

TOXIKOLOGIE A ANALÝZA DROG

Martin Kuchař
Ústav chemie přírodních látek

Agonisté a antagonisté opioidních receptorů

Opioidní receptory v CNS

- Opioidy se váží v CNS na specifické opiátové receptory. Popsány jsou tři základní typy opioidních receptorů, μ , delta a kappa (a jejich subtypy). Názvy receptorů byly vytvořeny z počátečních písmen jejich nejznámějších agonistů, μ = morfin, kappa = ketocyclazocin.
- Rozložení opioidních receptorů v CNS je nerovnoměrné a souvisí s žádoucími i nežádoucími účinky jejich stimulace. Jejich zastoupení v CNS je následující:
 kortex: kappa > delta > μ
 limbický systém: μ > kappa > delta
 mozkový kmen: μ > delta > kappa
 mícha: μ > delta > kappa
- **μ opiátové receptory:** analgezie, dechová deprese, bradykardie, mioza, obstrukce a vznik návyku. μ_1 opiátové receptory - zprostředkovávají vznik analgezie, μ_2 opiátové receptory - dechové deprese.
- **kappa opiátové receptory** - dochází ke vzniku sedace a analgezie bez vzniku dechové deprese. Zřejmě vlivem deficitu kappa receptorů v limbickém systému je síla analgetického účinku po jejich stimulaci menší než po stimulaci μ receptorů. Látky stimulující pouze kappa receptory se do praxe nedostaly.

- **delta opiátové receptory** - vzniká spinální analgezie. Dominantně se vážou endogenní opioidy, enkefaliny, název delta souvisí s agonistou D-Ala-D-Leu enkefalin. Enkefaliny se uvolňují při stresu a zvyšují tak práh bolestivosti, podílejí se také na regulaci hormonů hypofýzy. Receptory delta a kappa způsobují analgezii převážně na míšní úrovni.
- Hlavními projevy účinků opioidů na mozkovou kůru jsou analgezie a změny nálady (zklidnění, euforie, zřídka dysfórie). Již malé dávky opiátů vyvolávají zklidnění, které po vyšších dávkách přechází v útlum a ospalost. Děje a impulsy z vnějšího i vnitřního prostředí jsou sice vnímány, ztrácejí však svůj emoční dopad. Ani silné nociceptivní podněty nevedou již k utrpení z bolesti.
- Při vyšších dávkách opioidů dochází ke vzniku svalové rigidity hrudníku, při které je spontánní dýchání omezeno. Je to způsobeno interakcí opioidů s nigro-striatálním systémem v CNS. Opioidy inhibují tyrosin hydroxylázu. Tím dochází ke snížení koncentrace dopaminu v CNS a k převaze cholinergní inervace a tím vzniku svalové rigidity. Katatonie je pravděpodobně způsobena opiátovými receptory v nucleus accumbens.

Tab. 1 – Opioidní receptory a jejich fyziologické a farmakologické ligandy

Typ receptoru	Agonista	Antagonista	Účinky
Mí	beta-endorfin morfin petidin metadon fentanyl buprenorfin oxykodon sufentanil	naloxon naltrexon pentazocin nalbupin	analgezie (mí-1 supraspinální, mí-2 spinální) sedace euforie závislost mióza deprese dechového centra antitusický účinek zvracení bradykardie obstipace
Delta	leu-enkefalin beta-endorfin	naloxon naltrexon	analgezie změna chování
Kappa	dynorfin pentazocin nalbupin oxykodon	naloxon naltrexon buprenorfin	analgezie sedace dysfórie mióza

(Iles, P., 2005)

Pozn. V nové nomenklatuře se mí receptory označují jako OP_2 , delta jako OP_1 a kappa jako OP_2 receptory.

Farmakodynamika opioidních agonistů (morfin)

- Analgetický účinek je zprostředkován ovlivněním četných struktur včetně míšních nervů: v **limbickém systému** a mění emoční hodnocení bolestivých podnětů. **Morfin uvolňuje v bazálních gangliích dopamin**, a vyvolává euforii a zmírňuje strach a úzkost. Při dlouhodobém podávání však tato euforie mizí (U pacientů s chronickou bolestí však euforie obvykle nevzniká). Stimulace mí receptorů vyvolává miózu. Zornice velikosti špendlíkové hlavičky jsou proto typickým projevem léčby morfinem.
- Snížení dechové frekvence je vyvoláno sníženou citlivostí respiračního centra na parciální tlak oxidu uhličitého - působení na chemoreceptory. U zdravých pokusných osob je dechová deprese patrná již při běžných terapeutických dávkách (u pacientů léčených morfinem pro bolest nebývá ale tento účinek pozorován, neboť bolest stimuluje dechové centrum).
- Antitusický účinek morfinu je důsledkem tlumení kašlacích reflexů. Intenzitou antitusického působení se jednotlivé opioidy liší, převažuje u **kodeinu**.
- Častým účinkem při zahájení léčby je zvracení, které vzniká vlivem na chemoreceptční zónu v medulla oblongata (podání antiemetik). Morfin dále tlumí **baroreceptorové reflexy – snížení krevního tlaku**.

