

Т.Х.Вергейчик

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ



Все права защищены. Никакая часть данной книги не может быть воспроизведена в любой форме и любыми средствами без письменного разрешения владельцев авторских прав.

Авторы и издательство приложили все усилия, чтобы обеспечить точность приведенных в данной книге показаний, побочных реакций, рекомендуемых доз лекарств. Однако эти сведения могут изменяться.

Внимательно изучайте сопроводительные инструкции изготовителя по применению лекарственных средств.

Автор – доцент кафедры токсикологической химии ГОУ ВПО «Пятигорская государственная фармацевтическая академия» Росздрава, кандидат фармацевтических наук, доцент **Тамара Харитоновна Вергейчик**

Под редакцией: заведующего кафедрой фармацевтической химии ГОУ ВПО «Пятигорская государственная фармацевтическая академия» Росздрава, доктора фармацевтических наук, профессора **Евгения Николаевича Вергейчика**

Рецензенты

заведующий кафедрой фармацевтической химии с курсом аналитической и токсикологической химии ГОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Росздрава, доктор фармацевтических наук, профессор **Ф.А.Халиуллин**;

заведующий кафедрой токсикологической химии ГОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Росздрава, кандидат фармацевтических наук, доцент **Т.Л.Малкова**

Вергейчик Т.Х.

В31 Токсикологическая химия : учебник / Т.Х.Вергейчик ; под ред. проф. Е.Н.Вергейчика. – М. : МЕДпресс-информ, 2009. – 400 с. : ил.
ISBN 5-98322-554-5

Учебник составлен в соответствии с Государственным образовательным стандартом и программой по токсикологической химии для специальности 060108 «Фармация», утвержденной Министерством здравоохранения Российской Федерации в 2003 г. В учебнике представлены общие вопросы биохимической и аналитической токсикологии. Рассмотрены вопросы токсикокинетики, биотрансформации чужеродных соединений в организме человека и превращения их в труп. Приведены характеристики объектов химико-токсикологического анализа и способы подготовки их к изолированию, современные методы изолирования чужеродных соединений из различных объектов и способы очистки получаемых вытяжек, теоретические основы и возможности использования современных и ранее применяемых методов анализа при химико-токсикологическом исследовании.

Для студентов фармацевтических вузов и фармацевтических факультетов.

УДК 615.9
ББК 52.84я73

Оглавление

Предисловие	6
Глава 1. Становление и развитие токсикологической химии	7
1.1. Судебная медицина и судебная химия в XVII–XIX столетиях	7
1.2. Судебная химия в России в XX столетии	9
1.3. Основные направления развития токсикологической химии	12
1.4. Токсикологическая химия в фармацевтическом образовании	14
1.5. Ядовитые вещества как предмет изучения токсикологической химии	15
1.6. Проблемы токсикологической химии	15
Глава 2. Правовые основы химико-токсикологического анализа	16
2.1. Анализ вещественных доказательств (судебно-химическая экспертиза)	16
2.2. Химико-токсикологический анализ при острых интоксикациях	20
2.3. Экспертиза алкогольного, наркотического и токсикоманического опьянения	21
2.4. Санитарно-гигиеническая экспертиза среды обитания и пищевых продуктов	24
2.5. Экспертиза наркотических, сильнодействующих веществ и кустарно изготовленных средств наркотического действия	24
Глава 3. Токсикологическая химия и основы токсикологии	26
3.1. Доза (концентрация) ядовитого вещества	26
3.2. Виды, классификация, клинические стадии отравлений	27
3.3. Пути поступления ядов в организм	28
3.4. Всасывание ядовитых веществ	28
3.5. Распределение ядов в организме	31
3.6. Особенности токсического действия некоторых ядовитых веществ	32
Глава 4. Биотрансформация ксенобиотиков в организме человека и животного	37
4.1. Понятие о «летальном синтезе»	37
4.2. Процессы превращения веществ в организме (I фаза метаболизма)	39
4.3. Конъюгация ксенобиотиков и метаболитов (II фаза метаболизма)	45
4.4. Факторы, влияющие на метаболизм ксенобиотиков	50
4.5. Выведение ксенобиотиков и их метаболитов из организма	53
4.6. Возможные превращения ксенобиотиков в трупах, образование трупных ядов (птомаинов)	55
Глава 5. Основные методы детоксикации организма при острых отравлениях	59
5.1. Усиление естественной детоксикации организма	59
5.2. Методы искусственной детоксикации организма	61
5.2.1. <i>Интракорпоральные методы детоксикации</i>	62
5.2.2. <i>Экстракорпоральные методы детоксикации</i>	62
5.3. Методы антидотной терапии	64
Глава 6. Выбор методов изолирования ядовитых веществ	70
6.1. План проведения химико-токсикологического анализа	70
6.2. Характеристика объектов химико-токсикологического анализа	76
6.3. Подготовка объектов к изолированию ядовитых веществ	78
6.4. Изолирование токсических веществ путем экстракции и сорбции	80
6.4.1. <i>Изолирование лекарственных и наркотических веществ амфифильными растворителями</i>	89
6.4.2. <i>Изолирование подкисленной водой</i>	90
6.4.3. <i>Изолирование подщелоченной водой</i>	92
6.4.4. <i>Изолирование наркотических и одурманивающих веществ из мочи твердофазной экстракцией</i>	92
6.4.5. <i>Экстракция органическими растворителями</i>	93
6.4.6. <i>Экстракция водой в сочетании с диализом</i>	95
6.5. Методы минерализации	95
6.5.1. <i>Методы «мокрой минерализации»</i>	96
6.5.2. <i>Метод минерализации для обнаружения ртути в объекте</i>	98
6.5.3. <i>Методы «сухого озоления»</i>	99

6.6. Методы изолирования «летучих» ядов	100
6.6.1 Метод перегонки с водяным паром	100
6.6.2 Методы «микрперегонки» и микродиффузии	104
Глава 7. Методы обнаружения ядовитых веществ в извлечениях из объектов	105
7.1. Методы предварительного анализа	109
7.1.1 Понятие об аналитическом скрининге в химико-токсикологическом анализе ..	109
7.1.2 ТСХ-скрининг в нормально-фазовом варианте	110
7.1.3. ТСХ-скрининг в варианте «Toxi-Lab AB»	116
7.1.4. ТСХ-скрининг в обращенно-фазовом варианте (ОФТСХ)	117
7.1.5. Внутригрупповой ТСХ-скрининг в частных системах растворителей	118
7.1.6. Газожидкостная хроматография	119
7.1.7. Иммунохимические методы скрининга лекарственных и наркотических веществ	124
7.1.8. Аналитический скрининг с помощью химических реакций	128
7.2. Методы подтверждающего анализа	129
7.2.1. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ)	129
7.2.2. Методы ИК- и УФ-спектроскопии	131
7.2.3. Хроматомасс-спектрометрия	136
7.2.4. Люминесцентный метод анализа	138
7.2.5. Микрокристаллокопический метод	139
7.2.6. Фармакологические (физиологические) пробы	140
7.2.7. Фармакогностический анализ	141
Глава 8. Обнаружение и определение индивидуальных лекарственных и наркотических веществ	142
8.1. Производные пиримидин-2,4,6-триона (барбитураты)	142
8.2. Производные 1,4-бензодиазепина	158
8.3. Производные фенотиазина	167
8.4. Производные пиразола	173
8.5. Производные пурина	181
8.6. Производные фенилалкиламина	184
8.7. Каннабиноиды	193
8.8. Производные индола и некоторые галлюциногены	198
8.8.1. Алкалоиды чилибухи	198
8.8.2. Производные индола – галлюциногены	204
8.8.3. Фенциклидин и его аналоги (галлюциногены)	206
8.9. Опииаты и опиоиды	209
8.9.1. Алкалоиды мака снотворного и их синтетические аналоги	209
8.9.2. Опиоиды	225
8.9.3. Количественное определение опиатов и опиоидов	230
8.10. Производные тропана	232
8.11. Производные пиридина и пиперидина	244
8.12. Производные хинолина	252
8.13. Производные п-аминобензойной кислоты	256
Глава 9. Методы обнаружения и определения «летучих» ядов	262
9.1. Обнаружение спиртов (C ₁ –C ₃) с помощью газожидкостной хроматографии	262
9.2. Газохроматографический метод обнаружения хлорорганических и ароматических углеводородов	263
9.3. Количественное определение «летучих» ядов с помощью газожидкостной хроматографии	264
9.4. Обнаружение и определение «летучих» ядов с помощью химических реакций	265
9.4.1 Синильная кислота	266
9.4.2 Формальдегид	270
9.4.3 Этиловый спирт	273
9.4.4 Метиловый спирт	279
9.4.5. Амилловые спирты	281
9.4.6 Алкилгалогениды	284
9.4.7 Ацетон (пропанон, диметилкетон)	289

