**Диазепам** (седуксен, эридан, руланиум) – представляет собой белый или белый с желтоватым оттенком кристаллический порошок, не растворим в воде, трудно растворим в этиловом спирте, растворяется в хлороформе. Этот препарат экстрагируется органическими растворителями, как из кислой, так и из щелочной среды.

***Действие на организм:*** По действию на организм диазепам относится к транквилизаторам. Он способствует нормализации сна, применяется для лечения невротических состояний, уменьшает чувство страха и т.д. В комбинации с другими препаратами применяется для лечения эпилепсии и т.д.

***Метаболизм:*** Быстро всасывается в пищевом канале. Он подвергается метаболизму, который происходит в нескольких направлениях: образуются продукты N-деметилирования и гидроксилирования диазепама. Продукт N-деметилирования затем превращается в оксизепам, который выделяется с мочой в виде глюкуронида. Также в виде глюкуронида выделяется с мочой продукт гидроксилирования диазепама.

***Выделение диазепама из крови и мочи:*** К 10мл мочи или 5мл крови прибавляют равный объём фосфатного буферного раствора (рН = 7.0). Полученную жидкость 2 раза по 5 мин взбалтывают с новыми порциями диэтилового эфира. Объём эфира должен быть равным объёму водной фазы. Соединенные водные вытяжки дважды взбалтывают с 0,1н раствором гидроксида натрия (по 2мл), а затем с 2мл воды. После отделения водной фазы эфирную вытяжку взбалтывают с 3мл 2н раствора соляной кислоты в течении 10мин, а затем от эфирного слоя отделяют солянокислую вытяжку. Оптическую плотность этой вытяжки измеряют в диапазоне длин волн от 200 – 300 нм.

Параллельно измеряют оптическую плотность диазепама, обработанного выше указанным способом. Наличие максимумов поглощения при 242 и 287 нм указывает на наличие диазепама в крови или моче.

**Обнаружение диазепама. *Реакция с нигидрином:*** К 2-3мл раствора диазепама в этиловом спирте прибавляют около 10мг нингидрина и 2мин. нагревают на водяной бане. После прибавления 5мл этилового спирта раствор приобретает синюю окраску, которая от прибавления 2 кап 1% раствора сульфата меди (II) переходит в красную или в оранжево-красную. В указанных выше условиях нитрозепам даёт жёлто-коричневую окраску, а хлордиазепоксид – коричневую окраску.

***Методом хроматографии в тонком слое сорбента:*** Для обнаружения диазепама и других производных бензодиазепина с помощью этого метода применяют пластинки, покрытые тонким слоем силикогеля КСК. В качестве системы растворителей применяют смесь этилсалицилата, 25% раствора аммиака и метилового спирта (26:1,6:3,3) или смесь хлороформа и ацетона (9:1). Пятна на пластинках проявляют с помощью реактива Драгендорфа.

***Обнаружение по УФ- и ИК-спектрам:*** Диазепам в 2н растворе соляной кислоты имеет максимумы поглощения при 242 и 287нм, в 0,1н растворе серной кислоты имеет максимумы поглощения при 241,284 и 359нм; в ИК-области спектра диазепам (диск с бромидом калия) имеет основные пики при 1681, 1484 и 1313 мм.

**Нитразепам** (раденорм, эуноктин, могадон, неозепам) – светло-жёлтый или с зелёным оттенком кристаллический порошок. Практически нерастворим в этиловом спирте и хлороформе. Нитразепам экстрагируется органическими растворителями из щелочных водных растворов.

***Действие на организм:*** Нитразепам, как и другие производные бензодиазепина, оказывает транквилизирующее, мышечно-расслабляющее, снотворное и т.д. Он усиливает снотворное действие других снотворных средств и анальгетиков. Применяется при нарушении сна, неврозах, психопатиях, шизофрении, эпилепсии.

***Метаболизм:*** Метаболитами нитразепама являются 7-аминометаболит, 7-ацетиламино-метаболит. В течении 48ч из организма выделяется около 23% принятой дозы нитразепама. Вне метаболита и около 10% - в виде 7-ацетиламино-метаболита. Часть неизменного нитразепама может быть обнаружена в кале.