Farmakodynamika opiátů v VNS

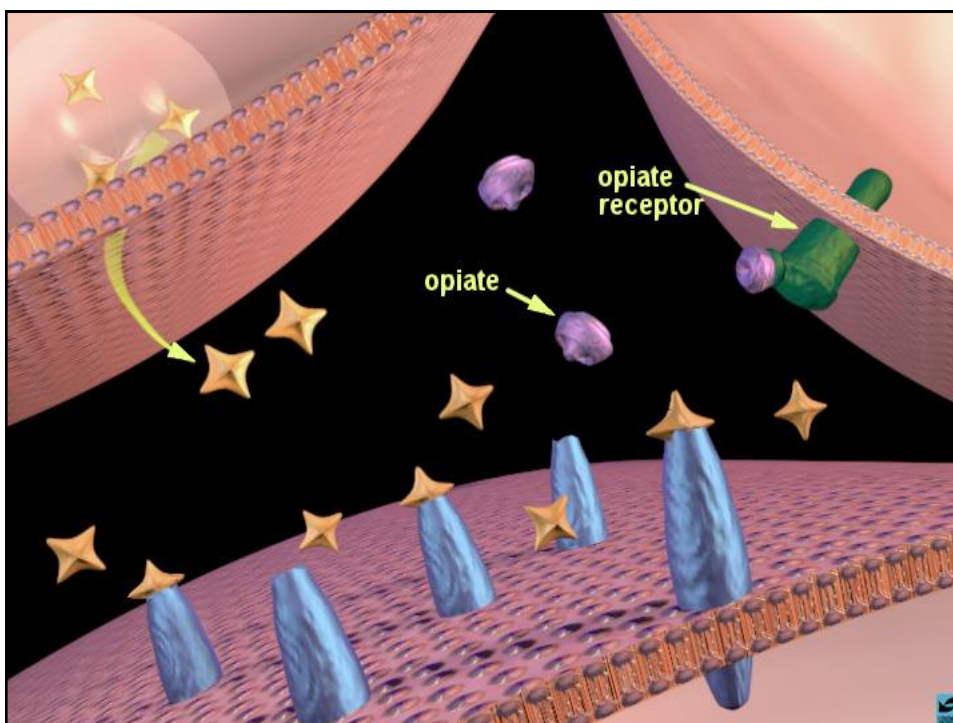
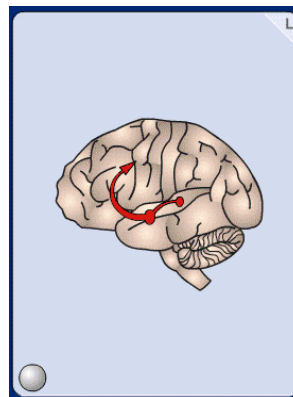
Morfin zvyšuje tonus hladké svaloviny trávicího ústrojí a zpomaluje jeho motilitu. Důsledkem je spastická zácpa. Zpomalena je rovněž motilita žaludku, morfin dále zpomaluje pasáž tlustým střevem a narušuje defekační reflex. Všechny tyto efekty jsou kombinací centrálního a periferního působení morfinu.

Morfin může způsobit uvolnění histaminu v místě podkožní aplikace a vyvolat svědění, zarudnutí a kopřivkové projevy. Histaminem provokovaná vazodilatace může přispět k poklesu krevního tlaku a u astmatiků může morfin vyvolat záchvat.

Tolerance. Výrazným nežádoucím důsledkem léčby morfinem je vznik tolerance, což znamená, že pro dosažení žádaného účinku je třeba neustále vyšších dávek. Při dlouhodobé léčbě bývá nutno postupně zvyšovat dávku až na desetinásobek či dvacetinásobek výchozí denní dávky. Tolerance je způsobena také rychlejší degradací opioidního receptoru.

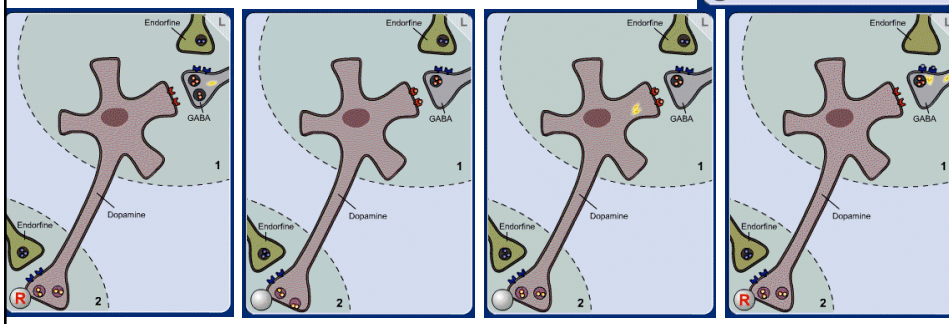
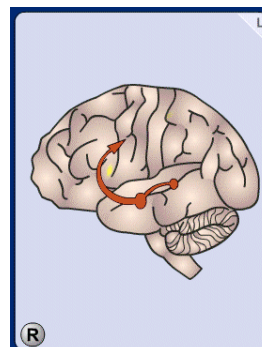
Závislost

- flexibilní tvorba a zánik synapsí v CNS (ovlivňují i drogy)
 - bažení (**craving**), nárůst tolerance, příznaky z odnětí
 - dráždění centra odměny (vyplavení dopaminu)
- tolerance:** odbourávání drogy (pomalé) v periferii či v CNS, postupné snížení množství přenašeče a počtu receptorů – potřeba větší množství drogy k dosažení stejného účinku
- po vysazení drogy: málo receptorů i transmitteru, změny aktivity MAO, je třeba času k normalizaci, objevuje se **syndrom z odnětí**



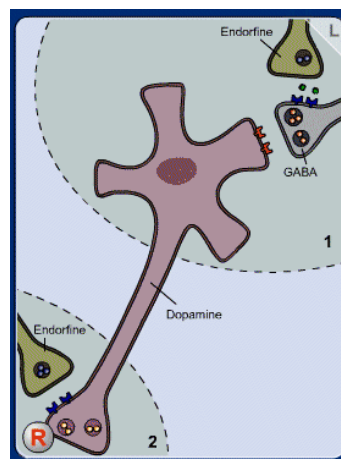
Působení endogenních opiátů na centrum odměny