9.4.8. Фенол (карболовая кислота)	291
9.4.9. Крезолы (метилфенолы, гидрокситолуолы)	294
9.4.10. Хлористый этилен (1,2-дихлорэтан)	296
9.4.11. Этиленгликоль	299
9.4.12. Кислота уксусная	302
Глава 10. Группа «металлических» ядов	305
10.1. Понятие об атомно-абсорбционной спектрометрии	305
10.2. Понятие об атомно-флуоресцентном анализе	307
10.3. Понятие об атомно-эмиссионном анализе	308
10.4. Понятие о рентгено-флуоресцентном анализе	309
10.5. Дробный (химический) метод анализа «металлических» ядов в минерализате	309
10.5.1. Соединения свинца	310
10.5.2. Соединения бария	313
10.5.3. Соединения марганца	316
10.5.4. Соединения хрома	318
10.5.5. Соединения серебра	321
10.5.6. Соединения мышьяка	324
10.5.7. Соединения меди	330
10.5.8. Соединения висмута	333
10.5.9. Соединения цинка	336
10.5.10. Соединения сурьмы	339
10.5.11. Соединения таллия	341
10.5.12. Соединения кадмия	343
10.5.13. Соединения ртути	346
Глава 11. Группа пестицидов	350
11.1. Общая характеристика пестицидов	350
11.2. Химико-токсикологическое значение и анализ хлорорганических пестицидов	351
11.2.1. Гексахлорциклогексан (ГХЦГ)	352
11.2.2. Гептахлор	356
11.2.3. Токсикологическое значение других хлорорганических пестицидов	357
11.3. Химико-токсикологическое значение и анализ фосфорсодержащих пестицидов	358
11.3.1. Характеристика некоторых фосфорсодержащих пестицидов	358
11.3.2. Методы изолирования и обнаружения фосфорсодержащих пестицидов	361
11.3.3. Методы количественного определения фосфорорганических пестицидов	364
11.4. Химико-токсикологическое значение и анализ эфиров карбаминовой кислоты	365
11.5. Химико-токсикологическое значение и анализ пиретроидов	368
11.6. Неорганические ядохимикаты и органические препараты ртути	373
11.6.1. Гранозан (этилмеркурхлорид)	373
11.6.2. Фториды и кремнефториды	375
11.6.3. Фосфид цинка	378
Глава 12. Некоторые ядовитые газы	380
12.1. Оксид углерода(II)	380
12.2. Хлор	385
Глава 13. Минеральные кислоты, едкие щелочи и некоторые соли, извлекаемые из объекта водой	386
13.1. Общая характеристика и токсикологическое значение	386
13.2. Исследование диализата на минеральные кислоты	388
13.3. Исследование диализата на нитриты и нитраты	391
13.4. Исследование диализата на едкие щелочи и аммиак	392
Заключение	394
Литература	395
Алфавитный указатель	398

*Памяти заслуженного деятеля науки РСФСР,
доктора биологических наук, профессора
М.Д.Швайковой и кандидата фармацевтических
наук, доцента Е.А.Грязновой посвящается*

ПРЕДИСЛОВИЕ

Токсикологическая химия является прикладной химической наукой, занимающей видное место в ряду химических дисциплин. Она теснейшим образом связана с повседневной практикой, поскольку без данных химико-токсикологического анализа невозможно грамотное проведение лечебных мероприятий при токсических явлениях у живых лиц или достоверного заключения при смертельных отравлениях. Данные химико-токсикологического анализа требуются при решении правовых и других важных вопросов.

Распространение наркомании и токсикомании в обществе, синтез новых химических соединений, обладающих наркотическим или психотропным действием, поставили задачу подготовки специалистов, имеющих навыки работы в области химико-токсикологического анализа биологических жидкостей на присутствие наркотических и токсических веществ с целью распознавания возможного отравления или наркотического (токсикоманического) опьянения.

Все рассматриваемые в учебнике вещества были отобраны с учетом их токсикологического значения.

Некоторые вопросы токсикологической химии тесно связаны с превращением токсических веществ в организме, поэтому в каждой группе веществ уделено достаточно внимания биотрансформации и фармакокинетике чужеродных соединений в организме человека, а также превращению токсических веществ в трупном материале.

В учебнике обобщены и теоретически обоснованы методы изолирования токсических и наркотических веществ, а также методы очистки извлечений из биологических объектов с учетом физико-химических свойств исследуемых соединений.

При подготовке учебника автор стремился приблизиться к современному уровню развития токсикологической химии и при этом сохранить опыт предшественников, накопленный более чем за 200 лет и имеющий большое практическое значение при подготовке современного провизора.

Многие химические и инструментальные методы анализа, которые используются при исследовании объектов химико-токсикологического анализа, даны в кратком изложении, так как они изучаются студентами в курсе аналитической, фармацевтической химии и др.

Эта книга предназначена в качестве учебника для студентов фармацевтических вузов и факультетов. Можно надеяться, что она будет полезна для практических работников и преподавателей.

При написании учебника автор опирался на собственный опыт работы в судебно-химическом отделении Бюро судебно-медицинской экспертизы, а также на длительный опыт преподавания токсикологической химии.

Автор стремился представить основные принципы химико-токсикологического анализа в строгой и краткой форме, однако не потерять при этом ясности и последовательности изложения.

Автор выражает благодарность коллегам и студентам, которые вдохновили его на этот труд.

Особая благодарность рецензентам – доктору фармацевтических наук, профессору Ф.А.Халиуллину и кандидату фармацевтических наук, доценту Т.Л.Малковой за ценные указания и замечания, которые во многом способствовали улучшению учебника.

Все критические замечания будут приняты автором с благодарностью.

Глава 1. СТАНОВЛЕНИЕ И РАЗВИТИЕ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ

1.1. Судебная медицина и судебная химия в XVII–XIX столетиях

Токсикологическая химия возникла из потребностей судебной медицины и токсикологии с целью обнаружения и определения ядовитых веществ в органах и биологических жидкостях человека в случае отравления. Поэтому длительное время учебная дисциплина в вузах изучалась как судебная химия.

Основное содержание *судебной медицины* составляет изучение вопросов медицинского и биологического характера, возникающих в правовой практике. Она устанавливает и изучает различные виды внешнего насилия на организм (механического, термического, химического и др.) и дает заключение о причине гибели или болезненного состояния человека. Вскрытие погибших выявляет причины и обстоятельства смерти, помогает раскрыть или исключить преступление и поэтому играет важную роль в судебном следственном процессе. В том случае, когда происходит отравление, картина вскрытия не всегда ясна, и для заключения о причине смерти судебному медику необходимы данные химического анализа по содержанию ядовитых веществ во внутренних органах трупа. Такие исследования проводятся с помощью судебно-химического анализа.

Токсикология (от греч. *toxikon* – яд и *logos* – учение) – это область медицины, изучающая физические и химические свойства ядов, механизмы их действия на живые организмы, признаки отравлений, изыскивающая средства их профилактики и лечения, а также формы полезного использования токсического действия ядов.

В роли яда может оказаться практически любое химическое соединение, попавшее в организм и способное вызвать нарушение жизненно важных функций, создать опасность для жизни. В зависимости от того, в каком количестве действует то или иное вещество, оно может являться или индифферентным для организма, или лекарством, или ядом. В этом смысле понятно изречение основоположника ятрохимии **Парацельса (1493–1541 гг.)** «*Все есть яд и ничто не лишено ядовитости, одна лишь доза делает яд незаметным*». С ним созвучны слова великого поэта Рудаки (около 860–941 гг.)

*«Что ныне снадобьем сльвет, то завтра станет ядом
И что ж? Лекарством этот яд сочтут больные»*

Многие важные задачи, стоящие перед токсикологией, связанные с установлением причины отравления и выбором эффективных методов детоксикации, решаются с помощью методов химико-токсикологического анализа.

Накопление знаний в области медицины, токсикологии создало основу для выделения судебной (токсикологической) химии в самостоятельную научную дисциплину и дальнейшего ее развития.

Первые исследования судебно-химического характера проводились в России в XV веке. Химических лабораторий по анализу ядов в то время не было, анализы имели эпизодический характер и выполнялись часто в аптеках.

В XVII столетии в России административное руководство фармацией осуществлялось *Аптекарским приказом*. В его ведении была лаборатория, в которой изготовлялись лекарственные препараты, напитки, водка и изредка проводились химические, судебно-химические и другие виды анализов.

Судебно-химическая и судебно-медицинская экспертиза стали официальными в начале XVIII века. В 1714 г. Петр I издал *Воинский устав*, по которому всех людей, погибших насильственной смертью, необходимо было подвергать вскрытию. С 1737 г. начали производиться судебно-медицинские исследования.

В 1748 г. *М.В. Ломоносовым* была создана первая русская химическая лаборатория, в которой было положено начало химического анализа.

В 1797 г. были учреждены врачебные управы, в которых штатным фармацевтам вменялось в обязанность проводить химические исследования и открытие ядов. Однако специальных лабораторий при врачебных управах не было, и анализы велись в аптеках или в приспособленных помещениях.

До начала XIX века судебная химия практически не была связана с фармацевтическим образованием, поэтому не было ни специальных методов, ни специальных руководств по судебно-химическому анализу.

