Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования

Курский государственный медицинский университет федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию

Кафедра Фармацевтической, токсикологической и аналитической химии

Зав. кафедрой: д.б.н., профессор, академик РАЕН Л.Е. Сипливая

Курсовая работа

Тема работы: Химико-токсикологический анализ лекарственных средств, применяемых для наркотизации

Исполнитель: Баранникова В.В. студентка 4 курса фармацевтического факультета 4 группы

Руководитель:

Шорманов В.К.

д.ф.н., профессор

Курск 2014г.

Содержание

Введение

Глава 1. Токсикологическая характеристика лекарственных веществ

.1 Токсикологическая характеристика тропикамида

.2 Токсикологическая характеристика атропина

.3 Токсикологическая характеристика цикломеда

Глава 2. Химико-токсикологический анализ веществ

.1 Общая характеристика метода ТСХ

.2 Химико-токсикологическое исследование тропикамида

Глава 3. Экспериментальная часть. Результаты анализа лекарственных веществ методом ТСХ

Заключение

Список литературы

Приложение 1

Введение

В настоящее время распространение наркомании и наркотизма, не смотря на предпринимаемые предупредительные меры, представляет угрозу национальной безопасности России. Бесспорно, проблема наркомании, наркотизма и наркотизации населения существует не только в России, она носит глобальный характер, будучи актуальной почти для всех государств, расположенных в разных частях света. Международный наркобизнес подрывает морально-этические и культурные устои, провоцируя политическую и социально-экономическую нестабильность во многих регионах мира. По сути дела сейчас наблюдается международная экспансия наркотиков, так как практически не осталось ни одного народа мира, который не столкнулся бы с данной проблемой.

Во многих регионах России в последние годы наркоситуация носит нестабильный характер, постоянно увеличивается перечень наркосодержащих препаратов, не успевая отслеживать новые виды появившихся на рынке наркотиков.

Широко известно, что наркотизация населения особенно угрожает молодежи как социально-демографической группе, являющейся потенциальным носителем нестандартного, в том числе девиантного поведения. Поэтому данная проблема может быть разрешена только с помощью системной, последовательной организационно-профилактической работы, на основе проведения комплексных социологических исследований наркотизации населения в отдельно взятом регионе, их всесторонней научной оценки и разработки эффективной.[15]

В настоящее время в Российской Федерации наметилась тенденция к замене классических наркотиков на более доступные, дешевые и уголовно ненаказуемые психоактивные вещества, которые, зачастую, можно беспрепятственно и в неограниченных количествах приобрести в аптеке.

Примером подобных веществ является группа холиноблокаторов, широко использующихся в медицинской практике. Поскольку многие холиноблокаторы способны проникать через гематоэнцефалический барьер в центральную нервную систему, их назначение требует тщательного подбора дозировки с учетом возраста, пола, индивидуальных особенностей пациента и течения заболевания. В терапевтических дозах холинолитики обладают слабым влиянием на ЦНС, однако, при употреблении высоких доз возможно развитие «холинолитического синдрома», который характеризуется двигательным и психическим возбуждением, сильным беспокойством, судорогами, галлюцинациями (в основном устрашающего характера), сухостью слизистых оболочек, мидриазом, тахикардией, гипертонией. По мере нарастания тяжести отравления развиваются сонливость, тревога, страх, делирий, угнетение сознания (вплоть до комы), судорожные припадки, паралич дыхательного центра.

Использование холинолитических средств с целью одурманивания связано с их способностью вызывать яркие зрительные галлюцинации и необычные «телесные ощущения» . Особенно популярны данные препараты в подростковой среде по причине их относительной доступности (бесконтрольного отпуска из аптек), низкой стоимости и быстрого достижения ожидаемых психомиметического и галлюциногенного эффектов. Популяризации этих препаратов способствует также информация, которую можно почерпнуть на различных сайтах и форумах Всемирной Сети, посвященных описанию эффектов, возникающих при приеме холиноблокаторов, необходимой дозировки, способов приема и т.д.

Первым холинолитическим средством, использовавшимся для достижения состояния одурманивания, был циклодол. Циклодоловая токсикомания описана в иностранной литературе в 60-х годах XX века среди лиц, проходивших лечение в психиатрических больницах. Злоупотребление циклодолом в нашей стране получило распространение во второй половине 70-х годов. Следует отметить, что в настоящее время циклодол практически не используется в качестве объекта злоупотребления по причине ранее принятых эффективных мер, ограничивающих его свободное приобретение.

Однако в последние годы обозначилась тенденция к злоупотреблению другими, более доступными холинолитическими средствами. Таким образом, «циклодоловая» наркомания в XXI веке нашла свое продолжение в препаратах «Цикломед» и «Тропикамид».

Последствия злоупотребления холинолитиками губительны для организма. К ним относятся угнетение ЦНС, кроветворной системы, поражение печени (хронический гепатит) с быстрым развитием печеночной недостаточности и цирроза, а также поражение сердечной мышцы (миокардиопатии, аритмии) .

О проблеме немедицинского использования препаратов в Российской Федерации свидетельствует статистика служб, занимающихся анализом биологических объектов на наличие наркотических средств и психотропных веществ, которые в последние годы фиксируют значительный рост случаев обнаружения данных веществ в исследуемых объектах.[17]

ГЛАВА 1. ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТКРИСТИКА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

1.1 Токсикологическая характеристика тропикамида

Структурная формула, химическое название: N-Этил-2-фенил-N-(4-пиридилметил) гидракриламид. Синонимы: Мидриацил, Мидрум.



Тропикамид представляет собой белый кристаллический порошок с температурой плавления 96-97°С, хорошо растворим в воде, этиловом спирте и в хлороформе. Лекарственная форма: 0,5% или 1% раствор во флаконах-капельницах, бесцветная, прозрачная жидкость.

Фармакологическое действие - мидриатическое. Блокирует м-холинорецепторы сфинктера радужки и цилиарной мышцы. Расширяет зрачок, вызывает паралич аккомодации. Действие быстрое и непродолжительное. Расширение зрачков и циклоплегия начинаются через 5-10 мин, достигают максимума через 30-45 мин и длятся в течение 1-2 ч. Исходная ширина зрачков восстанавливается через 6 ч.