- aktivace centra odměny (dopamin)
- nutná součinnost 3 systémů: endorfinového, GABA a dopaminového
- endorfinový systém tlumí sekreci GABA, endorfiny jsou rychle rozloženy
- snížení GABA znamená - zvýšení dopaminu



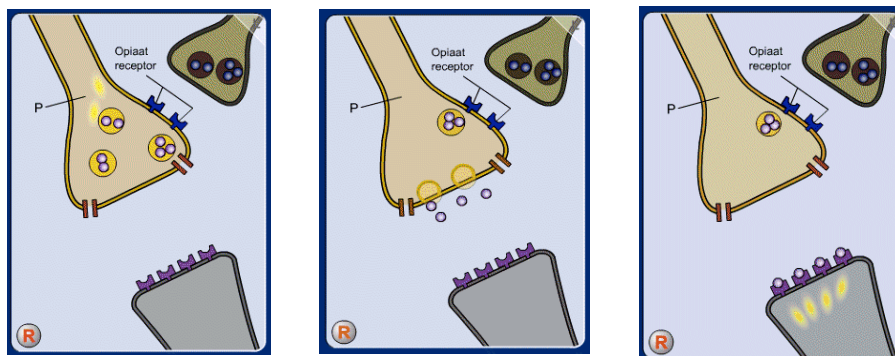
Působení exogenních opiátů na centrum odměny

- heroin je v těle metabolizován na morfin
- morfin napodobuje endorfiny a váže se na GABA receptory, čímž snižuje výdej GABA
- dopaminový systém tak může uvolnit více dopaminu
- na rozdíl od endorfinů je morfin degradován jen pozvolna (pocit „rozkoše“ přetrvává, hladina dopaminu je stále zvýšená)



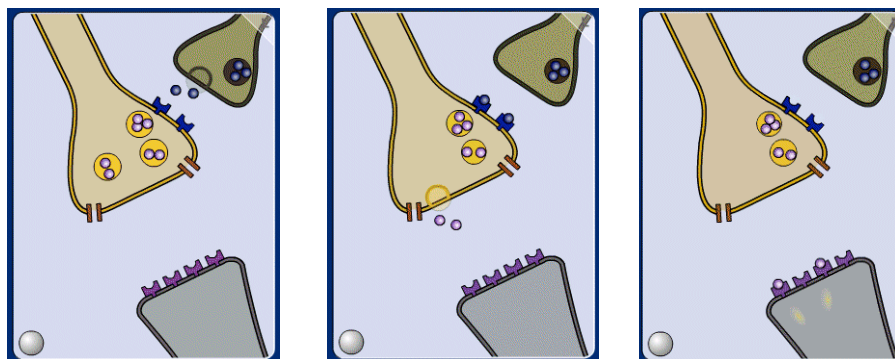
Přirozené tlumení bolesti

- předávání bolestivých podnětů z jednoho neuronu na druhý umožňuje substance P
- axon obsahuje receptory pro substanci P i pro opiáty
- substance P skladována ve vesikulech
- podnět ji uvolní do synapse, substance P se váže na receptory, tak se signál přenese



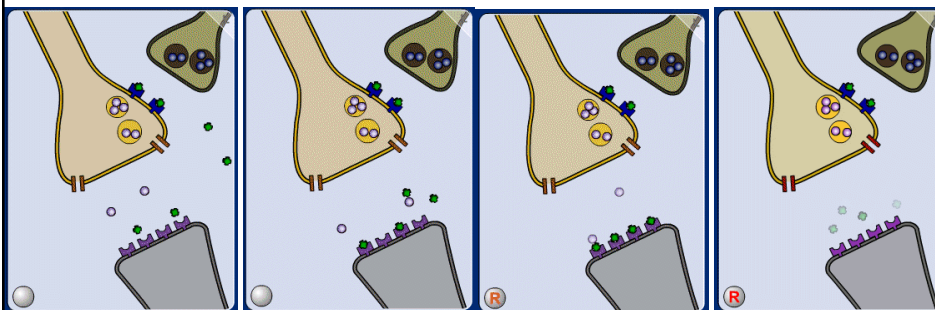
Přirozené tlumení bolesti

- při silné bolesti si tělo ulevuje vyplavením endorfinu
- endorfiny se váží na opiátové receptory na axonech neuronů substance P, čímž se zpomaluje přenos bolestivých podnětů
- endorfiny jsou uvolněny z vazby na receptor a rychle rozloženy, nehrozí návyk a tolerance



Tlumení bolesti heroinem (morfinem)

- morfin nejprve působí obdobně jako endorfiny
- váže se na opiátové receptory na axonech neuronů substance P, omezuje její výdej a blokuje přenos bolestivých podnětů
- morfin také zablokuje receptory pro substanci P na sousedním neuronu, čímž jí znemožní vazbu na ně
- morfin je poté uvolněn z receptoru a pomalu rozložen, působí silněji a déle než přirozené endorfiny



Farmakokinetika

- Morfin je při perorálním podání rychle vstřebán, ale v játrech je 50 % morfinu odbouráno, takže do systémového oběhu se dostane jen kolem 50 % podané látky (**first pass effect**).
- vyšší dávky p.o. (30 mg) než parenterálně (10-20 mg)
- Maximálního účinku je při perorální léčbě dosaženo do 30 minut, po i. v. nebo s. c. aplikaci do 20 minut.
- V játrech je konjugován s kyselinou glukuronovou nebo sírovou, do 5 % podléhá demethylaci na dusíku.
- metabolit morfin-6-glukuronid je účinnější než samotný morfin a bez problémů přestupuje přes hematoencefalickou bariéru. Morfin-6-glukuronid se akumuluje při selhání ledvin, a to může způsobit prodloužený účinek a útlum dýchání.
- Morfin je z 90 % vylučován močí, jen malá část je vyloučena žlučí.