***Выделение из биологического материала:*** Биоматериал трижды настаивают с новыми порциями насыщенного водного раствора щавелевой кислоты (рН=1). Через час после каждого настаивания вытяжки отделяют от биологического материала центрифугированием. Объединённый кислый центрифугат трижды взбалтывают со смесью (1:1) хлороформа и этилсалицелата. Затем кислый центрифугат подщелачивают до рН=10 и трижды взбалтывают с новыми порциями смеси хлороформа и этилсалицелата (1:1). Полученные при этом вытяжки подвергают исследованиюна наличие нитразепама.

***Предварительные пробы на наличие нитразепама в моче:*** Нитразепам можно обнаружить в моче в неизменном виде и в виде 7-амино- и 7-ацетиламино-производных, являющихся метаболитами этого препарата, как указанно ниже.

**Обнаружение нитразепама в неизмененном виде в моче.** 5 мл мочи подщелачивают аммиаком до рН = 10 и прибавляют 250 г дитионита натрия (Na2S2O4). Смесь взбалтывают в течение 10 мин, затем нагревают при 50 °С в течение часа и охлаждают. Охлажденную жидкость 10 мин взбалтывают с 10 мл смеси, со­стоящей из равных объемов метиленхлорида и этилацетата. Пос­ле этого от водной фазы отделяют слой смеси органических растворителей. Слой взбалтывают с 10 мл 5 %-го раствора буры. Водную фазу отделяют от фазы органических растворителей. К фазе органических растворителей прибавляют 5 мл 0,2 н. ра­створа соляной кислоты и взбалтывают. После этого отделяют фазу органических растворителей. 4 мл кислой водной фазы охлаждают в ледяной воде и прибавляют 0,2 мл 0,4 н. раствора нитрита натрия. Через 5 мин к кислому раствору прибавляют 0,2 мл 2%-го раствора сульфамината аммония. Жидкость хорошо перемешивают и оставляют на 5 мин, а затем прибавляют 0,2 мл 0,4 %-го раствора N-1-нафтилэтилендиамина дигидрохлорида. При наличии нитразепама в моче появляется вишнево-красная окраска (λ = 555 нм).

**Выделение метаболитов нитразепама из мочи**. Выделение этих соединений из мочи проводят так же, как и при обнаружении нитразепама, находящегося в моче в неизмененном виде. Однако при исследовании метаболитов в процессе их выделения из мочи к ней не прибавляют дитионит натрия. Выделенные из мочи0 метаболиты нитразепама обнаруживают методом хроматографии.

**Обнаружение нитразепама и его метаболитов методом хрома­тографии.** Исследуемый раствор наносят на хроматографическую пластинку, покрытую тонким закрепленным слоем силикагеля, или на пластинку «силуфол». Для развития хроматограммы на пластинке применяют систему растворителей, являющуюся смесью этилацетата, метилового спирта и 25 %-го аммиака (85: 10:5). Пятна нитразепама и его метаболитов на пластин­ках проявляются реактивом Драгендорфа.

***Приготовление хроматографических пластинок*** (см. Прило­жение 2, способ 10).

**Обнаружение нитразепама по УФ- и ИК-спектрам.** Раствор нитразепама в этиловом спирте имеет максимумы поглощения при 218 и 260 нм, в 0,1 и. растворе серной кислоты имеет макси­мум поглощения при 277 нм и изгиб около 340 нм; нитразепам в ИК-области спектра (диск с бромидом калия) имеет основные пики при 1692, 1615, 1352 и 702 см.

**ОКСАЗЕПАМ**

Оксазепам (тазепам, адумбран, нозепам, пракситен, серакс, серенал и др.) является производным 1,4-бензодиазепина. Он представляет собой кристаллический порошок, почти не растворимый в воде, растворимый в этиловом спирте и хлороформе. Этот препарат экстрагируется органическими растворителями, из щелочных водных растворов.

**Применение. Действие на организм.** По фармакологическим свойствам оксазепам близкий к хлордиазепоксиду и диазепаму. Он менее токсичен, чем диазепам, обладает слабым противосудорожным действием и менее выраженным, чем диазепам, миорелаксантным эффектом. Применяется в медицине при неврозах, депрессивных состояниях, при бессоннице на почве нервного растройства.

**Метаболизм.** Оксазепам является одним из метаболитов диазепама. После приема оксазепама максимальный уровень его в плазме достигается через 4 ч, а через 48 ч он исчезает из плаз­мы. Оксазепам находится в плазме в виде глюкуронида. В виде глюкуронида он выделяется с мочой, а с калом он выделяется в неизмененном виде.