Применяется в медицине с целью диагностики в офтальмологии (необходимость возникает при мидриазе и циклоплегии - для исследования глазного дна, определения рефракции с помощью скиаскопии). Так же при воспалительных процессах и спайки глаза.

Противопоказаниями к применению является гиперчувствительность и глаукома, особенно закрытоугольная форма. Так же противопоказано применение тропикамида при первичной глаукоме, а также в случае наличия факторов, предрасполагающих к развитию глаукомы, например узкий угол передней камеры, при известной непереносимости любых компонентов препаратов тропикамида.

Ограничения к применению во время беременности, в период лактации и грудной возраст.

Побочные действия вещества Тропикамид характеризуются несколькими типами реакций.

Офтальмологические реакции: преходящее жжение, нечеткость зрительного восприятия, поверхностный точечный кератит, парез аккомодации, фотофобия, повышение внутриглазного давления, приступ глаукомы, аллергические реакции.

Системные реакции: сухость кожи и слизистых оболочек, в том числе сухость во рту, тошнота, рвота, тахикардия, бледность, возбуждение, головная боль, судороги, кома, паралич дыхания.

При применении антихолинергических ЛС у детей сообщалось о развитии психотических реакций, поведенческих нарушений, вазомоторного или кардиореспираторного коллапса.

Взаимодействие других лекарственных средств с Тропикамидом: эффект Тропикамида усиливают симпатомиметики, ослабляют м-холиномиметики. Вероятность развития системных побочных действий повышают трициклические антидепрессанты, фенотиазины, амантадин, хинидин, антигистаминные препараты и другие средства с м-холинолитическими свойствами [1,14,24].

В настоящее время среди наркоманов препарат тропикамид, «аптечный» наркотик, приобрел популярность. Обычно это средство используют офтальмологи с целью диагностики глазного дна или при лечении воспалительных процессов. Однако оказалось, что использовать его можно и в качестве наркотика. Однако последствия тропикамида весьма серьёзны.

В теле человека существует многофункциональная холинергическая нервная система, регулирующая работу скелетной и гладкой мускулатуры. Её обслуживает нейромедиатор - ацетилхолин, воздействующий на холинорецепторы. Эти рецепторы, в свою очередь, делятся на мускариновые и никотиновые. Препарат тропикомид содержит в своём составе М-холиноблокирующие (холинолитики) компоненты. Эти компоненты считаются серьёзными медикаментозными средствами, обращаться с которыми следует осторожно. В офтальмологии они используются для того, чтобы расслабить гладкую мускулатуру зрачка, позволив офтальмологу осмотреть глазное дно. Период действия вещества короткий - около 1-2 часов.

Однако, прочитав противопоказания, можно обнаружить, что последствием передозировки препарата может быть психомоторное возбуждение, сопровождаемое галлюцинациями. Другими словами, ИСС - изменённое состояние сознания, за которым и охотятся все наркоманы.

В советские времена наркоманов, лечившихся в психиатрических больницах, лечили с помощью холинолитиков, вместе с душевнобольными. Так препараты исчезали из больниц и попадали на чёрный рынок, особенно во времена перестройки и сопутствующего ей хаоса. Психиатры в своей практике довольно часто сталкиваются с холинолитическим психозом и одним из его проявлений - психомоторным возбуждением. Справиться с ним довольно тяжело.

Наркоманы вводят тропикамид внутривенно. Наиболее ограниченные наркоманы используют его в чистом виде. Остальные в разбавленном виде. Последствия тропикамида в чистом виде весьма плачевны - препарат отравляет почки, печень. Кроветворные органы и мозг, буквально за пару месяцев.

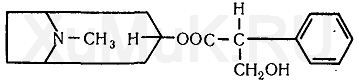
Возможными последствиями тропикамида могут быть аллергическая реакция, повышенное внутриглазное давление (боль в глазах), светобоязнь, доходящая до панического состояния. При длительном применении препарата появляются такие симптомы как головная боль, в наивысших своих точках переходящая в эпилептические припадки, тахикардия, которая сопровождается быстрым изнашиванием клапанов сердца, сухость во рту, недержание мочи, повышенное давление и многое другое.

Этот наркотик вызывает сильнейшее привыкание, а регулярные внутривенные инъекции влекут за собой губительные последствия в кратчайшие сроки. Тяга к препарату практически непреодолима, причём происходит на фоне отключения критической части сознания и крайнего психомоторного возбуждения. Наркоманы могут вкалывать дозу за дозой, не в силах остановиться пока не кончится препарат. У людей, употребляющих препарат в течение месяца, внешними последствиями тропикамида могут стать пожелтение кожи, худоба, вызванные падением уровня гемоглобина в крови до 32 г/л (при нормальном уровне в 150 г/л). Поражение ЦНС может вызвать эпилепсию и кому. Частой причиной смерти является сердечная аритмия, возникающая при введении тропикамида в чистом виде.

У наркоманов может возникать и множество других ужасных последствий, но пока не ясно, являются ли они последствием именно тропикамида или других наркотических средств. В частности, наблюдались отслоение тканей от скелета, гниение внутренних органов. Некоторые последствия не проходят даже после того как человек перестал принимать наркотические вещества [9,23].

1.2 Токсикологическая характеристика атропина

Структурная формула, химическое название: тропиновый эфир d,l- троповой кислоты. Синоним: атропина сульфат.



Атропин - алкалоид, содержащийся в растениях семейства пасленовых (Solanaceae): красавке (Atropa Belladonna L.), белене (Hyoscyamus niger L.), разных видах дурмана (Datura stramonium L.) и других растениях. В медицинской практике применяют атропина сульфат.

Атропина сульфат - белый кристаллический или зернистый порошок без запаха. Легко растворим в воде и этаноле, практически нерастворим в хлороформе и эфире.