В 1808 г. при медицинском факультете Московского университета и в Петербурге при Медико-хирургической академии были открыты фармацевтические отделения, введен предмет «фармация», в программе которого уделялось внимание токсикологии и открытию ядов. Позже были созданы фармацевтические отделения и при других университетах. Первое упоминание о выделении судебной химии в число самостоятельных курсов имеется в обозрении лекций Юрьевского (Дерптского, ныне Тартуского) университета в 1894 г.

С развитием фармацевтического образования в России выросли кадры ученых, труды которых обогатили судебную химию новыми методами анализа, появились учебники и руководства по судебной химии. Назовем фамилии некоторых ученых, которые внесли заметный вклад в развитие судебной химии.

А.П. Нелюбин (1785–1858 гг.) – заведующий кафедрой фармации Медико-хирургической академии Петербурга. Он впервые высказал мысль о том, что «металлические» яды связываются с «белковатыми» веществами в организме. Им предложен метод изолирования металлов путем разрушения объекта концентрированной азотной кислотой, а также способ обнаружения мышьяка переводом его в арсин. Свой большой опыт в области судебно-химического анализа Нелюбин обобщил в работах *«Правила для руководства врача при исследовании отравления»* и *«Общая и частная судебно-медицинская и полицейская химия с присовокуплением общей токсикологии или науки о ядах и противоядных средствах»*.

А.А. Иовский (1796–1857 гг.) – профессор Московского университета, автор 40 работ. Он издал *«Руководство к распознаванию ядов, противоядий и важнейшему определению первых как в организме, так и вне оною посредством химических средств, названных реактивами»*. Это руководство сыграло большую роль в подготовке судебных химиков, хотя в нем отсутствовали описания частных методов изолирования и открытия ядов.

Ю.К. Гранн (1814–1908 гг.) работал в Медико-хирургической академии, проводил многочисленные анализы объектов на содержание ядов, занимался криминалистическими экспертизами. Написал книги *«Руководство для первых пособий при отравлении и для химического исследования ядов»* и *«Наставление к судебно-химическому исследованию»*.

Г. Драгендорф (1836–1898 гг.) – профессор Дерптского (Тартуского) университета. Он проработал в России 32 года, выделил судебную химию в самостоятельную науку и читал лекции по ней. Книга Г. Драгендорфа *«Судебно-химическое открытие ядов»* выдержала 4 издания. Он предложил реактивы для обнаружения алкалоидов и занимался вопросами изолирования алкалоидов из биологических объектов. «Реактив Драгендорфа» используется и в настоящее время в фармацевтической и токсикологической химии.

Г.В. Струве (1822–1908 гг.) – предложил реакции обнаружения соединений мышьяка и фосфора с молибдатом аммония, внес изменения в методику обнаружения цианидов,

морфина, стрихнина и др. Он выполнял очень сложные экспертизы по обнаружению ядов в биологическом материале.

А. П. Дианин (1851–1918 гг.) – работал более 30 лет в Медико-хирургической академии, выполнил около 5 тыс. анализов и был первым главным судебно-химическим экспертом России.

На развитие судебной химии, как и на развитие химии вообще, оказали большое влияние труды **Д. И. Менделеева, Т. Е. Ловица, Н. Н. Зинина, Ю. Ф. Фрицше** и др.

1.2. Судебная химия в России в XX столетии

Открытие новых законов и положений в фундаментальных науках, прежде всего химии, сказалось и на развитии судебной химии.

Благодаря достижениям в области биологии, биохимии, органической, неорганической, аналитической, физической химии в теорию и практику судебной химии внедрены различные виды хроматографии (бумажная, тонкослойная, ГЖХ, ВЭЖХ, гельхроматография), электрофорез, практически все виды спектрального и иммунохимического анализа.

Социальные изменения в России после 1917 г. внесли изменения в организацию здравоохранения, в судебно-медицинскую и судебно-химическую службу страны, которые стали неотъемлемой частью правосудия.

В 1918 г. при Наркомате здравоохранения России, при губернских органах здравоохранения были созданы отделы по судебно-медицинской экспертизе, учреждены должности судебно-медицинских экспертов, утверждено *«Положение о правах и обязанностях государственных судебно-медицинских экспертов»*.

На всей территории страны началось создание судебно-медицинских лабораторий с судебно-химическими отделениями при них. Эти лаборатории стали оснащаться необходимым оборудованием, комплектоваться специалистами.

В 1920 г. создаются кафедры судебной химии на химико-фармацевтическом факультете II Московского государственного университета и в Петроградском химико-фармацевтическом институте.

В начале 1924 г. открыта Центральная судебно-медицинская лаборатория, которая в 1932 г. совместно с кафедрами судебной медицины 1-го и 2-го Московских медицинских институтов была преобразована в Государственный научно-исследовательский институт судебной медицины (ГНИИСМ) МЗ СССР с судебно-химическим отделом.

В 1934 г. были утверждены *«Правила судебно-медицинского и судебно-химического исследования вещественных доказательств»*, которые действительно и в настоящее время, хотя они постоянно обновляются и перерабатываются.

В 1937 г. при Наркомздраве СССР была введена должность Главного судебно-медицинского эксперта для руководства судебно-медицинской и судебно-химической экспертизой в нашей стране.

В 1951 г., наряду с НИИ судебной медицины, было создано республиканское бюро Главной судебно-медицинской экспертизы (БГСМЭ) с подчинением МЗ РСФСР. Оба учреждения внесли большой вклад в развитие и совершенствование судебно-медицинской и судебно-химической службы в стране.

В 1995 г. НИИСМ и БГСМЭ были объединены под наименованием «Республиканский центр судебно-медицинской экспертизы Министерства здравоохранения и медицинской промышленности Российской Федерации» (РЦСМЭ). В этом центре были выделены химико-токсикологический отдел и судебно-химическое отделение.

В 2005 г. РЦСМЭ был переименован в *«Федеральное государственное учреждение «Российский центр судебно-медицинской экспертизы Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»*. Директором центра в настоящее время является профессор В. А. Клевно. Зав. отделом химико-токсикологических и судебно-химических научных и экспертных исследований стал доктор фармацевтических наук Е. М. Саломатин.

Основной задачей этого центра является научная организация судебно-медицинской экспертизы в стране. Методы судебно-медицинской и судебно-химической экспертизы, разрабатываемые в центре, а также в других учреждениях, в том числе медицинских и фармацевтических высших учебных заведениях, проходят апробацию в центре, после чего становятся ведомственными нормативными документами и внедряются в практику в виде методических материалов.

Центр выполняет также большой объем экспертной работы. Это лабораторные и повторные комиссионные экспертизы по особо сложным уголовным и гражданским делам.

В центре проводятся профессиональная подготовка и повышение квалификации судебно-медицинских и судебно-химических экспертов через тематические циклы, аспирантуру, циклы усовершенствования по определенным видам их профессиональной деятельности и т.д.

В развитие судебной химии в Советском Союзе и России видный вклад внесли многие ученые.

А.В. Степанов (1872–1946 гг.) – магистр фармации, доктор биологических наук, заслуженный деятель науки РСФСР. Он внес большой вклад в становление судебной химии в советский период, был организатором Московского фармацевтического института, где являлся заместителем директора по научной части и первым деканом. Более 45 лет проработал в области судебной химии, выполнял многочисленные судебно-химические экспертизы, создал школу химиков-экспертов для практической, научной, педагогической работы в области судебно-химического, химико-криминалистического анализа.

В 1920 г. он создал первую в СССР кафедру судебной химии на фармацевтическом факультете 2-го Московского государственного университета. С 1932 г. возглавлял судебно-химический отдел ГНИИСМ.

А.В. Степановым написано около 100 научных работ по органической, судебной, криминалистической и промышленно-санитарной химии, а также учебники по аналитической, органической и судебной химии. Руководство «*Судебная химия (токсикологический анализ) и определение профессиональных ядов*» выдержало 4 издания и являлось учебником для студентов фармацевтических вузов страны многие годы. А.В. Степанов был прекрасным педагогом, методистом, блестящим экспертом и крупным ученым. До конца своей жизни он принимал самое активное участие во всех организационных мероприятиях, направленных на повышение качества судебно-химических экспертиз.

А.В. Степановым разработаны: метод окисления органических соединений серной кислотой и нитратом аммония при судебно-химических исследованиях, ускоренный метод изолирования алкалоидов из растительного сырья (совместно с М.Д. Швайковой), способ определения галогенов в органических соединениях и др.

М.Д. Швайкова (1905–1978 гг.) – профессор, заслуженный деятель науки РСФСР, ученица и соратник А.В. Степанова. В течение 28 лет она проработала химиком-экспертом в Центральной судебно-медицинской лаборатории г. Москвы, а затем в ГНИИСМ, где заведовала судебно-химическим отделом до 1959 г.

Практическую и научную деятельность М.Д. Швайкова совмещала с педагогической работой. Она организовала кафедру судебной химии в Московском фармацевтическом институте и возглавляла ее до 1976 г.

