемом смеси хлороформ-изопопанол (3:1) дважды. Объединенный экстракт упаривают досуха.

Хроматографическая очистка и обнаружение. Сухой остаток растворяют в 0,2 мл хлороформа и половину объема наносят на стартовую линию пластики ВЭТСХ. В качестве метчиков используют смесь кокаина и бензоилэкгонина. Хроматографируют в системе хлороформ – метанол (50:50). Длина пробега – 10 см.

*Реагенты, используемые для проявления пластинки.*

Сначала пластинку опрыскивают реактивом Драгендорфа, затем иодплатинатом. Идентификацию проводят по совпадению величин  $R_f$  исследуемых соединений и метчиков. При положительной пробе оставшуюся аликвоту раствора хроматографируют в системе этилацетат-циклогексан-метанол-аммиак (70:15:10:5) или этилацетат – метанол (80:20) и проводят микрокристаллоскопические реакции.

Микрокристаллоскопические реакции.

1. Реакция с раствором платинохлористоводородной кислоты.

Соединяют на предметном стекле капли исследуемого раствора и 10%-ный раствора платинохлористоводородной кислоты. Из концентрированных растворов соли кокаина сразу же выпадают перистые дендриты, а из разбавленных – кристаллы в виде штыков. Предел обнаружения – 3,3 мкг кокаина.

2. Реакция с раствором перманганата калия.

К крупинке хлористоводородной соли кокаина прибавляют на предметном стекле каплю 1%-ного раствора перманганата калия. При потирании стеклянной палочкой в области исследуемой капли и добавлении реактива выделяются красно-фиолетовые прямоугольные и квадратные пластинки. Предел обнаружения - 4 мкг.

## **Амитриптилин**

Изолирование. 5 мл крови или 50 мл мочи подщелачивают 50%-ным раствором едкого натра до pH 9-10 и производят экстракцию диэтиловым эфиром дважды по 20 мл. Эфирные извлечения объединяют, объем доводят в мерной колбе емкостью 50 мл до метки, делят на аликвоты соответственно 10,10,10 и 20 мл, помещают в стеклянные стаканчики, упаривают досуха.

Хроматографическая очистка и обнаружение амитриптилина. Остатки в стеклянных стаканчиках количественно с помощью хлороформа переносят на стартовую линию пластики “Силуфол”, нанося полосами (длина 1-2 см).

В качестве метчика на пластинку наносят 5-10 капель стандартных хлороформных растворов амитриптилина-основания и нортриптилина-основания (0,5 мг/мл) и пластинку хроматографируют в системе бензол-ацетон (80:20) до продвижения фронта растворителей на 10 см. После высушивания пластинку хроматографируют в системе бензол-диоксан-аммиак (60:35:5) до продвижения фронта растворителей на 10 см. Хроматограмму высушивают на воздухе и в зонах метчиков и первой полосы (аликвота соотв. 10 мл),

детектируют (капельно) концентрированной серной кислотой. При наличии амитриптилина наблюдается пятно ярко-оранжевого цвета на уровне метчика с  $R_f = 0,74-0,78$ , в случае нортриптилина проявляется пятно оранжевого или желтого (в зависимости от концентрации) цвета с  $R_f = 0,38-0,46$ . Открываемый минимум – 0,2 мкг амитриптилина-основания и нортриптилина-основания в пробе.

При отсутствии на хроматограмме пятна с  $R_f = 0,74-0,78$  дают заключение о необнаружении амитриптилина.

При наличии на хроматограмме пятен с  $R_f = 0,74-0,78$  и  $R_f = 0,38-0,46$ , параллельных метчикам амитриптилина и норамиптиптилина, производят дальнейшее исследование извлечения.

Непроявленные участки силикагеля, параллельно проявленным пятнам амитриптилина и нортриптилина, переносят с помощью скальпеля в 3 пробирки с притертыми пробками и добавляют по 10 мл хлороформа. Смесь встряхивают, отстаивают и жидкость декантацией сливают через стеклянный фильтр в стеклянный стаканчик для исследования. В пробирку вновь дважды наливают по 10 мл хлороформа и смесь также встряхивают и отфильтровывают. Полученные хлороформные растворы далее исследуют с помощью цветных и микрокристаллоскопических реакций.