Атропин-основание, полученный при кристаллизации из спирта или хлороформа, представляет собой бесцветные призматические кристаллы. Температура плавления 115-117°. Оптически не активен, в воде растворяется с трудом (в 600 частях холодной и 60 частях кипящей воды), растворим в 60 частях эфира, легко - в этиловом спирте, бензине, амиловом спирте и хлороформе. Хорошо растворяется в подкисленной воде. Водные растворы атропина-основания обладают щелочной реакцией на лакмус. Большинство солей атропина не кристаллизуется [3,19].

Фармакологическое действие - холинолитическое. Блокирует м-холинорецепторы. Вызывает мидриаз, паралич аккомодации, повышение внутриглазного давления, тахикардию, ксеростомию. Угнетает секрецию бронхиальных и желудочных, потовых желез. Расслабляет гладкую мускулатуру бронхов, желудочно-кишечного тракта, желче- и мочевыводящей систем - спазмолитический эффект. Возбуждает (большие дозы) центральную нервную систему. После внутривенного введения максимальный эффект проявляется через 2-4 мин, после перорального приема (в виде капель) через 30 мин. В крови на 18% связывается с белками плазмы. Проходит через гематоэнцефалический барьер. Выводится почками (50% - в неизмененном виде) [18].

Примененяется Атропин при язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, пилороспазме, холелитиазе, холецистите, остром панкреатите, гиперсаливации (паркинсонизм, отравление солями тяжелых металлов, при стоматологических вмешательствах), синдроме раздраженной толстой кишки, кишечной колике, желчной колике, почечной колике, симптоматическая брадикардия (синусовая, синоатриальная блокада, проксимальная AV блокада, электрическая активность желудочков без пульса, асистолия), для предоперационной премедикации; отравление м-холиностимуляторами и антихолинэстеразными лекарственными средствами (обратимого и необратимого действия), в том числе фосфорорганическими соединениями; при рентгенологических исследованиях ЖКТ (при необходимости уменьшения тонуса желудка и кишечника), бронхиальной астме, бронхите с гиперпродукцией слизи, бронхоспазме, ларингоспазме (профилактика).

В офтальмологии применяется для расширения зрачка и достижения паралича аккомодации (определение истинной рефракции глаза, исследование глазного дна), создания функционального покоя при воспалительных заболеваниях и травмах глаза (ирит, иридоциклит, хориоидит, кератит, тромбоэмболия и спазм центральной артерии сетчатки).

Противопоказаниями к применению атропина является гиперчувствительность, для офтальмологических форм - закрытоугольная глаукома (в том числе при подозрении на нее), открытоугольная глаукома, кератоконус, детский возраст (1% раствор - до 7 лет).

Ограничения к применению: заболевания сердечно-сосудистой системы, при которых увеличение ЧСС может быть нежелательно: мерцательная аритмия, тахикардия, хроническая сердечная недостаточность, ИБС, митральный стеноз, артериальная гипертензия, острое кровотечение; тиреотоксикоз (возможно усиление тахикардии); повышенная температура тела (возможно дальнейшее повышение вследствие подавления активности потовых желез); рефлюкс-эзофагит, грыжа пищеводного отверстия диафрагмы, сочетающаяся с рефлюкс-эзофагитом (снижение моторики пищевода и желудка и расслабление нижнего пищеводного сфинктера могут способствовать замедлению опорожнения желудка и усилению гастроэзофагеального рефлюкса через сфинктер с нарушенной функцией); заболевания ЖКТ, сопровождающиеся непроходимостью: ахалазия пищевода, стеноз привратника (возможно снижение моторики и тонуса, приводящее к непроходимости и задержке эвакуации содержимого желудка); атония кишечника у больных пожилого возраста или ослабленных больных (возможно развитие непроходимости), паралитическая непроходимость кишечника (возможно развитие непроходимости); заболевания с повышенным внутриглазным давлением: закрытоугольная (мидриатический эффект, приводящий к повышению внутриглазного давления, может вызывать острый приступ) и открытоугольная глаукома (мидриатический эффект может вызывать некоторое повышение внутриглазного давления; может потребоваться коррекция терапии); неспецифический язвенный колит (высокие дозы могут угнетать перистальтику кишечника, повышая вероятность паралитической непроходимости кишечника; кроме того, возможно проявление или обострение такого тяжелого осложнения, как токсический мегаколон); сухость во рту (длительное применение может вызывать дальнейшее усиление выраженности ксеростомии); печеночная недостаточность (снижение метаболизма) и почечная недостаточность (риск развития побочных эффектов вследствие снижения выведения); хронические заболевания легких, особенно у детей младшего возраста и ослабленных больных (уменьшение бронхиальной секреции может приводить к сгущению секрета и образованию пробок в бронхах); миастения (состояние может ухудшаться из-за ингибирования действия ацетилхолина); гипертрофия предстательной железы без обструкции мочевыводящих путей, задержка мочи или предрасположенность к ней или заболевания, сопровождающиеся обструкцией мочевыводящих путей (в т.ч. шейки мочевого пузыря вследствие гипертрофии предстательной железы); гестоз (возможно усиление артериальной гипертензии); повреждения мозга у детей, детский церебральный паралич, болезнь Дауна (реакция на антихолинергические ЛС увеличивается). Для офтальмологических форм (дополнительно) - возраст старше 40 лет (опасность проявления недиагностированной глаукомы), синехии радужной оболочки [16].

Побочные действия Атропина так же характеризуется несколькими типами реакций.

Системные реакции: со стороны нервной системы и органов чувств -головная боль, головокружение, бессонница, спутанность сознания, эйфория, галлюцинации, мидриаз, паралич аккомодации, нарушение тактильного восприятия. Со стороны сердечно-сосудистой системы и крови (кроветворение, гемостаз): синусовая тахикардия, усугубление ишемии миокарда из-за чрезмерной тахикардии, желудочковая тахикардия и фибрилляция желудочков. Со стороны органов ЖКТ: ксеростомия, запор.