Научные интересы и исследования М.Д. Швайковой были непосредственно связаны с вопросами экспертной практики. Ею опубликовано свыше 130 научных работ. Она является основоположником внедрения в практику судебно-химического анализа микрокристаллоскопических реакций, в частности на кокаин, акрихин, анабазин, аконитин и др. Совместно с А.В. Степановым она разработала метод изолирования алкалоидов из растительных объектов (1943 г.). Ее многочисленные ученики занимались изучением методов изолирования и анализа в биологических объектах различных ядовитых соединений. Известны работы А.Н. Крыловой, Ф.В. Зайковского, Н.А. Павловской, М.М. Мустафаева, Г.И. Кудымова по изолированию и анализу «металлических ядов». Исследованию барбитуратов и производных 1,4-бензодиазепина посвящены разработки Б.Н. Изотова,

К.П.Лапиной, Е.Д.Зинаковой, Н.В.Волковой. Методики анализа трупного материала на сердечные гликозиды предложены Л.М.Власенко, на пестициды – Н.А.Горбачевой, А.Т.Икрамовым, Б.Н.Изотовым, на производные фенотиазина – Е.М.Саломатиным.

М.Д.Швайковой написан учебник *«Судебная химия»*, выдержавший 3 издания (последнее издание – под названием *«Токсикологическая химия»*, 1975 г.) и переведенный на иностранные языки.

М.Д.Швайкова особое внимание в своей деятельности отводила подготовке кадров для экспертной и педагогической работы. По ее убеждению, *«весь исторический опыт не только нашей страны, но и зарубежных стран показал, что должность судебных химиков могут занимать только лица, имеющие высшее фармацевтическое образование и обладающие специальной подготовкой по судебной химии»*.

М.Д.Швайковой вместе с ее многочисленными учениками выполнено более 300 научных исследований. Под ее руководством защищено 39 кандидатских и 6 докторских диссертаций в области судебно-химического и химико-токсикологического анализа. В этих работах были решены конкретные задачи судебно-химической экспертизы, в том числе и по внедрению в практику новых методов анализа.

М.Д.Швайкова принимала активное участие в проведении специализации судебных химиков-экспертов.

А.Ф.Рубцов (1918–1991 гг.) – ученик и продолжатель дела А.В.Степанова. В 1959 г. возглавил судебно-химический отдел ГНИИСМ. А.Ф.Рубцов был высококвалифицированным специалистом в области судебно-химического анализа, обладал большой эрудицией, был умелым руководителем и организатором, пользовался большим авторитетом среди фармацевтов, судебных химиков и судебно-медицинских экспертов.

А.Ф.Рубцов – автор более 130 научных работ. Одной из своих задач А.Ф.Рубцов считал координацию научных исследований в области судебно-химического анализа. Под его руководством были разработаны методы изолирования и определения в трупном материале «металлических ядов», сердечных гликозидов, фосфорорганических пестицидов, производных фенотиазина, морфинана и др. А.Ф.Рубцов был прекрасным педагогом, он подготовил большую группу экспертов, в том числе 2 докторов и 9 кандидатов наук по судебно-химическому анализу.

Большое внимание А.Ф.Рубцов уделял внедрению научных разработок и достижений в практику судебно-химического анализа. Его заслугой является внедрение в практику судебно-химических лабораторий страны газохроматографического метода определения спирта в крови и моче, что позволило значительно улучшить экспертизу отравления алкоголем и его суррогатами. Экспертная работа А.Ф.Рубцова была направлена на проведение особо сложных, повторных и комиссионных экспертиз.

Б.Н.Изотов – профессор, ученик М.Д.Швайковой, с 1976 г. – заведующий кафедрой токсикологической химии ММА им. И.М.Сеченова. Научные интересы Б.Н.Изотова – химико-токсикологический анализ лекарственных и наркотических средств, элементарно-органических соединений. По этим проблемам им опубликовано более 180 научных работ. Б.Н.Изотовым и его учениками разработан хроматографический скрининг лекарственных соединений, предложена методика газо-хроматографического определения органических ядов, изучены процессы метаболизма некоторых лекарственных веществ в организме человека и их превращение в трупе, определены возможности обнаружения контролируемых соединений в биологических объектах, моче, волосах человека, предложены иммунохимические методы для анализа наркотических веществ в моче, разработаны хроматографические методы анализа, хромато-масс-спектрометрия и др. применительно к целям химико-токсикологического анализа.

Главное в работах Б.Н.Изотова – это использование современных методов в химико-токсикологическом анализе. По этой теме он написал 5 монографий и ряд методических пособий для студентов.

Б.Н.Изотов с 1987 по 1991 годы был главным специалистом МЗ СССР по аналитической диагностике наркотических средств и психотропных веществ. В настоящее время он руко-

водит Научно-учебно-методическим Центром по аналитической токсикологии МЗ и СР РФ. С 1998 г. Б.Н.Изотов – главный специалист МЗ РФ по аналитической токсикологии.

В. Ф. Крамаренко (1916–1998 гг.) – профессор, заведующий кафедрой аналитической и токсикологической химии Львовского медицинского института. Им, его учениками и сотрудниками кафедры изучены оптимальные условия экстракции и изолирования из биологических объектов алкалоидов, их синтетических аналогов и барбитуратов. Профессор В.Ф.Крамаренко является автором более 200 работ, посвященных применению химических, физических и физико-химических методов анализа (фотоколориметрия, спектрофотометрия, хроматография в тонких слоях сорбента, гель-хроматография, газожидкостная хроматография и др.) в токсикологической химии. Им предложен метод выделения алкалоидов из биологического материала, основанный на изолировании их водой, подкисленной серной кислотой. Профессором В.Ф.Крамаренко написан ряд руководств в области судебно-химического анализа ядохимикатов, учебник и практикум по токсикологической химии.

Определенный вклад в развитие судебно-химического и химико-токсикологического анализа внесли преподаватели токсикологической химии высших учебных заведений в Барнауле, Курске, Перми, Пятигорске, Санкт-Петербурге, Ташкенте. Разработки, выполненные в этих вузах, внедрены в практику работы судебно-химических лабораторий страны.

Достижения в области химико-токсикологического анализа определяются развитием химических, фармацевтических, биологических и медицинских наук. Новые методы химического анализа находят широкое применение в практике токсикологической химии.

Современные методы судебно-химического (химико-токсикологического) анализа обладают достаточной селективностью и чувствительностью и позволяют эффективно решать самые сложные задачи.

1.3. Основные направления развития токсикологической химии

В 1960–1980-е годы во многих странах получила бурное развитие химическая промышленность, внедрение химических технологий во многие отрасли народного хозяйства и в сферу быта.

В современных условиях невозможно представить ни один вид человеческой деятельности, прямо или косвенно не связанный с влиянием на организм химических веществ, число которых составляет десятки тысяч. Среди них ядохимикаты, предметы бытового назначения (краски, лаки, растворители, технические жидкости, синтетические моющие средства), лекарственные вещества, косметические средства, химические добавки к пищевым продуктам и др. Их распространение привело к загрязнению окружающей среды, серьезной угрозе здоровью населения.

В связи с этим, по данным *Всемирной организации токсикологических центров*, в мире сформировалась **«токсическая ситуация»**, которая привела к росту числа отравлений, зарегистрированных во всех странах.

Особое беспокойство вызывают детские отравления, связанные с легкой доступностью различных химических средств, в том числе лекарственных, в домашних условиях. Реакция детского организма на токсиканты во много раз сильнее, чем у взрослых людей, в связи с незрелостью биологических систем и продолжающимся их развитием.

В последние годы отмечается рост числа отравлений алкоголем и его суррогатами за счет чрезмерного потребления в России крепких алкогольных напитков. Они занимают ведущее место среди бытовых отравлений в нашей стране. Более 60% всех смертельных отравлений обусловлено данной причиной, причем 98% летальных исходов наступает до оказания пострадавшим медицинской помощи.

Злоупотребление алкоголем – важнейшая проблема общественного здоровья России. В 2004 г. регулярно употребляли алкоголь около 70% мужчин, 47% женщин и 30% подростков. По данным российского мониторинга экономического положения и здоровья на-

селения (2005 г.), потребление алкоголя в стране составило 14,5; 2,4 и 1,1 л в год в пересчете на чистый спирт соответственно у мужчин, женщин и подростков, или в среднем 11–13 л на душу взрослого населения. В 2005 г. смертность в результате случайного отравления алкоголем составляла 28,6 на 100 тыс. человек. Алкоголь – сильное психотропное вещество, и прием 400 г даже качественного спирта в течение часа может привести к смертельному исходу.

Острые отравления лекарственными средствами связаны в основном с самолечением и суицидами. Среди «бытовых химических болезней» в большинстве стран мира лекарственные вещества занимают основное место. Среди них препараты психотропного действия: производные барбитуровой кислоты, 1,4-бензодиазепина, фенотиазина и др. Часто такие отравления носят смешанный, или комбинированный характер вследствие специального или с суицидальной целью приема внутрь нескольких видов лекарственных веществ.

Злободневным вопросом выступают токсикологические аспекты наркоманий, токсикоманий и передозировок «нелегальных» препаратов. Наркомания – тяжелая болезнь, приводящая к расстройству психики и к физическому истощению организма. Лица, которые употребляют наркотические средства, очень быстро погибают (опийная и героиновая наркомания приводит к смерти в течение 2–5 лет). Люди, употребляющие наркотики внутривенно, имеют риск смерти в 20 раз выше по сравнению с общей популяцией. Наркоманы социально опасны, так как ради получения новой дозы препарата способны совершать различные преступления.