**Выделение оксазепама из биологического материала (по Л. Ф. Фартушному).** К 25 г исследуемого объекта (желудок и тонкая кишка с содержимым, печень, почки) при­бавляют 3 мл насыщенного водного раствора гидрофосфата натрия и эту смесь подвергают гомогенизированию. Гомогенат переносят в колбу с притертой пробкой вместимостью 500 мл, прибавляют 100 мл диэтилового эфира, содержимое колбы взбал­тывают с помощью аппарата для встряхивания жидкостей в течение 10 мин, а затем отделяют эфирную вытяжку. Оставшийся в колбе гомогенат еще дважды взбалтывают с новыми порциями диэтилового эфира (по 100 и 50 мл) в течение 10 мин. Эфирные вытяжки соединяют, фильтруют через бумажный фильтр. Объ­единенные профильтрованные эфирные вытяжки используют для обнаружения и количественного определения оксазепама, выде­ленного из биологического материала.

**Выделение оксазепама из крови и мочи.** В колбу с притертой пробкой вместимостью 250 мл вносят 10 мл крови или мочи, а затем прибавляют 100 мл диэтилового эфира. Содержимое кол­бы взбалтывают при помощи аппарата для встряхивания жид­костей в течение 10 мин. Затем отделяют эфирную вытяжку. Оставшуюся в колбе жидкость еще раз взбалтывают со 100 мл диэтилового эфира. Эфирные вытяжки соединяют и фильтруют через бумажный фильтр. Объединенные эфирные вытяжки используют для идентификации и количественного определения оксазепама.

**Обнаружение оксазепама**

Для обнаружения оксазепама применяют цветные реакции, метод хроматографии в тонком слое сорбента, методы УФ- и ИК-спектроскопии и др.

**Цветная реакция на оксазепам.** 25—50 мл объединенной эфир­ной вытяжки, полученной после изолирования исследуемого ве­щества из биологического материала (см. выше), выпаривают досуха. Сухой остаток растворяют в 5 мл 6 н. раствора соляной кислоты и фильтруют. 1 мл фильтрата вносят в колбу вмести­мостью 25 мл и кипятят 5—10 мин. Жидкость охлаждают и по­мещают в холодильник на 15 мин. К охлажденной жидкости прибавляют 1 мл смеси (0,3 г бромида калия, 0,3 г нитрита нат­рия в 6 мл воды). Жидкость взбалтывают и помещают в холо­дильник на 30 мин. Затем к охлажденной жидкости прибавляют 0,5 мл 10%-го раствора мочевины. Через 15 мин прибавляют 1 мл 1 %-го спиртового раствора α-нафтола и 1 мл 40 %-го вод­ного раствора гидроксида натрия. При наличии оксазепама по­является красная окраска, которую дает и хлордиазепоксид.

Приведенная выше реакция может быть использована для фотоколориметрического определения оксазепама (А. Ф. Фартушный с сотр.).

**Обнаружение оксазепама методом хроматографии.** 5—10 мл объединенной эфирной вытяжки (см. выше) выпаривают досуха. Сухой остаток растворяют в 0,5 мл этилового спирта. Каплю полученного раствора наносят на линию старта на пластинке «силуфол». Правее через 2—3 см на линию старта наносят каплю раствора «свидетеля» (0,5 %-й спиртовой раствор оксазепама). Пятна нанесенных растворов подсушивают на воздухе, а затем пластинку вносят в камеру для хроматографирования, насыщен­ную парами системы растворителей (хлороформ — пропиловый спирт — ацетон (9:0,4:1). Пластинку вынимают из камеры после того, как система растворителей поднимется на пластинке на 10 см выше линии старта, подсушивают на воздухе и опрыс­кивают насыщенным раствором тиосульфата натрия. При нали­чии оксазепама на пластинке появляются оранжевые или желто­ватые пятна.

**Обнаружение оксазепама по УФ- и ИК-спектрам.** Растворы оксазепама в этиловом спирте имеют максимумы полос поглощения при 230 и 315 нм. В ИК-области спектра оксазепам (диск с бромидом калия) имеет основные пики при 1687, 1706, 693 и 830 см-1.