Fyzická závislost

- stav, kdy jsou opioidy nutné pro normální funkci lidského těla. Po přerušení podávání opioidu se objeví psychické a somatické abstinenci příznaky.
- Psychické abstinenci příznaky zahrnují stavy úzkosti, předrážděnosti, neklidu, nepřátelského chování.
- Somatické abstinenci projevy potom bolesti břicha a svalové bolesti či pocit bolesti celého těla, třesavku, hyperventilaci, horečku, pocení, slzení, nauzeu, průjem, tachykardii, ale i hypertenzi, oběhové selhání.
- Abstinenci potíže vznikají po tři až čtyřtýdenním podávání opioidů. Maxima dosahuje tato reakce po 24 hodinové abstinenci a trvá 5-10 dní s postupně se snižující intenzitou. Ztráta tekutin při intenzivním pocení, zvracení či průjmech a acidóza si mohou vyžádat nitrožilní léčbu.
- Závažnější příznaky mohou vyžadovat hospitalizaci a konzultaci odvykácí léčby. Při ní se někdy používají následující preparáty: **klonidin, naltrexon, metadon a buprenorfin**. Velmi rychle potlačí abstinenci příznaky podání morfinu či jiného μ agonisty. Prevencí jejich vzniku je velmi pomalé vysazování morfinu.

• Léčba závislosti:

Metadon, Subutex, suboxon (kombinace buprenorfin, naloxon)

Těžká intoxikace opiáty

- bezvědomí, miotické zornice a útlum dechu. Pacient může být ohrožen zejména zástavou dechu (typicky i.v. velká dávka heroinu) nebo aspirací, vzácněji nekardiálním plicním edémem (dobrá prognóza, obvykle odezní do 36 hod) či paralytickým ileem (střevní neprůchodnost).
- Základem terapie je napojení na umělou plicní ventilaci a i.v. přívod krystaloidů. Podání **naloxonu** (pozor na rychlou farmakokinetiku), ale antagonizace účinku syntetických opioidů (kodeinu, methadonu, fentanylu) může vyžadovat dávky až 10-20mg naloxonu.
- Chceme-li se vyhnout orotracheální intubaci, **je nutno pokračovat kontinuální infúzí naloxonu v hodinové dávce rovné cca 2/3 dávky, která iniciálně vedla ke znovunabytí vědomí**. Po podání naloxonu musí být intoxikovaný vždy observován na PIM (resuscitační oddělení) nejméně 12 hodin pro riziko možného návratu účinku.
- V případě, že k intoxikaci došlo u člověka se závislostí, může naloxon způsobit těžké abstinenci příznaky. V těchto případech se podává v nižších dávkách nebo se od podání naloxonu ustoupí (nutná intubace).

Endogenní agonisté opioidních receptorů NEUROPEPTIDY

malé molekuly složené z aminokyselin navzájem kovalentně propojených peptidickou vazbou

neuropeptidy je rezervován pro malé proteiny, které mají neurotransmiterům podobnou funkci v rámci nervového systému

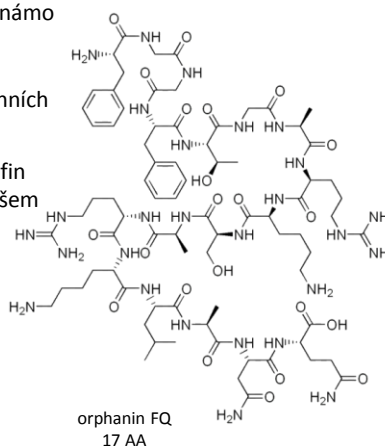
neuropeptidy = malé proteiny, které mají neurotransmiterům podobnou funkci v rámci nervového systému (CNS i PNS)

nejen neuropřenašeče: některé jsou neurony uvolňovány přímo do krevního řečiště a slouží jako hormony

jiné jako hormony uvolňovány endokrinními žlázami

popsána zatím asi stovka

- **delta** receptory jsou hlavními vazbnými partnery enkefalinů
tyto receptory nejen z zadních kořenech míšních, ale i v oblastech mozku, které nejspíše nehrají v nocicepci žádnou úlohu
klinické využití agonistů d receptorů zatím není známo
- **mí** receptory -preferenční vazebné místo endogenních opioidních peptidů b-endorfiny
- **kapa** receptory - vykazuje k nejvyšší afinitu dynorfin
tyto peptidy se ovšem váží s různou afinitou ke všem třídám opioidních receptorů
- **nociceptiny** (orphaniny) =
látky se zajímavými antiopioidní efekty
- váží se na receptory spřažené s G-proteiny,
- zvyšují vnímavost k bolestivým stimulům v hypothalamu, mozkovém kmeni, koncovém mozku, obou rozích míšních



Exogenní agonisté opioidních receptorů

Přírodní agonisté – alkaloidy obsažené například v opiu

Polosyntetická analoga – estery morfinu

Syntetická analoga – například fentanyl, sufentanyl, buprenorfin

OPIUM

- ztuhlá a usušená mléčná tekutina, které se sbírá z nařezaných nezralých makovic. Nezralé zelené tobolky se nařezávají zhruba 15-20 dnů po opadu koruny. Z mléčnic, které leží ve stěnách makovic vytéká šedavěbílé mléko, které na vzduchu rychle zhnědne.
- Nařezávání makovic se používají speciální nože, které mají paralelně uložené břity tak, aby se stěna makovice nemohla proříznout.
- Ke sklizni 1 kg surového opia je třeba asi 20000 makovic.