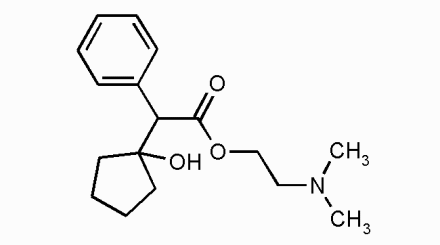
Прочие реакции: лихорадка, атония кишечника и мочевого пузыря, задержка мочеиспускания, фотофобия.

Местные реакции: преходящее покалывание и повышение внутриглазного давления; при длительном применении - раздражение, гиперемия кожи век; гиперемия и отек конъюнктивы, развитие конъюнктивита, мидриаз и паралич аккомодации.

Взаимодействие атропина с другими лекарственными средствами: ослабляет действие м-холиномиметиков и антихолинэстеразных средств. ЛС с антихолинергической активностью усиливают действие атропина. При одновременном приеме с антацидами, содержащими Al3+ или Ca2+, абсорбция атропина из ЖКТ уменьшается. Дифенгидрамин и прометазин усиливают действие атропина. Вероятность развития системных побочных эффектов повышают трициклические антидепрессанты, фенотиазины, амантадин, хинидин, антигистаминные и другие ЛС с м-холиноблокирующими свойствами. Нитраты увеличивают вероятность повышения внутриглазного давления. Атропин изменяет параметры абсорбции мексилетина и леводопы [3,6,25].

.3 Токсикологическая характеристика цикломеда

Структурная формула, химическое название: 2-(Диметиламино) этиловый эфир альфа-(1-гидроксициклопентил) бензолуксусной кислоты. Синоним: циклоптик.



Глазные капли Цикломед выпускаются во флаконах по 5 мл, один флакон в картонной упаковке. Отпуск в аптеках: по рецепту врача.

Основное действующее вещество препарата - циклопентолат является м-холиноблокатором, блокирует соответсвующие рецепторы тканей глаза. Данное вещество приводит в тонус мышцу, которая расширяет зрачок, и одновременно расслабляет мышцу, которая его сужает. Капли хорошо всасываются через наружную оболочку глаза (конъюнктиву). Расслабление цилиарной мышцы глаза, которое достигается при применении Цикломеда, создает паралич аккомодации - глаз на время утрачивает способность к адаптации зрения на различных расстояниях. Звучит страшновато, но опасаться не стоит: этот паралич играет важную лечебную и диагностическую роль, способствует восстановлению функций глаза при некоторых заболеваниях, а также помогает врачу отличить истинную близорукость от спазма аккомодации, при котором зрение нарушается из-за перенапряжения глаз.

Глазные капли Цикломед назначаются с целью расширения зрачка (мидриаза) при диагностике и лечении глазных заболеваний, в частности, при терапии воспалительных болезней глаз - кератита, увеита, иридоциклита и других заболеваний переднего отдела глаза, а также перед операционными вмешательствами. Расширение зрачка необходимо и при определении истинной рефракции (преломляющей силы) глаза. Мидриаз искусственно создают перед проведением исследования глазного дна, или офтальмоскопии.

Использование Цикломеда противопоказано при:

• глаукоме или подозрении на нее;

• парезах сфинктера зрачка, возникших после травмы;

• повышенной чувствительности к компонентам препарата.

С осторожностью глазные капли Цикломед используют для лечения детей младше трехлетнего возраста и пожилых людей, а также при кишечной непроходимости и гиперплазии предстательной железы. Применение этих капель у беременных или кормящих женщин возможно, когда ожидаемый лечебный эффект превосходит возможные побочные действия.

При применении капель для глаз Цикломед возможно развитие побочных эффектов: снижение остроты зрения на некоторое время, повышение внутриглазного давления, а сразу после закапывания - покраснение наружной оболочки глаза, ощущение дискомфорта. В редких случаях, в основном, у детей или пожилых людей, развиваются слабость, тошнота, головокружение, изменяется ритм сердца.

При приеме глазных капель Цикломед внутрь или превышении доз при закапывании препарата в глаза могут наблюдаться симптомы передозировки - сухость кожных покровов и слизистых оболочек, возбуждение нервной системы, учащение частоты сердечных сокращений, нарушение ориентации в пространстве, при применении препарата в очень высоких дозах - паралич дыхания и кома. В этих случаях внутривенно вводят специфический антидот препарата - физостигмин.

Эффект Цикломеда могут усиливать симпатомиметики (мезатон), ослаблять - м-холиномиметики (пилокарпин).

Препараты с м-холиноблокирующими свойствами при одновременном применении могут усиливать побочные эффекты Цикломеда [6,14,24].

Цикломед широко распространен с целью наркотизации у школьников и наркоманов.

Поскольку препарат оказывает действие на нервную систему, применение его должно быть строго регламентированным и с соблюдением дозировок. Однако зачастую закапывают капли «Цикломед» в нос. Это обусловлено схожестью форм выпуска этих капель и препаратов, применяемых при насморке. Зачастую медикамент «Цикломед» в нос закапывают умышленно с целью достижения наркотического эффекта. При таком пути поступления препарата достигается более выраженное действие на центральную нервную систему.

После закапывания капель «Цикломед» в нос последствия могут оказаться самыми плачевными. При использовании средства таким образом значительно превышается доза препарата. Иногда однократно применяется целая упаковка. Это притом, что по показаниям необходимо закапывать по 1 капле и лишь 3 раза в сутки.

В результате проявляется несколько иное действие препарата. Учащается сердцебиение, нарушается способность к фокусировке. Иногда могут отмечаться галлюцинации. Появляется сухость во рту, что провоцирует неукротимую жажду. Кожа и слизистые оболочки становятся сухими. Возможны осложнения со стороны желудочно-кишечного тракта. При употреблении высоких доз происходит помутнение сознания, действия и речь становятся несвязными. Если препарат закапать в нос в дозе, значительно превышающей терапевтическую, то возможно угнетение дыхательного центра и смерть организма.

Отравление, которое развивается после закапывания капель «Цикломед» в нос, нужно незамедлительно устранить ввиду опасности состояния. Необходимо ввести препарат «Физостигмин». Это антагонист активного вещества средства «Цикломед». Назначается доза в 2 мг. Если через 20 минут отсутствует должный терапевтический эффект, то возможно введение еще до 2 мг.