**АПОМОРФИН**



Апоморфнн получают при нагревании морфина с концентрированной соляной кислотой. Апоморфин выпускается промышленностью в виде гидрохлорида, который представляет собой белый или слегка желтоватый кристаллический порошок без запаха. На воздухе и на свету апоморфин зеленеет. Под влиянием света и воздуха растворы апоморфина также зеленеют и теряют фармакологическую активность. Основание апоморфина растворяется в этиловом спирте и хлороформе, слабо растворяется в воде и диэтиловом эфире. Гидрохлорид апомор­фина растворяется в воде (1 : 50) и этиловом спирте (1 :50), трудно растворяется в диэтиловом эфире и хлороформе.

Апоморфин экстрагируется органическими растворителями из кислых и щелочных водных растворов.

**Применение. Действие на организм.** Апоморфин применяется в медицине как рвотное средство для быстрого удаления из желудка ядовитых веществ и недоброкачественной пищи. Апо­морфин вызывает рвоту через несколько минут после введения его под кожу. Он редко применяется как отхаркивающее сред­ство. Его применяют для того, чтобы вызвать отвращение к алко­голю при лечении хронических алкоголиков.

**Метаболизм.** Апоморфин выводится из организма с мочой в виде глюкуронида. Небольшие количества апоморфина выво­дятся из организма в неизмененном виде.

**Обнаружение апоморфина**

Для обнаружения апоморфина, выделенного из биологиче­ского материала, применяют цветные реакции, а также методы УФ- и ИК-спектроскопии.

**Реакция Пеллагри.** В сухую пробирку вносят 5—6 капель хлороформного раствора исследуемого вещества (или хлоро­формной вытяжки), который выпаривают при комнатной темпе­ратуре. Сухой остаток растворяют в 0,5 мл воды и прибавляют 3—4 капли 10 %-го раствора карбоната натрия. Затем в пробирку (по каплям) вносят 5—6 капель спиртового раствора иода. По­явление зеленой окраски указывает на наличие апоморфина в хлороформном растворе. Если к раствору, имеющему зеленую окраску, прибавить 0,5—1,0 мл диэтилового эфира и взболтать, то водный слой сохраняет эту окраску, а эфирный слой приобре­тает пурпурно-красную.

**Реакция с концентрированной азотной кислотой:**

а) несколько капель хлороформной вытяжки вносят в фар­форовую чашку и выпаривают досуха. К сухому остатку прибав­ляют 2 капли концентрированной азотной кислоты. Появление фиолетовой окраски, переходящей в красно-бурую, указывает на наличие апоморфина;

б) к сухому остатку прибавляют 2—3 капли концентрирован­ной серной кислоты, а затем каплю концентрированной азотной кислоты. При наличии апоморфина появляется фиолетовая окраска, переходящая в кроваво-красную, а затем в желтовато-красную.

**Реакция с реактивом Фреде.** 3—5 капель хлороформной вы­тяжки помещают в маленькую фарфоровую чашку или в углуб­ление на фарфоровой пластинке. После испарения вытяжки при комнатной температуре на сухой остаток наносят каплю реактива Фреде. При наличии апоморфина появляется грязно-зеленая окраска.

**Реакция с реактивом Марки.** Реакцию выполняют так же, как и реакцию с реактивом Фреде. При наличии апоморфина в хлоро­формной вытяжке появляется фиолетовая окраска, быстро пере­ходящая в грязно-зеленую.

**Реакция с хлоридом железа (ІІІ).** Несколько капель хлоро­формной вытяжки вносят в пробирку и выпаривают досуха. Сухой остаток растворяют в 3—5 каплях разбавленной соляной кислоты, раствор выпаривают на водяной бане досуха. Сухой остаток растворяют в 3—5 каплях воды и к раствору прибавляют каплю 0,1 %-го раствора хлорида железа (III). При наличии апоморфина появляется синяя окраска. В зависимости от коли­чества апоморфина может появиться розово-красная окраска, переходящая в фиолетовую, а затем в черную.

**Обнаружение апоморфина по УФ- и ИК-спектрам.** Апоморфин в 0,1 н. растворе серной кислоты имеет максимум поглощения при 273 нм и изгиб при 305 нм; в ИК-области основание апомор­фина (диск с бромидом калия) имеет основные пики при 1265, 1460, 752 и 985 см-1.

**ДИОНИН**

Дионин (гидрохлорид этилморфина) получают синтетическим путем из морфина. Он представляет собой белый кристаллический порошок без запаха, горького вкуса. Растворяется в воде (1 : 12), этиловом спирте (1:25), почти не растворяется в диэтиловом эфире и хлороформе. Дионин экстрагируется органическими растворителями из щелочных водных растворов.