Isochinolinové alkaloidy v opiu

Tento typ alkaloidů je v přírodě velice rozšířen, člení se na několik skupin podle základního skeletu, tři nejdůležitější typy: morfinanový (kodein, morfin, thebain), benzyloisochinolinový (papaverin, retikulin) a protoberberinový (berberin).

- Opium je zaschlá mléčná šťáva nezralých plodů (tobolek, makovic) máku setého (*Papaver somniferum* L.), která obsahuje až 40 alkaloidů ve formě solí s kyselinami mekonovou (její přítomnost je charakteristická pro mák), fumarovou či mléčnou. Prvním, kdo isoloval morfin z opia byl
- v letech 1803 – 1806 německý lékárník Friedrich Wilhelm Sertürner a nazval jej *pricipium somniferum* (=látko přinášející spánek)

Složení opia

Látka Obsah v surovém opiu (%)

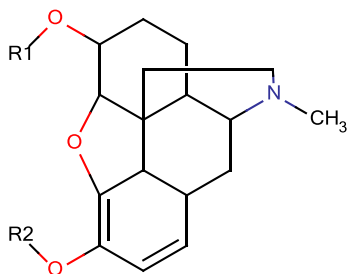
Morfin - 2,7 - 21,0 %

Narkotin - 6,0 - 10,0 %

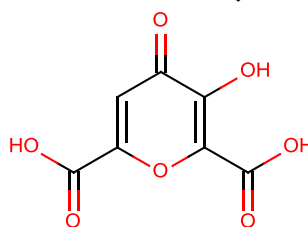
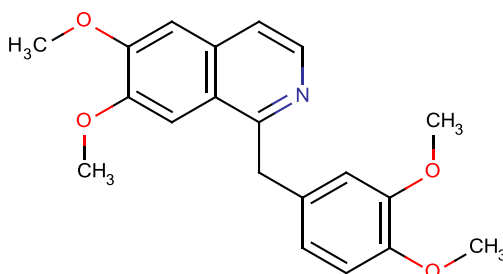
Kodein - 0,3 - 4,0 %

Papaverin - 0,8 - 1,0 %

Thebain - 0,1 - 0,6 %



	R1	R2
Morfin	H	H
Kodein	Me	H
Thebain	Me	Me
heroin	COMe	COMe





Výpočet výtěžnosti makového pole před sklizní opia

$$Y = [(VC + 1495) - ((VC + 1495)^2 - 395.295 VC)^{0.5}] / 1.795$$

Y výtěžek

VC objem makovic v cm³ na m² oseté plochy

Afghanistan: 32 kg/ha (2004)

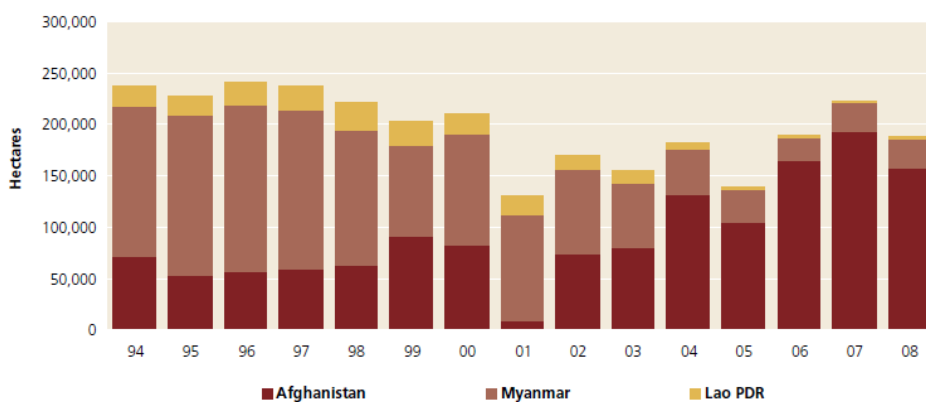
Afghanistan: 39 kg/ha (2005)

Afghanistan: 36 kg/ha (2006)

Myanmar: 9.5 kg/ha (2005)



Plocha osetá morfinovým mákem 1994-2008



Polosyntetická analoga opiátů

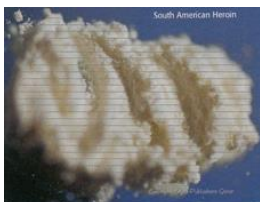
diacetylmorfin



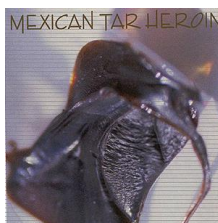
Polosyntetická analoga opiátů

diacetylmorfin

- Heroin je agonista μ -opioidu (μ -opioid). Působí na endogenní μ opioidní receptory, které jsou rozmístěné v mozku, míše a trávicí soustavě téměř u všech savců. Heroin je, spolu s dalšími opioidy, agonistou čtyř endogenních neurotransmiterů. Jsou to β -endorfin, dynorfin, leu-enkefalin, a met-enkefalin.
- Při podání laboratorním myším intravenózně je smrtná dávka LD50 21,8 mg/kg, při podání intracerebrálním dokonce pouhých 0,14 mg/kg.