После купирования отравления препаратом длительное время еще могут проявляться расстройства зрения, тошнота и рвота, головокружение, тревожность. Следует помнить о том, что применение препарата «Цикломед» не по назначению чревато серьезными осложнениями. Лица, находящиеся под воздействием средства, могут совершать противоправные действия. Возможны изменения личности. Постепенно к препарату формируется толерантность, и для достижения эффекта повышается принимаемая доза, что увеличивает риск летального исхода от передозировки [21,22].

ГЛАВА 2. ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВЕЩЕСТВ

2.1 Общая характеристика метода ТСХ

В методе тонкослойной хроматографии хроматографирование веществ происходит в тонком слое сорбента, нанесенного на твердую плоскую подложку. Разделение в этом методе в основном происходит на основе сорбции-десорбции. Использование различных сорбентов, позволило значительно расширить и улучшить этот метод. Для анализа препаратов из группы блокаторов кальциевых каналов преимущественно используется восходящая тонкослойная хроматография. Этот вид хроматографии основан на том, что фронт хроматографической системы поднимается по пластинке под действием капиллярных сил, т.е. фронт хроматографической системы движется снизу-вверх. Для этого метода используется наиболее простое оборудование, так как в качестве хроматографической камеры можно использовать любую емкость с плоским дном и плотно закрывающейся крышкой, в которую свободно помещается хроматографическая пластинка [5,12].

Хроматография в тонком слое является простым и быстрым методом разделения, использующим недорогое, портативное оборудование и поэтому особенно привлекательным для большинства специальных экспертных лабораторий. В тонкослойной хроматографии используют стеклянные, металлические или пластмассовые пластинки (подложки), покрытые тонким слоем неподвижной фазы, обычно толщиной 100-300 мкм. Поскольку частицы адсорбента имеют очень маленькие размеры, а скорости потока низки, то полученные на подложке пятна (следы локализации анализируемого продукта), содержащие индивидуальный компонент, четко очерчены; это особенно важно при проведении прямого количественного анализа вещества. Образцы, как правило, 2-10 мкл наносят с помощью микрошприца или микрокапилляра в виде 0,1-1%-ных растворов в неполярном летучем растворителе (гексан, диэтиловый эфир, спирт этиловый, а также смесь других подобранных растворителей) на слой адсорбента вблизи основания пластинки, примерно, на 10-15 мм от нижнего среза. Пластинку помещают в закрытую стеклянную камеру соответствующего объема, содержащую некоторое количество определенным образом подготовленной жидкой подвижной фазы, которая перемещается вверх по слою сорбента под действием капиллярных сил. При этом компоненты образца перемещаются через слой с различными скоростями, зависящими от адсорбционных коэффициентов компонентов смеси. Проявление заканчивается удалением пластинки из камеры с последующим испарением на воздухе подвижной фазы из сорбента. Положение разделенных веществ, если они не окрашены, обычно определяют, рассматривая хроматограмму в ультрафиолетовом свете (возбуждение люминесценции) или опрыскивая ее специфическими окрашивающими реагентами, образующими при взаимодействии с бесцветным веществом окрашенное соединение. Положение пятна разделенного вещества описывается посредством измерения значения Rf. Совпадение значений Rf может служить лишь качественной характеристикой исследуемых веществ. Количественный анализ в методе тонкослойной хроматографии выполняется посредством совместного хроматографирования стандартных растворов исследуемых компонентов с изучаемым образцом. Количество изучаемого компонента в пятне напрямую связывается с площадью и интенсивностью выявленного пятна; стандарты и образцы можно сравнивать визуально или измерять с помощью, например, методов спектрофотометрии, денситометрии и т. д. [10].

2.2 Химико-токсикологическое исследование тропикамида

Для идентификации тропикамида использовали тонкослойную хроматографию (ТСХ), спектрофотометрию (СФМ), высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ), газо-жидкостную хроматографию с масс-селективным детектором (ГЖХ-МС).

ТСХ исследование: На хроматографическую пластинку тропикамид наносили в виде основания и помещали в камеру, предварительно насыщенную парами растворителей. Проявитель - реактив Драгендорфа. В эксперименте использовали следующие системы:

Ацетон - 25% аммиак (9:1); ацетон - хлороформ (9:1); ацетон - гексан - диэтиламин (10:10:1); хлороформ - ацетон - 25% аммиак (15:15:1); диэтиловый эфир - ацетон - 25% аммиак (10:1:0,1); бензол -96% этанол - диэтиламин (9:1:1); хлороформ - 96% этанол - 25% аммиак (80:20:4); ацетон (100%) без насыщения; этилацетат-метанол- 25% аммиак (85:10:5).

Полученные результаты хроматографического исследования тропикамида представлены в табл. 1.

Таблица 1 Значения показателей Rf тропикамида в различных хроматографических

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Опыт | Хроматографические системы | | | | | | | | |
|  | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| 1 | 0,79 | 0,48 | 0,62 | 0,55 | 0,00 | 0,69 | 0,81 | 0,70 | 0,74 |
| 2 | 0,8 | 0,48 | 0,59 | 0,56 | 0,22 | 0,63 | 0,84 | 0,70 | 0,74 |
| 3 | 0,8 | 0,48 | 0,58 | 0,57 | 0,20 | 0,70 | 0,88 | 0,70 | 0,74 |
| X±ΔХ | 0,79± 0,01 | 0,48±0 | 0,59± 0,05 | 0,56± 0,02 | 0,20± 0,03 | 0,67± 0,09 | 0,84± 0,08 | 0,70± 0 | 0,74± 0 |
| Sх | 0,003 | 0 | 0,01 | 0,006 | 0,009 | 0,021 | 0,02 | 0 | 0 |
| Е | 1,79 | 0 | 8,66 | 4,43 | 18,65 | 13,96 | 10,34 | 0 | 0 |

Как видно из таблицы оптимальными системами для тропикамида являются смеси растворителей 2-4, так как значение Rf составило 0,48; 0,59; 0,56 соответственно. В случае комбинированных отравлений тропикамидом с алкалоидами опия для разделения веществ целесообразно использовать системы 6 и 9 (табл. 2) [4].