Реакции окрашивания. Остаток, полученный после удаления хлороформа, соответствующий 20 мл эфирного извлечения, растворяют в 2 мл хлороформа и по несколько капель помещают в 3 фарфоровые чашки и на одно предметное стекло. К сухим остаткам в фарфоровых чашках добавляют по 2 капли концентрированной серной кислоты, реактива Фреде, реактива Марки (в одну чашку – один реагент). При наличии амитриптилина и нортриптилина наблюдается желто-оранжевое окрашивание. Чувствительность реакций- от 0.1 до 1,0 мкг в пробе.

Микрокристаллоскопическая реакция. К сухому остатку на предметном стекле добавляют 1 каплю 0,1%-ного раствора и 1 каплю 0,1%-ного раствора соли Рейнеке. При наличии амитриптилина наблюдается образование сложных кристаллов в виде сросшихся у основания игл. Чувствительность реакции - 0,02 мкг в пробе. При наличии в пятне нортриптилина наблюдается образование кристаллов в виде веточек. Чувствительность реакции – 0,01 мкг в пробе.

## Димедрол

Изолирование. К 10 мл мочи или 2 мл крови добавляют водный раствор аммиака до pH 10 и экстрагируют димедрол двукратным объемом хлороформа. Хлороформную фазу отделяют и упаривают хлороформ (экстракт не должен вскипать!) до объема нескольких капель (для ТСХ) и досуха при количественном определении.

Хроматографическая очистка и обнаружение. Упаренный экстракт наносят на стартовую линию пластинки “Силуфол”. Рядом помещают пятно



метчика и хроматографируют в системе хлороформ-ацетон-аммиак (12:24:1). Длина пробега – 10 см.

Обнаружение проводят концентрированной серной кислотой. Отмечают появление окрашенных пятен.  $R_f$  составляет 0,67-0,68.

### Промедол

Изолирование. 50 мл мочи доводят до pH 11-13 0,1 М раствором NaOH и трижды экстрагируют хлороформом по 45, 40 и 25 мл. Объединенные хлороформные извлечения фильтруют через фильтр, смоченный хлороформом и органический растворитель удаляют в испарительной чашке досуха.

Хроматографическая очистка и обнаружение. Сухой остаток растворяют в хлороформе. Полученный раствор делят на две равные части. На стартовую линию хроматографической пластинки с закрепленным слоем силикагеля наносят в две полосы экстракты 1 и 2 и рядом раствор метчика (стандартный раствор промедола основания в хлороформе). В качестве подвижной фазы используют хлороформ, который помещают в камеру объемом 500 см<sup>3</sup>, на дно которой помещается бюкс или тигель, содержащий 5 мл 25%-ного раствора аммиака. Насыщают в течение 30 минут. Длина пробега – 10 см.

*Реагенты, используемые для проявления пластинки.*

Одну из зон опрыскивают реактивом Драгендорфа. При наличии промедола наблюдается оранжевое пятно.

Во второй зоне и зоне метчика промедол обнаруживается капельно с помощью реактива Марки (пурпурно-красное окрашивание). Предел обнаружения – 0,25 мкг.

Микрористаллическая реакция с ализариновым красным.

Оранжевое пятно, полученное после обработки реактивом Драгендорфа, снимают с помощью скальпеля в пробирку, содержащую 5 мл смеси этанола-25%-ного раствора аммиака (9:1). После встряхивания смеси в течение 1 минуты полученный раствор отделяют фильтрованием через стеклянный фильтр. Растворитель удаляют, а остаток переносят с помощью хлороформа на предметное стекло. К сухому остатку добавляют 1 каплю 0,1 М раствора HCl и вносят 1-2 кристалла красителя ализаринового красного. При наличии промедола (через 5-10 минут) образуются игольчатые кристаллы желтого цвета.

### Эфедрин, эфедрон

Предварительное исследование. К 1 мл мочи добавляют кристаллический сульфат натрия до насыщения и затем по 0,5 мл сероуглерода в бензоле и аммиакат меди. Полученную смесь встряхивают в течение 30 мин. В этих условиях эфедрин и эфедрон образуют комплексное соединение с медью, содержащееся в верхнем органическом слое. Органическую фазу отбирают, а водную промывают 1 мл бензола. Объединенные органические экстракты

упаривают в токе холодного воздуха до объема 50-100 мкл. Упаренный экстракт количественно наносят полосой 3 см на линию старта пластинки “Силуфол-УФ-354”. В качестве метчиков используют комплексы эфедрона и эфедрина с медью в концентрации 1 мг/ мл, приготовленные из чистых субстанций.