Myanmar



Mexiko



Afghanistán

Diacetylmorfin

- Poprvé heroin syntetizoval v roce 1874 C. R. Alder Wright, britský chemik. Zkoumal reakce morfinu s různými kyselinami. Po několik hodin vařil bezvodý morfin s acetanhydridem.
- Heroin jako lék poprvé vyrobil Felix Hoffmann z německé farmaceutické společnosti Bayer v Elberfeldu. Bayer registroval heroin (pravděpodobně z něm. heroisch - heroický) jako ochrannou známku.
- Od roku 1898 do 1910 byl prodáván jako nenávyková náhražka morfinu a dětská medicína proti kašli. Bayer prodával heroin jako „lék“ pro lidi závislé na morfinu do té doby, než bylo objeveno, že se metabolizuje na morfin.



- 1914 - USA začal být prodej heroinu přísně kontrolován a povolen pouze pro lékařské účely.
- V roce 1924 tam byla jeho výroba a distribuce zakázána úplně.
- 1931 - Na mezinárodní úrovni byl heroin zakázán či velmi omezen mezinárodními smlouvami, *Konvencí pro omezení výroby a kontrolu distribuce narkotických drog (Convention for Limiting the Manufacture and Regulating the Distribution of Narcotic Drugs)*

Am. J. Ph.]

7

[December, 1901]

BAYER Pharmaceutical Products

HEROIN—HYDROCHLORIDE

is pre-eminently adapted for the manufacture of cough elixirs, cough balsams, cough drops, cough lozenges, and cough medicines of any kind. Price in 1 oz. packages, \$4.85 per ounce; less in larger quantities. The efficient dose being very small (1-48 to 1-24 gr.), it is

The Cheapest Specific for the Relief of Coughs

(In bronchitis, phthisis, whooping cough, etc., etc.)