Таблица 2 Значения показателей Rf тропикамида и алкалоидов опия в частных хроматографических системах

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| № | Система растворителей | Значение Rf | | |
|  |  | тропикамид | морфин | кодеин |
| 1 | Этилацетат - метанол - 25% раствор аммиака (17:2:1) | 0,740±0 | 0,33±0,011 | 0,47±0,012 |
| 2 | Бензол-этанол-диэтиламин (9:1:1) | 0,67±0,009 | 0,39±0,022 | 0,53±0,021 |

СФМ исследование: Для исследования использовали спиртовые растворы тропикамида с концентрацией действующего вещества 10 мкг/мл. СФМ исследование проводили на спектрофотометре «Varian - Carry» в автоматическом режиме в диапазоне от 200 до 400 нм. Спектральные характеристики снимали в нейтральной, кислой и щелочной средах, добавляя к спиртовому раствору тропикамида 6н. соляной кислоты или 10% спиртового раствора гидроксида натрия.

Тропикамид имеет максимумы поглощения при длинах волн 210 нм, 255-258 нм. В спектрах поглощения тропикамида в нейтральной, кислой и щелочной средах наблюдали незначительные изменения: сдвиг в длинноволновую область (212, 258 нм) - в щелочной среде и незначительный гипсохромный сдвиг в кислой среде - 204, 254 нм. Удельный показатель поглощения тропикамида в 0,1н. соляной кислоте Е 1% в 1 см=180.

Определение тропикамида методом ГЖХ проводили с использованием газового хроматографа «Angilent Technologies 6890N Network GC System» с масс-селективным детектором модели «5973» в режиме ионизации электронным ударом (70 эВ), c автоматическим жидкостным дозатором модели «7683 В Series», при следующих условиях: колонка - кварцевая капиллярная «НР-5MS (30м х 0,252 мм», (толщина пленки фазы - 0,25 мкм); температура инжектора - 280°C; температура интерфейса детектора - 310°С; температура термостата колонки от 100°С до 280°С; увеличение температуры со скоростью 10 град/мин; газ-носитель - гелий; объем вводимой пробы - 1 мкл; деление потока 1:40.

Для полученных хроматограмм рассчитывали индексы удерживания компонентов анализируемых веществ и регистрировали их масс-спектры. Регистрацию масс-спектров компонентов хроматограмм проводили в режиме по полному ионному току. Полученные масс-спектры сравнивали с библиотечными масс-спектрами. Анализировали идентифицированные пики веществ с процентом вероятности не менее 80%. Как видно из представленной хроматограммы, тропикамид имеет время удерживания 11,7 мин. Основные характеристические ионы тропикамида - 92, 254,65,163, 121m/z (рис. 1 и 2) [13].



Рис. 1. Идентификация тропикамида методом ГЖХ с МС детектором



Рис. 2. Масс-спектр тропикамида при исследовании методом ГЖХ - МС

ВЭЖХ исследование: Раствор тропикамида с концентрацией 100 мкг\мл исследовали на жидкостном хроматографе марки «Миллхром - А-02» на колонке размером 2х75 мм, с обращенной фазой «Prontosil 120-5-С18), зернением 5 мкм. Детектирование проводили при 200, 220, 250, 300 нм. В качестве подвижной фазы использовали: элюент «А» - раствор кислоты трифторуксусной (ТФУ) 0,1%, элюент «Б» - ацетонитрил 100%. Градиент от 5 до 50% при скорости потока 150 мкл/мин и температуре колонки 35 °С. В этих условиях тропикамид выходит из колонки через 7,2 минут, о чем свидетельствует пик на хроматограмме и характерный для данного вещества спектр (рис. 3).

Количественное определение тропикамида проводилось методом ВЭЖХ по калибровочному графику, построенному с использованием спиртовых растворов тропикамида концентраций 50, 100, 200 мкг/мл.



Рис. 3. Определение тропикамида методом ВЭЖХ (хроматограмма)

Влияние рН среды на степень извлечения тропикамида органическими растворителями. Для изучения влияния рН среды на степень извлечения тропикамида использовали буферные растворы со значением рН от 2 до 11,2. Буферные растворы готовили из универсальной буферной смеси, содержащей кислоту борную - 2,47г, кислоту о-фосфорную - 2,4 мл, кислоту уксусную - 2,27мл в 1 литре воды очищенной. Для получения буфера с определенным значением рН к 100 мл этой смеси добавляли различный объем раствора 0,2н гидроксида натрия. В результате проведенных экспериментов сделали вывод, что максимальное извлечение тропикамида достигается при рН водной фазы 7,9, что теоретически вполне обосновано (рКа-5,2) .

Выбор экстрагента: Для проведения исследования по выбору оптимального экстрагента использовали диэтиловый эфир, н-гексан и хлороформ (табл.3).

Таблица 3 Зависимость выхода тропикамида от характера экстрагента

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Экстранент | Оптическая плотность | | | | | |
|  | Х1 | Х2 | Х3 | X±ΔХ | SX | E |
| Диэтиловый эфир | 0,448 | 0,442 | 0,446 | 0,445±0,007 | 0,002 | 1,7 |
| Хлороформ | 0,589 | 0,606 | 0,603 | 0,602±0,010 | 0,002 | 1,67 |
| Гексан | 0,016 | 0,022 | 0,015 | 0,018±0,009 | 0,002 | 53,2 |

Из таблицы следует, что лучшим органическим растворителем для извлечения тропикамида методом жидкость-жидкостной экстракции является хлороформ. Удовлетворительные результаты были получены и при использовании диэтилового эфира. Использование гексана нецелесообразно, ввиду его низкой экстракционной способности.

Изолирование: На модельном эксперименте сделан выбор оптимального метода изолирования тропикамида из биологического материала. Отравления тропикамидом зачастую происходят в сочетании с другими веществами (в том числе с алкалоидами опия), поэтому мы использовали методы изолирования, наиболее часто применяемые в судебно-химической практике. Выход тропикамида при изолировании подкисленной водой в среднем составил 26,4%, изолирование нейтральным ацетоном до 60% и методом кислотного гидролиза, применяемого для изолирования алкалоидов опия, лишь 18%. Однако, этот метод дает возможность использования его в случае комбинированных отравлений с алкалоидами опия.