Хроматографирование проводят в системе хлороформ – ацетон (48:2) – для эфедрина и в системе циклогексан-ацетон-метанол (40:10:2) – для эфедрона.

$R_f$  (эфедрина) – 0,26;  $R_f$  (эфедрона) – 0,27. Длина пробега растворителя 10 и 15 см соответственно.

Пластинку просушивают и просматривают в УФ-свете. Желто-коричневое окрашивание и совпадение величин  $R_f$  с метчиками служит положительной реакцией и основанием для проведения дополнительного исследования. При отрицательном результате на эфедрин и эфедрон дальнейшее исследование не проводится.

Изолирование. 10 мл биологической пробы (мочи) доводят до pH 10 раствором карбоната натрия и трижды экстрагируют хлороформом по 10 мл. Объединенные хлороформные извлечения фильтруют через фильтр, смоченный хлороформом, и органический растворитель удаляют в выпарительной чашке досуха.

Хроматографическая очистка и обнаружение. Остаток растворяют в 0,5 мл хлороформа и наносят на пластинку “Силуфол”, в качестве метчиков используют эфедрин, эфедрон и фенамин в виде оснований. Хроматографирование проводят в системе бензол – этанол – диэтиламин (9 : 1 : 1). Длина пробега 10 см. После хроматографирования пластинку сушат в потоке теплого воздуха и опрыскивают свежеприготовленным раствором нингидрина в ацетоне. Затем пластинку нагревают в сушильном шкафу при 80-100<sup>0</sup>С или в токе теплого воздуха. При наличии в пробе исследуемых веществ образуются темно-фиолетовые пятна с соответствующими значениями метчиков (эфедрин, эфедрон).

Микрорисаллоскопические реакции.

Эфедрин гидрохлорид

1. Реакция с иодвисмутатом калия.

При взаимодействии капле растворов эфедрина гидрохлорида и иодвисмутата калия через 10 минут наблюдается выпадение кристаллического осадка, состоящего из кристаллов двух видов: темно-красных игл и тонких оранжевых пластинок. Предел обнаружения: 1 мкг эфедрина.

2. Реакция с солью Рейнеке.

При взаимодействии капле раствора эфедрина гидрохлорида и 1%-ного свежеприготовленного раствора соли Рейнеке выпадает кристаллический осадок, состоящий из тонких пластинок прямоугольной формы. Предел обнаружения: 7 мкг эфедрина.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Еремин С.К. Анализ наркотических средств : руководство по химико-токсикологическому анализу наркотических и других одурманивающих веществ / С.К. Еремин, Б.Н. Изотов, Н.В. Веселовская. – М. : Мысль, 1993.
2. Изотов Б.Н. Ненаправленный анализ на вещества, изолируемые экстракцией полярными растворителями / Б.Н. Изотов. – М. : Медицина, 1996.
3. Веселовская Н.В. Наркотики. Свойства, действие. Фармакокинетика. Метаболизм / Н.В. Веселовская [и др.]. – М., 2002.
4. Симонов Е.А. Наркотики. Методы анализа на коже в ее придатках и выделениях / Е.А. Симонов, Б.Н. Изотов, А.В.Фесенко. – М. : Анахарсис, 2000.
5. Химико-токсикологический анализ веществ, вызывающих одурманивание : методические указания. – М. : МЗ СССР, 1989.
6. Лужников Е.А. Клиническая токсикология / Е.А.Лужников. – М. : Медицина, 1999.
7. Клиническая токсикология детей и подростков : в 2-х т. / под ред. И.В. Марковой [и др.]. – С.-Пб. : Интермедика, 1998.
8. Энциклопедия клинических лабораторных тестов / под ред. Н.Тица. – М. : “Лабинформ”, 1997.
9. Дунаевский В.В. Наркомании и токсикомании / В.В.Дунаевский, В.Д.Стяжкин. – Л. : Медицина. – 1990.
10. Бабаян Э.А. Наркология / Э.А.Бабаян, М.Х.Гонопольский. – М. : Медицина, 1987.
11. Личко А.Е. Подростковая наркология / А.Е.Личко, В.С.Битенский. – М. : Медицина, 1991.
12. Крамаренко В.Ф. Токсикологическая химия / В.Ф. Крамаренко. – Киев : Высшая школа, 1989.