WRITE FOR LITERATURE TO

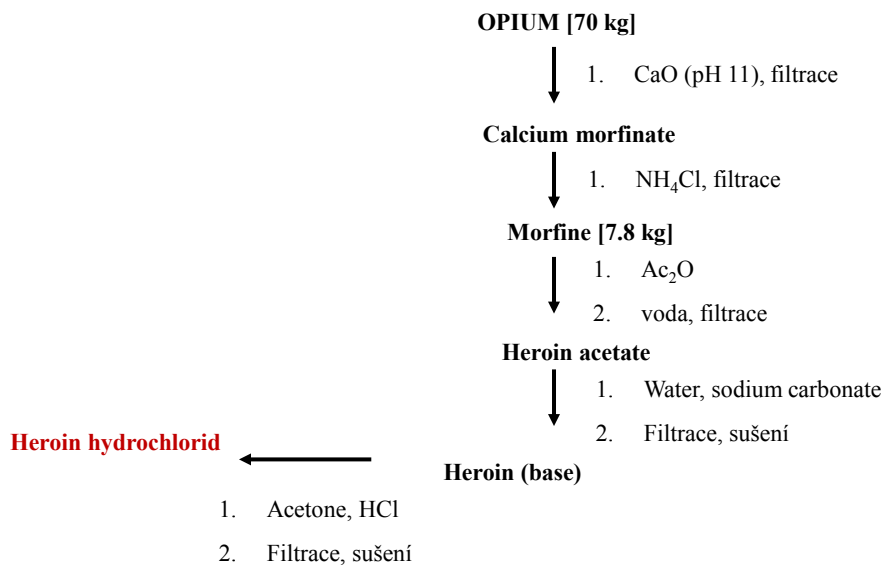
FARBENFABRIKEN OF ELBERFELD COMPANY

SELLING AGENTS

P. O. Box 2160

40 Stone Street, NEW YORK

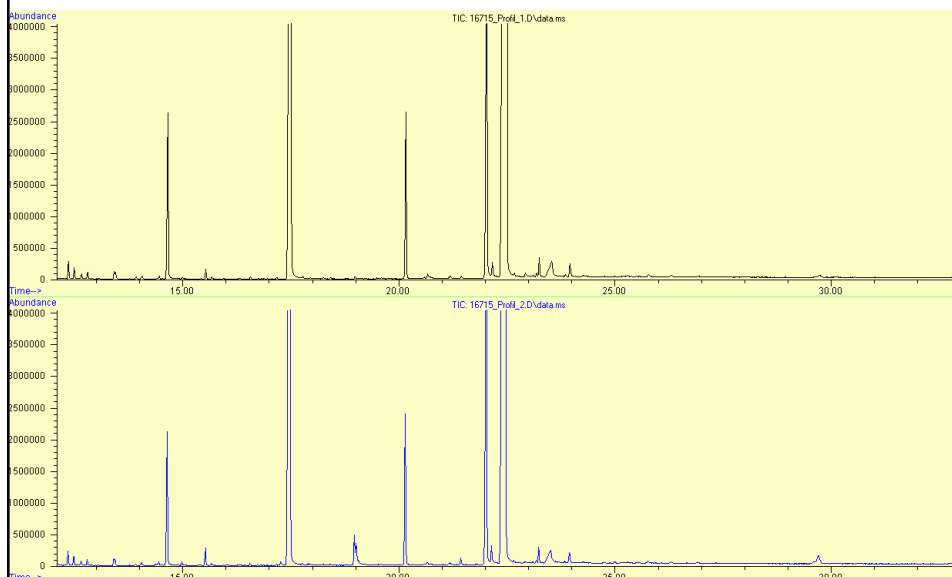
Produkce heroinu v Afghanistanu



Analýza a profilování vzorků heroinu

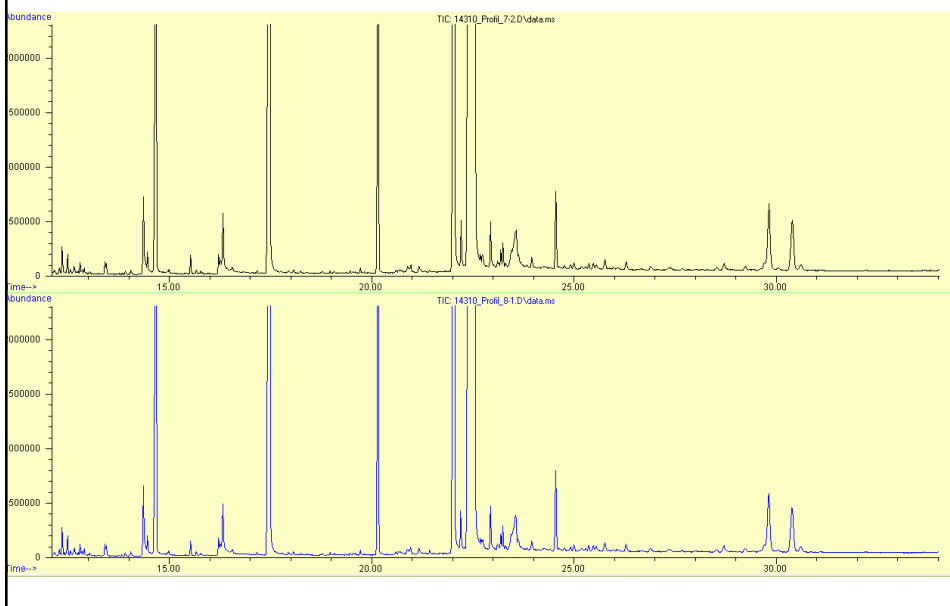
0,5M H₂SO₄, extrakce do toluenu (zakonzentrování nečistot, průvodních alkaloidů)

Analýza GC (FID)



Porovnání chromatogramů vzorků heroinů

patrná shoda Rf a intenzit jednotlivých nečistot



1. Hlavní složky

- (a) Cílová látka, kvalitativní analýza - heroin;
- (b) První Informace o potenciálním napojení vzorků mezi sebou
- (c) První odhad původu vzorku;
- (d) Charakterizace ředících látek (cutting agents, adulterants)

2. Stopová analýza

- (a) Propojení vzorků mezi sebou (porovnání);
- (b) Původ vzorků (region);
- (c) Metoda syntézy.

3. Residuální rozpouštědla

- (a) Propojení vzorků mezi sebou (porovnání);
- (b) Původ vzorků (region);
- (c) Metoda syntézy, poslední krok.

4. Stopová analýza prvků (ICP-MS)

- (a) Propojení vzorků mezi sebou
- (b) Původ vzorků (region), pro neřaděné látky.

5. isotope ratio mass spectrometry (IRMS)

- (a) Propojení vzorků mezi sebou (porovnání);
- (b) Původ vzorků (region);

- Hydrolyzační produkty heroinu:
O6-monoacetylmorphine (O6MAM) v množství větším než 10% značí hydrolýzu po ukončení výroby (produkt obsahoval zbytky kyseliny, která hydrolýzu katalyzuje) a zároveň nízký obsah O3-monoacetylmorphine (O3MAM)
- Špatně acetylovaný heroin (domácí produkce, Mexický heroin – asfaltová konzistence)
- Ředící látky (paracetamol, kofein,...)
- Nežádoucí kontaminanty (spory antraxu – celá řada úmrtí v EU)
 - antraxové spory v zemi
- Stopový obsah dalších alkaloidů a jejich acetylačních produktů

Metody analýzy heroinu pomocí chromatografie GC a LC

- **Derivatizace sililací (GC – FID)** Vergleichende Heroinanalyse mit der Kapillar-GC: Bestimmung charakteristischer Größen“, Toxichem+Krimtech, vol. 59, Nos. 3-4 (1992), pp. 121-124
- **GC-FID bez derivatizace** “The routine profiling of forensic heroin samples”, Forensic Science International, vol. 39, No. 2 (1988), pp. 107-117
- **GC-FID bez derivatizace (pro stopovou analýzu, kyselý extrakt v toluenu) L.** Strömberg and others, “Heroin impurity profiling: a harmonization study for retrospective comparisons”, Forensic Science International, vol. 114, No. 2 (2000), pp. 67-88.
- **GC-MS s derivatizací** : Jana Skopec, Australian Government Analytical Laboratories, Pymble, New South Wales, Australia; R. B. Myers and others, “Investigation of heroin profiling using trace organic impurities”, The Analyst, vol. 126, No. 5 (2001), pp. 679-689.
- **GC-MS headspace s derivatizací** : D. R. Morello and R. P. Meyers, “Qualitative and quantitative determination of residual solvents in illicit cocaine HCl and heroin HCl”, Journal of Forensic Sciences, vol. 40, No. 6 (1995), pp. 957-963.
- **¹⁵N and ¹³C Isotope Ratio MS (IRMS)**: J. R. Ehleringer and others, “Geo-location of heroin and cocaine by stable isotope ratios”, Forensic Science International, vol. 106, No. 1 (1999), pp. 27-35;
- **Elemental analysis by ICP-MS** Source: R. J. Wells and others, “Trace element analysis of heroin by ICP-MS”, Chemistry in Australia, vol. 62, No. 7 (1995), p. 14.