В России проблема злоупотребления наркотиками из медицинской и социальной выросла до проблемы государственной безопасности. По данным *Российской Академии медицинских наук*, число людей, потребляющих наркотики в нашей стране, возросло в течение последних 10 лет в 2,5 раза.

Употребление наркотических средств приводит как к острым отравлениям из-за передозировки принимаемого вещества, так и к возникновению психической и физической зависимости от наркотика или токсического средства.

В последние годы возросло количество химических соединений, используемых для усиления или получения наркотического эффекта, расширилось число кустарно изготавливаемых средств, обладающих наркотическим действием, путем синтеза или извлечения из растительного сырья.

В сложившейся «токсической» ситуации задачи судебной химии значительно расширились. Увеличилось число объектов судебно-химического анализа, так как появились многочисленные новые ядовитые вещества и новые объекты домашнего обихода, которые становятся источниками токсических веществ.

Остро встал вопрос определения ядовитых, наркотических и сильнодействующих веществ в биологических жидкостях организма пострадавшего человека (в крови, моче) в процессе проведения различных методов детоксикации и оценки их эффективности.

Поэтому *судебная химия* была переименована в *токсикологическую химию* и осталась одним из больших и важных направлений ее развития.

Проблема увеличивающегося числа острых отравлений поставила перед органами здравоохранения ряд сложных задач информационного, профилактического и аналитического характера.

Для профилактики и успешной борьбы с отравлениями людей и животных различными химическими соединениями, разработки гигиенических регламентов применения этих веществ необходимо знать их биотрансформацию (пути метаболизма), определять токсические и летальные дозы. Многие эти вопросы решаются с помощью методов химико-токсикологического анализа.

Значение токсикологической химии не исчерпывается решением задач, связанных только с установлением причин отравлений.

Совместные исследования и заключения химиков, токсикологов, гигиенистов, фармакологов о высокой токсичности отдельных фармацевтических препаратов и веществ,

используемых в хозяйстве, позволяют поставить вопрос об изъятии этих веществ из употребления или изменении порядка их отпуска населению.

Данные химико-токсикологического и санитарно-гигиенического анализа воздуха, сточных вод промышленных предприятий, содержащих токсические вещества, являются основанием для строительства или реконструкции очистных сооружений.

С помощью методов химико-токсикологического анализа устанавливаются и контролируются предельно допустимые концентрации (ПДК) ядовитых веществ в воде и воздухе, а также нормирование остаточных количеств пестицидов и токсических веществ в продуктах питания.

Таким образом, токсикологическая химия имеет не только прикладное значение, но и определенную профилактическую направленность.

1.4. Токсикологическая химия в фармацевтическом образовании

Токсикологическая химия – дисциплина, изучающая методы изолирования, обнаружения и количественного определения веществ, которые являются ядами и могут оказать токсический эффект на организм человека.

Овладение основами токсикологической химии, определенными теоретическими знаниями и практическими умениями необходимо провизору, прежде всего для того, чтобы иметь представление о возможном токсическом действии многих лекарственных веществ, а также путей детоксикации и профилактики отравлений. Особенно важно это в тех случаях, когда провизор связан с отпуском и хранением наркотических и психотропных средств. Кроме того, основы токсикологической химии необходимы провизору для дальнейшей специализации в области судебно-химической, санитарно-гигиенической экспертизы, клинической токсикологии, наркологии, криминалистики, экологии и др.

Токсикологическая химия является прикладной дисциплиной и базируется на фундаментальных науках и других прикладных дисциплинах. Это общая химия, физиология, биологическая химия, фармакология, а также прикладные науки: фармацевтическая химия, аналитическая химия, фармакогнозия. Токсикологическая химия связана с указанными науками или общими объектами исследования, т.е. химическими соединениями (например, фармацевтическая химия, фармакология) или общими методами исследования (аналитическая химия), вопросы биотрансформации в токсикологической химии изучаются на базе биохимии и т.д. Поэтому естественно, что токсикологическая химия включена в программу фармацевтических высших учебных заведений, в которых студенты изучают указанные предметы.

Само собой разумеется, что токсикологическая химия тесно связана с судебной медициной, с которой она имеет прямую и обратную связь. Судебная медицина ставит задачи перед токсикологической химией и, на основании полученных результатов, делает соответствующие экспертные заключения. В то же время токсикологическая химия получает стимул для своего развития в соответствии с возрастающими задачами судебной медицины.

В программе по токсикологической химии 2003 г. выделены два основных раздела: *«биохимическая токсикология»* и *«аналитическая токсикология»*.

Вопросы токсического действия различных веществ на живой организм, кинетика их всасывания, пути метаболизма, транспорта, распределения по органам и тканям, выделения, превращения, связанные с первичным и вторичным метаболизмом изучаемых соединений, включены в раздел *«биохимическая токсикология»*

Особенности пробоподготовки объектов к анализу, изолирование ядовитых веществ из объектов, очистка извлечений и способы их концентрирования, правильное использование различных методов анализа, их рациональное сочетание, умение интерпретировать полученные результаты анализа выделены в раздел *«аналитическая токсикология»*.

1.5. Ядовитые вещества как предмет изучения токсикологической химии

Главной задачей токсикологической химии является доказательство наличия токсического вещества в различных объектах исследования.

Первым этапом исследования является выделение (изолирование) вещества из объекта анализа.

По способу выделения (изолирования) ядовитые вещества разделены на пять основных групп:

1. Группа веществ, выделяемых из объектов экстракцией и сорбцией: лекарственные, наркотические вещества и пестициды.
2. Группа веществ, выделяемых из объекта дистилляцией: «летучие» яды.
3. Группа веществ, выделяемых из объекта путем минерализации: «металлические» яды, соединения фтора.
4. Группа веществ, выделяемых из объекта экстракцией водой в сочетании с диализом: минеральные кислоты, щелочи, нитриты, нитраты.
5. Группа веществ, не требующих применения методов выделения (изолирования) их из объекта: вредные пары и газы, оксид углерода.

Такое деление следует считать условным по нескольким причинам. Некоторые вещества могут быть изолированы несколькими способами, и тогда выбор способа зависит от природы и состояния объекта. При наличии двух и более веществ, различающихся по физическим и химическим свойствам, и их метаболитов обычные способы изолирования, указанные выше, могут быть не всегда эффективными, а иногда и неприемлемыми.

1.6. Проблемы токсикологической химии

Непосредственной целью токсикологической химии как прикладной науки является разработка объективных методов обнаружения и количественного определения химических соединений, которые могут быть применены к объектам химико-токсикологического (судебно-химического) анализа.

Основные задачи, которые решает токсикологическая химия, можно определить следующим образом:

1. Разработка новых и усовершенствование применяемых методов изолирования и очистки извлечений из различных объектов на потенциально опасные для человека и животных химические соединения и их метаболиты.
2. Внедрение в практику химико-токсикологического анализа новых чувствительных и специфических реакций, методов обнаружения и количественного определения токсических веществ и их метаболитов.
3. Совершенствование и разработка методов судебно-химической экспертизы вещественных доказательств на ядовитые, сильнодействующие, наркотические и другие вещества.
4. Разработка экспресс-методов анализа биологических жидкостей с целью диагностики острых отравлений, выбора и коррекции методов их лечения.
5. Разработка новых методов анализа для аналитической диагностики алкогольного, наркотического и токсикоманического опьянения.
6. Оценка и необходимая информация степени токсичности и «токсической ситуации», связанной с поступлением чужеродных соединений в организм человека или животного.

Многие из перечисленных задач стояли перед токсикологической химией на протяжении столетия. Казалось бы, они должны были быть давно решены. Однако развитие химии и технологии включает в оборот все новые и новые соединения и ставит перед токсикологической химией задачи по их обнаружению и определению в различных биологических объектах.

Глава 2. ПРАВОВЫЕ ОСНОВЫ ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

2.1. Анализ вещественных доказательств (судебно-химическая экспертиза)

Задача: обнаружение и количественное определение ядовитых, сильнодействующих веществ в «вещественных доказательствах» и биологическом (трупном) материале. Согласно ст. 83 УПК РФ, под *«вещественными доказательствами подразумеваются все предметы, которые служили орудием преступления или сохранили на себе следы преступления, или были объектом преступных действий»*.

Цель анализа: получить объективные данные, необходимые для судебно-следственных органов при раскрытии преступлений.

Место проведения: бюро судебно-медицинской экспертизы (СМЭ). Как правило, бюро судебно-медицинской экспертизы состоит из отделов:

- судебно-медицинская амбулатория для освидетельствования живых лиц;
- морг для судебно-медицинского исследования трупов с гистологическим отделением;
- судебно-медицинская лаборатория, включающая отделения:
 - судебно-биологическое;
 - физико-техническое;
 - судебно-химическое отделение.

Специалисты: эксперты судебно-химического отделения бюро судебно-медицинской экспертизы, прошедшие специальную подготовку по токсикологической химии.