**Применение. Действие на организм.** По действию на организм дионин близок к кодеину. Он применяется как средство для успо­коения кашля, а также используется в офтальмологии в виде капель и мазей.

**Обнаружение дионина**

Для обнаружения дионина применяют цветные и микрокристаллоскопические реакции, а также метод спектроскопии.

**Реакция с реактивом Марки.** Несколько капель хлороформ­ной вытяжки выпаривают досуха. К сухому остатку прибавляют 1—2 капли реактива Марки. При наличии этилморфина появля­ется зеленая окраска, переходящая в синюю, а затем в сине-фиолетовую.

**Реакция с хлоридом ртути (II).** Несколько капель хлороформной вытяжки выпаривают досуха. К сухому остатку прибавляют каплю 0,1 н. раствора соляной кислоты и каплю 5 %-го раствора хлорида ртути (II). При наличии этилморфина через несколько минут появляются бесцветные тонкие призматические кристаллы.

**Обнаружение этилморфина по УФ-спектру.** Этилморфин в 0,2 н, растворе серной кислоты имеет максимум поглощения при 285 нм и изгиб при 277 нм.

**Отличие этилморфина от морфина.** Этилморфин не дает реак­ции с хлоридом железа (III), йодноватой кислотой (НЮ3) и гексацианоферратом (III) калия, которые дает морфин (см. гл. V, §34).

**ПРОМЕДОЛ**

Промедол (тримеперидин) — 1,2,5-триметил-4-пропионилокси-4-фенилпиперидина гидрохлорид — белый кристаллический порошок без запаха. Растворяется в воде, этиловом спирте и хлороформе, почти не растворим в диэтиловом эфире.

Промедол экстрагируется органическими растворителями из щелочных водных растворов. Максимум экстракции промедола органическими растворителями достигается при рН = 6,9...8,5. Однако этот препарат в меньших количествах экстрагируется и из кислых растворов.

**Применение. Действие на организм.** Промедол применяется в медицине как болеутоляющее средство при травмах и различ­ных заболеваниях, при подготовке к операции и в послеопера­ционном периоде. Он применяется при язвенной болезни, стено­кардии, инфаркте миокарда, различных коликах, для обезболи­вания при родах. Промедол является одним из противошоковых средств. Он понижает возбудимость больших полушарий голов­ного мозга. В ряде случаев промедол назначают в комбинации с другими фармацевтическими препаратами.

Промедол обладает сильной анальгезирующей активностью. По действию на центральную нервную систему промедол близок к морфину. Он в меньшей степени угнетает дыхательный центр, чем морфин. Действие промедола после подкожного введения наступает через 10—20 мин. После введения однократной дозы промедола действие его на организм продолжается в течение 3—4 ч.

При частом применении промедола может развиваться при­выкание и болезненное пристрастие к нему (наркомания). По­этому промедол применяется только по назначению врача.

**Обнаружение промедола**

Для обнаружения промедола в химико-токсикологическом анализе применяется ограниченное число реакций и методов. Однако сочетание этих методов позволяет обнаружить промедол в вытяжке из биологического материала.

**Реакция промедола с реактивом Марки.** От прибавления реак­тива Марки к промедолу появляется красно-пурпурная окраска.

**Обнаружение промедола методом хроматографии.** На линию старта на хроматографической пластинке, покрытой тонким слоем силикагеля 1\(Ж, закрепленном гипсом, наносят каплю хлороформной вытяжки из исследуемого объекта. Правее через 2 см на линию старта наносят каплю раствора «свидетеля» (0,01 %-й раствор промедола в этиловом спирте). Пятна на пла­стинке подсушивают на воздухе, а затем пластинку помещают в камеру для хроматографирования, насыщенную парами систе­мы растворителей (метиловый спирт — ледяная уксусная кис­лота (9: 1). Пластинку оставляют в камере для хроматографи­рования до тех пор, пока система растворителей поднимется на 10 см выше линии старта, а затем пластинку вынимают из ка­меры, высушивают на воздухе и опрыскивают реактивом Дра-гендорфа, модифицированным по Мунье. При наличии промедола в хлороформной вытяжке на желтом фоне пластинки появляются коричневые пятна.