## ПРИЛОЖЕНИЕ

### Приготовление реактивов

- Реактив Драгендорфа. В 20 мл азотной кислоты ( $\rho$  1,18 г/см<sup>3</sup>) растворяют 8 г основного нитрата висмута. Полученный раствор вливают в раствор, содержащий 27,2 г иодида калия в 30 мл воды. Через несколько дней жидкость фильтруют и разбавляют водой до 100 мл.

- Реактив Драгендорфа, модифицированный по Мунье. В 10 мл ледяной уксусной кислоты растворяют 0,85 г основного нитрата висмута и прибавляют 40 мл воды. К этой жидкости прибавляют раствор, содержащий 8 г иодида калия в 20 мл воды. Перед употреблением берут 1 мл указанного раствора, прибавляют к нему 2 мл ледяной уксусной кислоты и 10 мл воды.

- Реактив Марки. К 1 мл концентрированной серной кислоты прибавляют каплю формалина и охлаждают. Этот реактив используют свежеприготовленным.

- Реактив Симона. Данный реактив получают при смешивании равных объемов 10%-ного раствора ацетальдегида и 1%-ного раствора нитропруссиды натрия.

- Реактив Фреде. К растертому в порошок молибдату аммония (или натрия) прибавляют концентрированную серную кислоту. Смесь интенсивно взбалтывают. Полученный насыщенный раствор молибденовой кислоты в концентрированной серной кислоте сливают с осадка. Реактив используют свежеприготовленным. При стоянии реактив может изменять свою окраску.

- Реактив Эрдмана. К 20 мл концентрированной серной кислоты прибавляют 10 капель 15%-ной азотной кислоты и взбалтывают.

- Реактив FPN. К 5 мл 5%-ного раствора хлорида железа(III) прибавляют 45 мл 20%-ного раствора хлорной кислоты и 50 мл 50%-ного раствора азотной кислоты.

- Сульфат ртути(II), 2%-ный раствор. 5,0 г желтой окиси ртути растворяют в смеси 100 мл воды и 10 мл конц. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, охлаждают, доводят водой до 250 мл.

- Дифенилкарбазон, 0,02%-ный раствор. 0,02 г ДФК растворяют в 100 мл хлороформа.

Министерство  
здравоохранения  
Российской Федерации  
ГУЗ ОНД

Код формы по ОКУД \_\_\_\_\_  
Код учреждения по ОКПО \_\_\_\_\_  
Медицинская документация  
Форма № 454 / у

## РЕЗУЛЬТАТЫ ХИМИКО -ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Химико-токсикологическая лаборатория ОНД, (адрес)

Анализ № \_\_\_\_\_ п

Дата проведения исследования \_\_\_\_\_

ФИО специалиста, проводившего исследование \_\_\_\_\_

Исследование произведено по направлению № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_

Личное заявление

ФИО освидетельствуемого \_\_\_\_\_

Код пробы \_\_\_\_\_

Объект исследования \_\_\_\_\_

Метод анализа \_\_\_\_\_

Результат \_\_\_\_\_

Подпись \_\_\_\_\_

М.П.

Бюро судебно-медицинской экспертизы  
Воронежского облздравотдела  
г.Воронеж, ул.Феоктистова,1

Код формы по ОКУД \_\_\_\_\_  
Код формы по ОКПО \_\_\_\_\_  
Медицинская документация  
Форма 3 175/У  
Утверждена Минздравом РФ

## А К Т

### судебно-химического исследования

№ \_\_\_\_\_

На основании отношения \_\_\_\_\_

от \_\_\_\_\_ № \_\_\_\_\_ в химическом отделении судебно-медицинской лаборатории  
бюро судебно-медицинской экспертизы Воронежского облздравотдела, \_\_\_\_\_  
экспертом-химиком отделения \_\_\_\_\_

произведено исследование \_\_\_\_\_

Исследование начато \_\_\_\_\_

Исследование закончено \_\_\_\_\_

Вопросы, подлежащие разрешению при исследовании, и другие разделы  
“Акта судебно-химического исследования” излагаются на следующих  
\_\_\_\_\_ листах.

**ПРИЛОЖЕНИЕ**

Составители: Евстигнеева Валентина Петровна  
Шкутина Ирина Викторовна  
Брежнева Татьяна Александровна  
Сливкин Алексей Иванович  
Селеменев Владимир Федорович

Редактор Тихомирова О.А.