Проведение любой экспертизы в судебном процессе предусмотрено процессуальным кодексом. Согласно ст. 78 УПК РФ, *«экспертиза назначается в тех случаях, когда при производстве дознания, предварительного следствия и при судебном разбирательстве необходимы специальные познания в науке, технике, искусстве, ремесле»*.

Экспертом может быть любое лицо, обладающее необходимыми познаниями для дачи заключения. Вопросы, поставленные перед экспертом, и его заключение не могут выходить за пределы специальных познаний эксперта.

Обязанности эксперта судебно-химического отделения бюро СМЭ

- производство по предложению органов дознания, следствия и суда судебно-химических экспертиз;
- проведение химико-токсикологических анализов по направлениям судебно-медицинских экспертов, врачей токсикологических центров, наркологических диспансеров, санитарных служб;
- применение современных методов исследования с соблюдением минимальных сроков проведения анализа и использование методических, информационных и организационно-методических указаний *Российского центра судебно-медицинской экспертизы Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию (РЦСМЭ Росздрава)*;
- ответственность за квалифицированное и своевременное выполнение исследований;

- качественное ведение необходимой документации, составление заключений по результатам анализа в соответствии с действующими положениями;
- являться по вызову лица, производящего дознание, следователя, прокурора, суда и давать объективное заключение по поставленным вопросам или проведенному анализу;
- эксперт обязан всегда помнить о той большой ответственности, которую он несет, давая заключение по результатам анализа и отвечая на поставленные вопросы;
- повышать свой теоретический уровень и профессиональную квалификацию в соответствующих организациях не менее одного раза в 5 лет.

Права эксперта судебно-химического отделения бюро СМЭ

- знакомиться с материалами дела, относящимися к предмету экспертизы;
- заявлять ходатайство о предоставлении дополнительных материалов, необходимых для дачи заключения;
- с разрешения лица, производящего дознание, следователя, прокурора или суда присутствовать при производстве допросов, задавать вопросы, относящиеся к предмету экспертизы (ст. 82 УПК РФ).

В случае отказа или уклонения эксперта от выполнения своих обязанностей без уважительной на то причины или дачи заведомо ложного заключения, или неявки по вызову лица, производящего дознание, следователя, прокурора или суда предусматриваются меры согласно ст. 73 УПК РФ.

Искажение результатов анализа по некомпетентности эксперта или из корыстных побуждений, которое может привести к неправильному решению органа правосудия, предусматривает наказание согласно УПК РФ (ст. 307).

Объекты судебно-химического анализа, правила их изъятия и направления на исследование

Взятие объектов для проведения экспертных исследований в судебно-химическом отделении регламентируется приказом №161 от 24 апреля 2003 г. МЗ РФ «*Об утверждении инструкции по организации и производству экспертных исследований в Бюро судебно-медицинской экспертизы*».

С целью обнаружения и количественного определения ядовитых веществ для проведения судебно-химического исследования изымают и направляют различные внутренние органы, кровь, мочу с учетом природы предполагаемого яда, путей введения его в организм, распределения, путей и скорости выведения, длительности течения интоксикации и проведенных лечебных мероприятий. Направляют также рвотные массы, первые порции промытых вод, остатки пищи, напитков, лекарственных и химических веществ и другие объекты.

Внутренние органы и биологические жидкости направляют в количествах, достаточных для проведения судебно-химического исследования, и с учетом того, что 1/3 материала должна остаться в архиве для проведения повторных анализов.

При подозрении на отравление ядовитым веществом изымают комплекс внутренних органов: содержимое желудка, одну треть печени, желчь, одну почку, а также всю мочу (но не менее 200 мл) и 200 мл крови.

Каждый орган, кровь, мочу помещают в отдельные чистые и сухие стеклянные банки. При подозрении на введение яда через влагалище или матку необходимо дополнительно направлять на анализ в отдельных банках матку и влагалище. При подозрении на подкожное или внутримышечное введение направляют участок кожи и мышцы в предполагаемом месте введения вещества.

При подозрении на ингаляционное отравление изымают часть легкого из наиболее полнокровного участка и головной мозг по 300 г.

При обнаружении в содержимом желудка частей растений, крупинок, кристаллов, таблеток какого-либо вещества они также направляются на судебно-химическое исследование.

Если подозревается отравление конкретным химическим соединением, то на анализ направляются те органы, в которых это вещество депонируется, накапливается.

При необходимости, согласно Приказу МЗ РФ №161 от 24.04.2003, объекты консервируют только при подозрении на отравление сердечными гликозидами. Для этого используют спирт-ректификат, уровень которого над объектом должен быть не менее 1 см. Одновременно в судебно-химическое отделение направляют контрольную пробу спирта в количестве 300 мл, взятую из той же тары, что и для консервирования.

Банки герметично закрывают, на каждую наклеивают этикетку с необходимыми записями и помещают в опечатанный полиэтиленовый пакет или контейнер, который немедленно направляют для исследования.

Если подозревается отравление этанолом, задержка с транспортировкой может служить причиной недостоверных результатов его количественного определения.

При исследовании эксгумированного трупа на судебно-химический анализ направляют землю, взятую по 500 г из шести мест (над и под гробом, возле боковых его поверхностей, в головном и ножном концах), а также кусочки одежды, обивки, подстилки нижней доски гроба, украшения и предметы, найденные возле трупа.

Судебно-медицинский эксперт вместе с объектом направляет следующие **сопроводительные документы**:

- копию постановления о назначении судебно-медицинской экспертизы трупа;
- **направление** с основными данными исследования трупа, включая предполагаемый диагноз.

Для судебно-химического исследования могут быть направлены вещественные доказательства, изъятые с места происшествия. Эти объекты отбираются судебно-следственными органами, тщательно упаковываются, маркируются и опечатываются. Вместе с изъятими вещественными доказательствами в качестве сопроводительного документа направляется **постановление о назначении судебно-химической экспертизы**. В нем:

- указываются обстоятельства дела;
- перечисляются изъятые на анализ вещественные доказательства, указывается, как они были упакованы, текст на этикетке, цвет чернил надписи на этикетке, цвет и оттиск печати на упаковке;
- перечисляются вопросы, на которые должен ответить эксперт после проведения анализа.

Правила приема объектов на анализ

Эксперт должен быть уверен, что полученный на анализ объект – именно тот, который был направлен, и что в процессе транспортировки с ним не произошло никаких изменений, кроме естественных процессов. Поэтому при приеме объектов эксперт сравнивает описание в сопроводительном документе с тем, что ему было доставлено, проверяет целостность печати. Если нарушений не отмечено, то объект принимается на исследование.

Этапы судебно-химического анализа

Выбор объекта для исследования и его количества. Для анализа берут тот объект, в котором накапливается подозреваемое ядовитое вещество. Количество объекта для анализа 100 или 50 г. Иногда берут навеску 200 г, если прошел значительный промежуток времени от момента принятия яда до начала анализа. В разрабатываемых в последние годы методиках предлагается брать для анализа навеску 20 г, что связано с внедрением в практику химико-токсикологического анализа инструментальных методов, отличающихся высокой чувствительностью.

Выбор метода выделения яда из объекта зависит от природы предполагаемого вещества и основан на принятой в токсикологической химии классификации ядовитых веществ.

Очистка извлечений и концентрирование ядовитых веществ, выделенных из объекта.

Обнаружение ядовитого вещества и его количественное определение.

Судебно-химическая оценка полученных в процессе анализа результатов

Оформление акта судебно-химического анализа или заключения эксперта по результатам исследования.

Особенности судебно-химического анализа

1. *Многообразие ядов и объектов исследования* Объектами судебно-химического анализа могут быть все предметы, которые окружают человека, а также все, что содержится или выделяется организмом человека. Это биологические жидкости (кровь, моча, слюна), внутренние органы трупов людей и животных, волосы, ногти, пищевые продукты, напитки, предметы домашнего обихода, косметические средства, остатки лекарственных веществ, пестициды, предметы бытовой химии, посуда, воздух, земля, одежда и т.п. Эксперт, обладая соответствующими знаниями, умениями и навыками, обязан найти правильный подход к анализу любого объекта, чтобы дать объективное заключение по результатам исследования.
2. *Необходимость изолирования (извлечения)* из большой навески или объема объекта малых (часто следовых) количеств ядовитого вещества и его продуктов превращения, которое могло стать причиной отравления. От выбора метода изолирования зависит ход анализа и его результаты.
3. *Судебно-химический анализ* проводится чаще всего не с химически чистыми индивидуальными веществами, а смесями их с эндогенными соединениями и продуктами вторичного метаболизма, изолируемыми вместе с ядовитым веществом из биологических объектов. Эти соединения могут иметь общую структуру или свойства с ядовитым веществом и влиять на результаты анализа. Поэтому в процессе изолирования и перед анализом предусматривается использование различных способов очистки извлечений от примесей.
4. Многие вещества, на которые токсикология указывает как на ядовитые, являются составной частью организма человека и животного (например, микроэлементы). Они могут быть обнаружены в ходе исследования. Поэтому особенностью анализа является необходимость правильной оценки результатов и *исключение ложноположительных и ложноотрицательных заключений*.
5. *Изменение самого объекта* в зависимости от условий хранения. На анализ могут доставляться гнилостно-разложившиеся объекты. Анализ таких объектов затруднен присутствием трупных ядов (птомаинов).
6. *Ядовитые вещества* в трупе подвергаются различным превращениям под действием ферментов и бактерий.
7. *Анализ может быть общим (нецеленаправленным)*, когда необходимо провести исследование на неизвестное ядовитое вещество. В этом случае эксперт пользуется приказом МЗ СССР №1021 от 25.12.1973 г., в котором определены группы веществ, на которые необходимо провести исследование объекта. Анализ может быть *целенаправленным*, когда по обстоятельствам дела предполагается или известно, каким веществом или группой веществ произошло отравление. В этом случае достаточно подтвердить или исключить наличие данного вещества.
8. *Чувствительность* используемых для судебно-химического анализа методик должна быть в пределах не ниже предполагаемых токсических доз. Обычно предел обнаружения для аналитических методик составляет 10^{-3} – 10^{-6} г на взятую для исследования пробу.