Оптимальным элюентом при ТСХ для тропикамида является 0,1 н. раствор соляной кислоты и спирт этиловый 96%. Использование этих растворителей позволяет элюировать тропикамид до 69,8 и 86,8% соответственно.

Разработанный нами химико-токсикологический метод был апробирован на лабораторных животных. Белым крысам вводили по 5мл 1% раствора тропикамида внутрибрюшинно. У животных брали на анализ органы: стенку желудка, печень и почки, мочу. У первой крысы органы исследовали спустя 2 часа после инъекции, а у второй - спустя сутки.

Изолирование тропикамида и его метаболитов из тканей внутренних органов проводили ацетоновым методом по В.А. Карташову. Выделение тропикамида из мочи производили методом жидкость-жидкостной экстракции при рН=8 и методом кислотного гидролиза по методике для определения опиатов [11]. При исследовании извлечений методом ТСХ тропикамид был обнаружен во всех внутренних органах крыс, кроме почек второго животного, и моче. Возможные метаболиты были обнаружены только в стенке желудка второго животного и в моче после кислотного гидролиза. Исследование методом ВЭЖХ подтвердило наличие тропикамида в органах лабораторных животных (кроме почки крысы №2). Результаты ВЭЖХ исследования представлены на рис. 4.



Рис. 4 Исследование тропикамида методом ВЭЖХ (стенка желудка первой крысы)

Количественное содержание тропикамида в различных органах устанавливали методом ВЭЖХ по методике, описанной ранее. Результаты представлены в табл. 4.

Таблица 4 Содержание тропикамида в органах лабораторных животных

|  |  |
| --- | --- |
| Орган | Содержание тропикамида, мг% |
| Стенка желудка крысы №1 | 94,3 |
| Стенка желудка крысы №2 | 3,3 |
| Печень крысы №1 | 16,9 |
| Печень крысы №2 | 0,73 |
| Почка крысы №1 | 21,9 |
| Почка крысы №2 | - |

Проведенные эксперименты с лабораторными животными подтверждают эффективность предложенной нами схемы химико-токсикологического анализа, и эти данные могут быть использованы в практике химических отделений бюро СМЭ.

ГЛАВА 3. Результаты анализа лекарственных веществ методом ТСХ

Для анализа методом ТСХ использовались препараты:

· Тропикамид

· Атропин

· Цикломед

Основной целью данного анализа являлся подбор лучшей системы для выполнения дальнейшего разделения препаратов методом ВЭЖХ. Анализ проводился на пластинках Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ (10х10; с УФ индикатором).

В качестве пробных систем были выбраны:

1. Эфир

2. Диоксан

. Пропанол -2

. Ацетон/Гексан (7:3)

. Ацетон/Гексан (7:4)

. Пропанол - 2/Диоксан (6:4)

. Пропанол -2/Диоксан (7:3)

. Пропанол -2/Диоксан (8:2)

. Пропанол - 2/Гексан (5:5)

. Пропанол - 2/Гексан (8:2)

. Пропанол - 2/Гексан (9:1)

. Пропанол - 2/Гексан (9,5:0,5)

. Диоксан/Гексан (5:5)

. Диоксан/Гексан (6:4)

. Диоксан/Гексан (6:5)

. Диоксан/Гексан (7:3)

. Диоксан/Гексан (8:2)

. Гексан/Диоксан/ Пропанол - 2 (5:5:1)

. Гексан/Диоксан/ Пропанол - 2 (5:5:2)

. Гексан/Диоксан/ Пропанол - 2 (7,5:5:1)

. Гексан/Диоксан/ Пропанол - 2 (10:5:1)

. Гексан/Диоксан/ Пропанол - 2 (12,5:5:1)

. Гексан/Хлороформ/Пропанол - 2(5:5:1)

. Гексан/Хлороформ/Пропанол - 2(6:5:1)

. Гексан/Хлороформ/Пропанол - 2(7,5:5:1)

. Гексан/Хлороформ/Пропанол - 2(10:5:1)

. Гексан/Диоксан/4-х хлористый углерод (1:1:1)

. Гексан/Диоксан/4-х хлористый углерод (1:2:1)

. Гексан/Диоксан/4-х хлористый углерод (1:2:2)

Методика:

1. Подготовка пластинок. Обозначение линии старта, линии финиша;

2. Нанесение образцов на линию старта ручным способом: на пластинке карандашом отмечали точки, лежащие на отрезке, параллельном нижнему краю пластинки, и отстоящем от него на такое расстояние, чтобы точки не погружались в элюент (15 мм). Число точек было равно числу анализируемых образцов. Затем на отмеченные точки при помощи микрокапилляров наносили раствор анализируемых образцов, объём которых обычно был ограничен 5 мкл (объёмы растворов наносили несколькими касаниями, высушивая между ними пластинку от растворителя). На пластинку вещества наносились в следующем порядке: Атропин, Цикломед, Тропикамид.

. Элюирование (использовалась восходящая тонкослойная хроматография): после нанесения растворов исследуемых веществ пластинку помещали в хроматографическую камеру, в которой на дне налит слой элюента. Камеру герметизировали для избежания испарения летучего элюента с поверхности пластинки в процессе хроматографирования. После того, как линия фронта достигала достаточной для анализа высоты, пластинку извлекали и высушивали.

. Детекция: вещество поглощает в ультрафиолетовой области, поэтому детекцию осуществляли на пластинке с флуоресцентным индикатором под ультрафиолетовым излучением.

. Оценка результатов: осуществляли выбор наиболее удачных систем, дающих возможность в последующем использовать их в методе ВЭЖХ для разделения веществ (приложение 1). Результаты были занесены в протокол.