Syntetické opiáty fentanyl

- vyvinut v 50. letech 20. století belgickou firmou *Janssen*.
- **cca 80x účinnější než morfin**
- Účinný je v terapii silných a chronických bolestí (onkologie).
- Fentanyl se nejsilněji váže na typ receptorů, které způsobují **euforii, útlum dechu a fyzickou závislost**.
- Rozvoj psychické a následně fyzické závislosti je intenzivnější než u heroinu. Největší nebezpečí je při **záměně fentanylu s heroinem**, které končí fatálně.
- Identifikace fentanylu ve směsi je obtížná, nízká koncentrace (nutný zakonzentrovaný extrakt)
- Toxikologický screening bez předchozího zaměření na fentanyl bývá neúspěšný

NELEGÁLNÍ ZDROJE FENTANYLU

- komerční farmaceutické preparáty
- nelegální (domácí) laboratoře



Fentanylové lízátko



Fentanylové náplasti

Syntéza fentanylu

prekursory nejsou kontrolovány:

4-piperidon

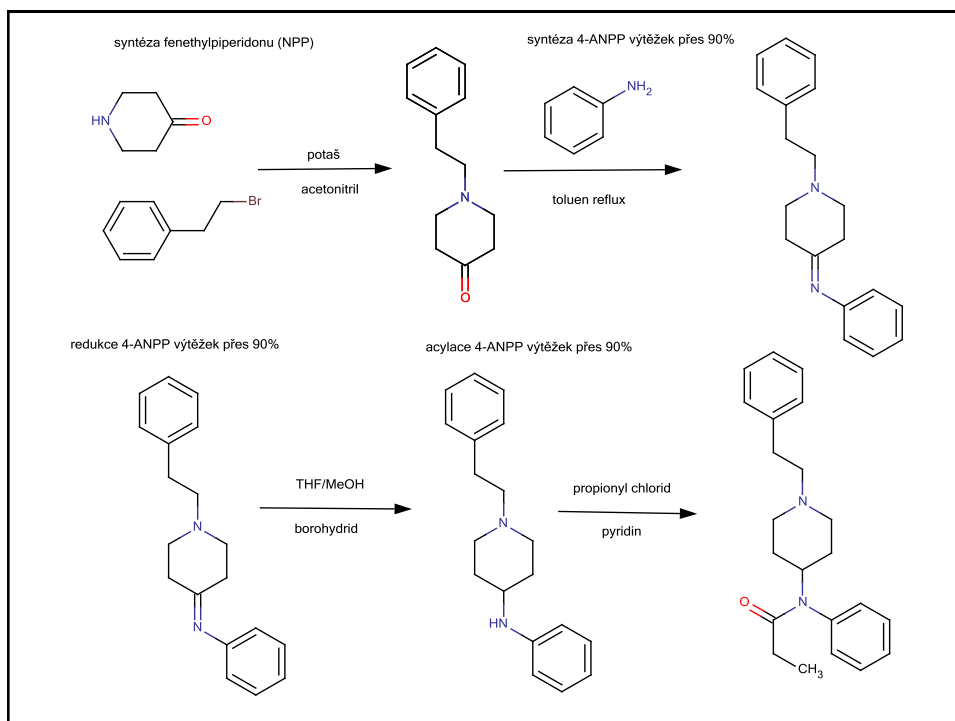
Fenethylbromid

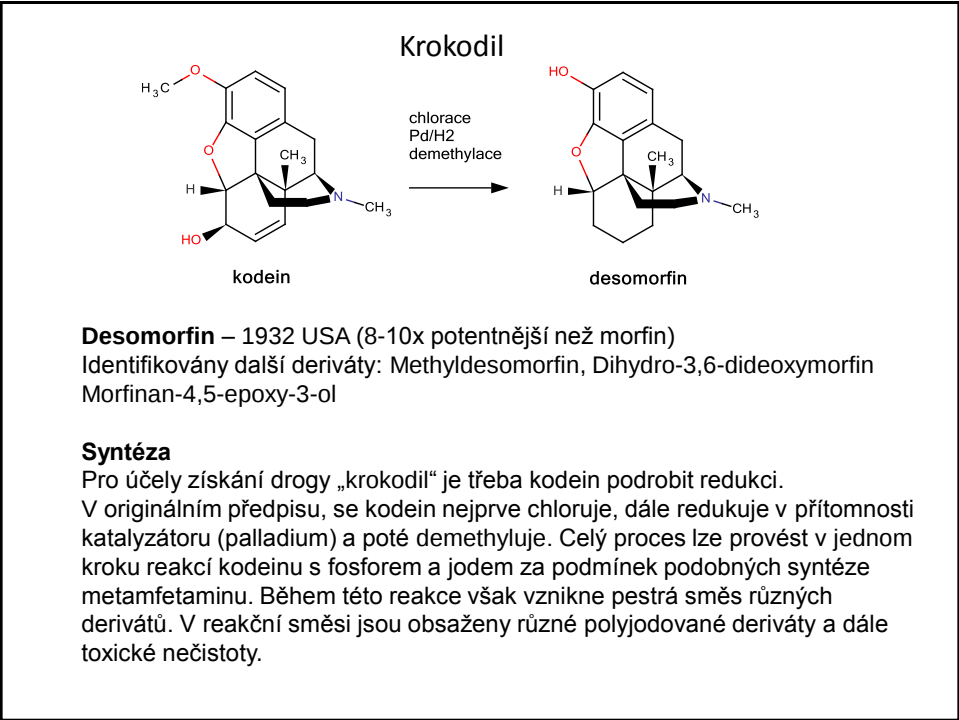
Anilín

Borohydrid (NaBH_4)

Propionylchlorid

Výtěžek 4 stupňové syntézy **60-80%**, z 50g piperidonu lze připravit cca 100g fentanylu což po naředění na průměrných 0,5% je **20kg** „white china“





KROKODIL V RUSKU

Co si pamatovat z dnešní přednášky

- Opioidní receptory
- Mechanismus působení (opiáty a bolest)
- Intoxikace opiáty (závislost, tolerance, léčba)
- Morfin, heroin – analýza (metody)
- Syntetické opiáty - fentanyl