Документация судебно-химических экспертиз

Ведение документации в судебно-химических лабораториях регламентируется Приказом №644 от 04.11.2006 «О порядке предоставления сведений о деятельности, связанной с оборотом наркотических средств, психотропных и их прекурсоров».

У эксперта в лаборатории должен быть *регистрационный журнал*. Это специальная книга, листы которой пронумерованы, а сама книга прошнурована, опечатана печатью и подписана начальником бюро судебно-медицинской экспертизы. В регистрационном журнале проводится строгий учет вещественных доказательств, что позволяет быстро ориентироваться в ответах на запросы по экспертизам и составлять отчеты.

В *рабочем журнале*, оформленном, как регистрационный, ежедневно эксперт проводит записи, связанные с исследованием вещественных доказательств (навеска объек-

та, взятая для анализа, основные операции, результаты качественных реакций, расчеты по количественному определению).

Книга актов оформляется так же, как рабочий и регистрационный журналы. Она предназначена для составления по определенной форме акта судебно-химического анализа или заключения эксперта, которые являются юридическими документами по проведенной экспертизе.

Акт имеет заголовок и состоит из трех частей: введения, описательной части и заключения. В описательную часть входят разделы «наружный осмотр» и «химическое исследование» или «исследование под микроскопом». Во введении указываются время начала и окончания экспертизы, основание для производства экспертизы, номер и дата сопроводительного документа, место проведения анализа, кем выполнен, какие объекты исследовались и поставленные перед экспертом вопросы. Под заголовком «обстоятельства дела» кратко приводится основное содержание материалов дела. В разделе «наружный осмотр» подробно описываются полученные на исследование объекты. В разделе «химическое исследование» приводятся применяемые методы, техника исследования и полученные результаты. В заключении перечисляются найденные вещества с указанием их количеств, затем не найденные вещества и приводятся ответы на поставленные органами следствия и суда вопросы. К акту судебно-химической экспертизы по возможности должны быть приложены микрофотографии полученных кристаллов, налетов (например, в трубке Марша), продуктов реакций (например, «берлинской лазури», «серебряного зеркала»), которые подтверждают правильность сделанных экспертом выводов.

2.2. Химико-токсикологический анализ при острых интоксикациях

Задача: обнаружение и определение ядовитых и сильнодействующих веществ в организме человека.

Цель анализа: рекомендовать методы детоксикации (совместно с лечащим врачом) на основании результатов химико-токсикологического анализа. С этой целью необходимо определить природу токсического вещества или принадлежность его к определенной химической группе соединений и фазу распределения яда в организме (резорбции или элиминации).

Место проведения: химико-токсикологические лаборатории при республиканских, межобластных, краевых, городских центрах лечения острых интоксикаций.

Специалисты: врачи-лаборанты, имеющие подготовку в области химико-токсикологического анализа.

Объекты анализа: биологические жидкости (кровь, моча), слюна, пот, спинномозговая жидкость, диализирующая жидкость при перитонеальном диализе, рвотные массы, промывные воды желудка (первые порции).

Особенности химико-токсикологического анализа при острых отравлениях

1. Небольшое количество объекта исследования. Зависит от возраста и состояния больного: кровь – 1–10 мл, моча – 2–50 мл, спинномозговая жидкость – 1–2 мл, слюна – 5–10 мл.
2. Ядовитые вещества в организме образуют метаболиты, которые более полярны, чем исходные соединения. Эта особенность учитывается при выборе экстрагента для ядовитых веществ.
3. Химико-токсикологический анализ является многократным и проводится в течение всего периода детоксикации.
4. Выявление фазы распределения вещества в организме путем определения концентрации ядовитого вещества в крови и моче. Если концентрация ядовитого вещества выше в крови, чем в моче, больной находится в *фазе резорбции*, если концентрация яда выше в моче, чем в крови, – в *фазе элиминации*. Период всасывания и выведения яда

называется *токсикогенной стадией отравления*. В этой стадии необходим химико-токсикологический анализ, чтобы выбрать и оценить эффективность применяемых методов детоксикации.

5. Чувствительность методик при химико-токсикологическом анализе острых интоксикаций должна быть в пределах нано- и пикограммовых количеств, т.е. 10^{-9} и 10^{-12} г на взятую для исследования пробу. Этим требованиям отвечают современные физико-химические и иммунохимические методы.

2.3. Экспертиза алкогольного, наркотического и токсикоманического опьянения

Задача: обнаружение и определение в организме человека алкоголя, наркотических и психотропных веществ.

Цели анализа:

- определение степени алкогольного опьянения;
- установление факта приема наркотических и психотропных веществ не по медицинским показаниям.

Место проведения: химико-токсикологические лаборатории (ХТЛ).

Специалисты: врачи-лаборанты по клинической лабораторной диагностике, прошедшие специализацию по аналитической диагностике наркотических средств, психотропных и других токсических веществ в организме человека, согласно Приказам МЗ РФ №289 от 05.10.98 и Минздравсоцразвития РФ №40 от 27.01.2006.

Объекты анализа, правила их отбора и направления на исследование

В качестве объектов исследования могут быть направлены кровь, моча, волосы, ногти, потожировые выделения.

Отбор объектов для диагностики факта употребления наркотических, психотропных веществ и алкоголя проводится в кабинетах экспертизы опьянения или в приемных отделениях медицинских учреждений.

Кровь отбирается в объеме не менее 10 мл из поверхностной вены иглой самотеком в сухой пенициллиновый флакон с раствором гепарина (3–5 капель на 10 мл крови), закрывается резиновой пробкой и фиксируется алюминиевым колпачком. При анализе на алкоголь достаточно 2–3 мл крови.

Моча. При анализе на наличие алкоголя отбирают 2–5 мл мочи в пенициллиновый флакон, который закрывают резиновой пробкой и алюминиевым колпачком. Отбор проб мочи проводится под наблюдением персонала, чтобы исключить замену, разбавление или порчу пробы. При анализе на наркотические и психотропные вещества отбирают не менее 200 мл мочи.

Волосы отбирают в виде пучков (не менее 15–20 волос) с лобной, теменной, затылочной, правой и левой височных областей. Пучки обрезают как можно ближе к коже. Отобранные образцы помещают в разные конверты, опечатывают и маркируют.

Ногти обрезают ножницами с каждой руки (и ноги при необходимости), помещают в отдельные конверты, опечатывают и маркируют.

Потожировые выделения на руках и других участках тела отбирают ватным тампоном, смоченным спиртом. Протирают поверхности рук и лица (вокруг рта), затем тампоны высушивают на воздухе, помещают по отдельности в пакеты, опечатывают и маркируют.

Сопроводительные документы

- *Направление на химико-токсикологическое исследование.* В нем указывается дата, наименование лаборатории, ФИО освидетельствуемого, перечисляются объекты и их количество, указывается код пробы, дата и время ее отбора, предварительный клинический диагноз и цель исследования (на какое вещество или группу

веществ требуется провести анализ). Документ подписывает дежурный врач и медсестра (фельдшер).

- **Справка о доставке проб на химико-токсикологическое исследование.** В ней указывается адрес лаборатории, приемного отделения, регистрационный номер направления на химико-токсикологическое исследование, код пробы, дата, время отправки, ФИО лица, производящего перевозку, дата и время поступления в ХТЛ, результаты наружного осмотра, ФИО ответственного лица ХТЛ.

Особенности анализа

1. Объекты и извлечения из них сильно загрязнены эндогенными соединениями, продуктами метаболизма наркотических средств и различных химических и лекарственных веществ.
2. Особые трудности представляет анализ в случае полинаркомании и политоксикомании.
3. При анализе чаще всего используют скрининговые методы (ТСХ, ВЭЖХ, ГЖХ) и иммунохимические способы.
4. При оценке результатов химико-токсикологического исследования необходимо учитывать, что некоторые вещества (например, опиаты) определяются лишь при значительных концентрациях в биологических жидкостях, быстро разрушаются и выводятся из организма за 8 ч. Другие соединения могут содержаться в биологических жидкостях длительное время (например, барбитураты обнаруживают в течение нескольких дней).
5. Исследование на наличие алкоголя должно проводиться в течение 1 ч после получения биологической пробы на анализ. Допускается хранение пробы при асептическом ее отборе в холодильнике при 0°C не более суток.
6. Возможность фальсификации пробы и сокрытия факта употребления наркотических и одурманивающих веществ.