Таким образом, в ходе данной исследовательской работы, были отобраны следующие системы:

1. Эфир

2. Пропанол-2

. Пропанол-2/Диоксан (6:4)

. Пропанол-2/Диоксан (8:2)

. Пропанол-2/Гексан (9,5:0,5)

. Диоксан/Гексан (5:5)

. Гексан/Диоксан/Пропанол-2 (10:5:1)

. Гексан/Диоксан/Пропанол-2 (12,5:5:1)

. Гексан/Хлороформ/Пропанол-2 (6:5:1)

. Гексан/Хлороформ/Пропанол-2 (7,5:5:1)

. Гексан/Хлороформ/Пропанол-2 (10:5:1)

. Гексан/Диоксан/4-х хлористый углерод (1:1:1)

. Гексан/Диоксан/4-х хлористый углерод (1:2:1)

токсикологический атропин лекарственный тропикамид

Заключение

В ходе данной работы были рассмотрены основные характеристики препаратов, которые чаще всего используются для наркотизации, токсичность, механизм действия, а также были изучены современные методы анализа препаратов. Также была дана характеристика тонкослойной хроматографии, как методу анализа препаратов данной группы; была описана методика проведения анализа методом ТСХ и проанализированы полученные результаты.

В результате исследовательской работы были выбраны наиболее оптимальный системы для ВЭЖХ.

В наше время часто используются лекарственные средства с целью наркотизации, так как данный вид «наркотиков» относительно дешев и доступен. Так как последствия данного сомнительного удовольствия проявляются все чаще, необходимо разрабатывать новые методики обнаружения веществ.

Список литературы

1. Аляутдин Р.Н. и др. /Фармакология / - М.: Издательство: ГЭОТАР-Медиа, 2007. - 592с.

. Ананченко В. Г. Внутренние болезни: руководство к практическим занятиям по госпитальной терапии: учеб. пособие / В. Г. Ананченко Ананченко В. Г., под ред. профессора Л. И. Дворецкого. // М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. - 456 с.

. Вергейчик, Т.Х. Токсикологическая химия / под ред. E.H. Вергейчика. М. : МЕДпресс-информ, 2009. - 400 с. : ил.

. Веселовская, Н.В. Анализ опиатов в моче: руководство для химико-токсикологических и судебно-химических лабораторий / Н.В. Веселовская, Б.Н. Изотов. М. : ММА им. И.М.Сеченова, 2000. - 120 с.

. Гейсс, Ф. Основы тонкослойной хроматографии (планарная хроматография) = Fundamentals of thin layer chromatography (planar chromatography) / пер. с англ. M.A. Кошевник, Б.П. Лапин. -М. : Мир, 1988. -1025 с.

. Государственная фармакопея Российской Федерации XII: официальное издание. Ч. 1. М. : Издательство «Научный центр экспертизы средств медицинского применения», 2008. - 704 с. : ил.

. Государственный реестр лекарственных средств : официальное издание. В 2 т. Т. 2 : Типовые клинико-фармакологические статьи / под ред. Н.В. Юргеля и др. М., 2008. - 1028 с.

. Граник, В.Г. Лекарства. Фармакологический, биохимический и химический аспекты. М. : Вузовская книга, 2001. - 408 с.

. Данилин, А.Г. LSD. Галлюциногены, психоделия и феномен зависимости. -М. : Центрполиграф, 2001. 521 с.

. Дегтерев, E.B. Применение ТСХ в анализе наркотических и сильнодействующих веществ / Е.В. Дегтерев, A.B. Гаевский, Е.А. Зенкова // Химико-фармацевтический журнал. 1998. - №8. - С. 48-54.

. Карташов В.А., Кнауб В.А., Чернова Л.В. /Извлечение азотсодержащих органических оснований из ткани печени / ж. Судеб.-мед. экспертиза, -1988. - №4. -С. 31-33.

. Кирхнер, Ю. Тонкослойная хроматография. М. : Мир, 1981.616 с.

. Лаврентьева, A.B. Определение тропикамида в крови методом газовой хроматографии с масс-селективным детектором / A.B. Лаврентьева

. Лекарственные препараты в России. Справочник Видаля 2011/ Е.А. Лицарева, Е.А. Толмачева/ изд. - АстраФармСервис.-2011.-1728с.

. Личко, А.Е. Подростковая наркология: руководство для врачей / А.Е. Личко, B.C. Битенский. Л. : Медицина, 1991. - 304 с.

. Машковский, М.Д. Лекарства XX века. М. : Новая Волна, 1998.320 с.

. Наркомания у подростков / B.C. Битенский, Б.Г. Херсонский, C.B. Дворяк, В.А. Глушков. К. : Здоровья, 1989. - 216 с.

. Харкевич Д. А. Фармакология: учебник - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2008.- 752 с.

. Швайкова М.Д., /Токсикологическая химия / - М. - 1975. - 376с.

20. <http://journal.forens-lit.ru>

21. <http://alldrugs.org>

22. <http://fb.ru>

23. <http://www.megamedportal.ru>

24. <http://www.rlsnet.ru>

25. <http://toxikachem.ru>

Приложение 1

Рис.5. Эфир

Рис.6. Диоксан



Рис.7. Пропанол - 2



Рис.8. Ацетон/Гексан (7:3)

Рис.9. Ацетон/Гексан (7:4)



Рис.10. Пропанол/Диоксан (6:4)

Рис.11. Пропанол/Диоксан (8:2)



Рис.12. Пропанол-2/Гексан (5:5)

Рис.13. Пропанол-2/Гексан(9,5:0,5)



Рис.14.Диоксан/Гексан (5:5)

Рис.15.Гексан/Диоксан/Пропанол-2(10:5:1)



Рис.16. Гексан/Диоксан/Пропанол-2(12,5:5:1)

Рис.17. Гексан/Хлороформ/Пропанол-2(6:5:1)



Рис.18. Гексан/Хлороформ/Пропанол-2(7,5:5:1)

Рис.19. Гексан/Хлороформ/Пропанол-2(10:5:1)



Рис.20.Гексан/Диоксан/4-х хлористый углерод(1:1:1)

Рис.21. Гексан/Диоксан/4-х хлористый углерод(1:2:1)