Некоторые термины и понятия

Студенты фармацевтических вузов изучают анализ основных наркотических веществ. Среди них: кокаин, кокаина гидрохлорид, морфин, морфина гидрохлорид, морфина сульфат, кодеин, кодеина фосфат, промедол, этилморфин, этилморфина гидрохлорид, диацетилморфин (героин), омнопон, тебаин, опий, гашиш (анаша, смола каннабиса), каннабис (марихуана), масло каннабиса (гашишное масло), тетрагидроканнабинол (все изомеры), амфетамин, метамфетамин, эфедрон, а также некоторые метаболиты указанных соединений. Поэтому необходимо дать понятие некоторых терминов.

Алкогольное опьянение – опьянение, возникающее при употреблении напитков, содержащих этиловый спирт.

Алкоголизм – хроническое заболевание, возникающее за счет систематического употребления спиртных напитков. Проявляется физической и психической зависимостью от алкоголя, психической и социальной деградацией, патологией внутренних органов, обмена веществ, центральной и периферической нервной системы. Нередко возникают алкогольные психозы (белая горячка, помрачение сознания, зрительные и слуховые галлюцинации угрожающего характера, возбуждение, соматические и неврологические расстройства).

Осложненный алкоголизм – сочетание алкоголизма с приемом других веществ или лекарственных средств, не отнесенных к наркотикам.

Суррогатный алкоголизм – заболевание, вызванное употреблением самогона и суррогатов алкоголя.

Суррогат (от лат. *surrogatus* – поставленный взамен) это подделка, фальсификация спиртного напитка. Как правило, суррогаты – это самодельные спиртные напитки, проще, самогон с большим содержанием сивушного масла или же технические жидкости на основе этилового спирта. Суррогаты могут содержать в качестве добавок метиловый, пропиловый, бутиловый спирты, гликоли, альдегиды, эфиры и другие токсические ве-

щества. Многие из них в 10–100 раз токсичнее этанола. Поэтому отравление протекает по типу токсической комы, смерть наступает в результате асфиксии. Наблюдаются тяжелые поражения печени и почек.

Наркомания (от греч. *narkē* – оцепенение и *mania* – безумие, восторженность, страсть) – это болезнь, которая характеризуется непреодолимым влечением к наркотикам. В малых дозах они вызывают эйфорию. В больших дозах наблюдается оглушение и наркотический сон. Систематическое употребление наркотика требует увеличения дозы. Воздержание сопровождается абстинентным синдромом. При наркомании поражаются внутренние органы, характерны неврологические и психические расстройства, развивается социальная деградация.

Опьянение наркотическое – возникает при употреблении наркотиков. Характеризуется выраженным оглушением сознания с полной амнезией.

Наркотики (от греч. *narkōtikós* – приводящий в оцепенение) – природные и синтетические вещества, вызывающие наркоманию.

Наркотическое средство – это химическое соединение, отвечающее трем критериям:

- медицинский критерий. Вещество способно оказывать определенное терапевтическое действие на организм;
- социальный критерий. Вещество является причиной повторного применения без предписаний врача;
- юридический критерий. Применение данного вещества принимает масштабы, придающие ему социальную значимость.

Если веществу присущи все три критерия, его относят к списку наркотических средств по решению *Постоянного Комитета по контролю наркотиков*.

Различают:

- полинаркоманию – при одновременном приеме двух и более веществ, внесенных в список наркотических средств;
- осложненную наркоманию – при приеме наркотического средства в сочетании со спиртными напитками или с лекарственными веществами, не отнесенными к наркотическим, но усиливающих его действие на организм.

Вещества, для которых характерны 1 или 2 критерия, относятся к психотропным средствам. Такие соединения способны вызвать токсикоманическое опьянение (токсикоманию).

Токсикомания (от греч. *toxikón* – яд и *mania* – безумие, восторженность, страсть) – общее название болезней, характеризующихся влечением к приему различных веществ, вызывающих опьянение, кратковременную эйфорию. Токсикомания включает злоупотребление различными медицинскими препаратами, галлюциногенами, средствами бытовой химии и др. Проявляется многообразными психическими и соматическими расстройствами, нарушением поведения, деградацией.

Опьянение токсикоманическое возникает при систематическом употреблении токсических средств и сопровождается формированием психической зависимости от них, ростом толерантности, возникновением абстинентного синдрома, разнообразными психическими, соматическими и социальными нарушениями.

Э.А.Бабаян выделяет следующие группы токсических веществ, вызывающие болезненное пристрастие к ним: снотворные средства барбитурового и небарбитурового ряда, транквилизаторы, производные 1,4-бензодиазепина, стимуляторы – кофеин, анальгетики – анальгин, фенацетин, антипаркинсонические средства, нейролептики – производные фенотиазина, антигистаминные препараты – пипольфен, димедрол, дипразин, растворители – бензин, толуол, ацетон, лаки, краски, средства для выведения пятен, клей (например, «Момент» и т.п.), жидкости, используемые в промышленности и в качестве средств бытовой химии, а также фосфорорганические соединения.

Политоксикомания – это прием двух и более лекарственных веществ или химических соединений, не отнесенных к списку наркотических, или прием их в определенном сочетании или в определенной последовательности, по определенной схеме.

2.4. Санитарно-гигиеническая экспертиза среды обитания и пищевых продуктов

Задача: обнаружение и определение контаминантов в пищевых продуктах, предметах быта, окружающей человека среде.

Цель анализа: проведение экспертного исследования и выдача соответствующего сертификата на возможность реализации и использования пищевого продукта, товара или средства.

Требует уточнения понятие «*среда обитания*». *Среда обитания* – совокупность природных и техногенных объектов, определяющих условия жизнедеятельности человека.

Место проведения: химические лаборатории при Госстандарте России, государственных санитарно-эпидемиологических лабораториях, государственном ветеринарном надзоре, а также при территориальных органах контроля (органах сертификации), испытательных лабораториях, аккредитованных в системе Госстандарта и таможенной службы.

Специалисты: врачи-лаборанты, имеющие подготовку в области химико-токсикологического анализа и прошедшие специализацию по правилам сертификации пищевых продуктов, окружающей среды, предметов быта и т.п.

Объекты анализа: пищевые продукты, косметические средства, предметы бытовой химии, краски, лаки, растворители, мебель, ткани, одежда, напольные и настенные покрытия, посуда и др.

Пищевые продукты и окружающие человека предметы могут быть источником и носителями большого числа потенциально опасных для здоровья человека химических и биологических веществ (контаминантов, от лат. *contaminatio* – соприкосновение). Они попадают и накапливаются в пищевых продуктах и предметах быта в процессе биологических цепей (обмен веществ между живыми организмами, с одной стороны, и воздухом, водой, почвой – с другой) и цепи, которая включает все этапы сельскохозяйственного и промышленного производства продовольственного сырья, пищевых продуктов, различных предметов, а также их хранение, упаковку и маркировку.

В связи с этим, обеспечение безопасности, качества продовольственного сырья, пищевых продуктов и предметов быта является одним из основных факторов, определяющих здоровье населения и сохранение генофонда.

Среди контаминантов – токсические элементы (Pb, Cd, As, Hg, Cu, Zn, Sn и др.), нитраты, нитриты, N-нитрозамины, гормональные препараты, антибиотики, пищевые добавки, красители, микотоксины, ядохимикаты и др.

В специальных документах представлены медико-биологические требования и допустимые санитарные нормы по содержанию вредных веществ в различных предметах, видах продовольственного сырья и пищевых продуктах. Экспертиза проводится по соответствующим государственным стандартам, техническим условиям, нормативным документам.

Особенности анализа:

- большое разнообразие объектов исследования;
- определение малых количеств (часто следовых) контаминантов в исследуемых объектах,
- необходимость использования высокочувствительных методов и методик анализа.

2.5. Экспертиза наркотических, сильнодействующих веществ и кустарно изготовленных средств наркотического действия

Задача: экспертное исследование наркотических и сильнодействующих веществ, изъятых из незаконного оборота.

Цели анализа:

- определение принадлежности представленных на исследование веществ к наркотическим;

- определение отношения растений к наркосодержащим, определение количественного содержания наркотического вещества в изъятых объектах;
- определение на изъятых предметах-носителях следов (микрочастиц) наркотических средств.

Место проведения: экспертно-криминалистические центры МВД России, лаборатории при комитетах по борьбе с незаконным оборотом наркотических средств.

Специалисты: эксперты-криминалисты, прошедшие соответствующую подготовку и специализацию по анализу наркотических и сильнодействующих веществ.

Объекты анализа:

- образцы растительного происхождения (конопля, опий), их экстракты. Иногда направляют на анализ растительные объекты, не произрастающие на территории Российской Федерации: кокаиновый куст и др.;
- твердые субстанции (порошки), таблетки, драже;
- инъекционные растворы;
- смывы с тела человека (лицо, руки, кожа, туловище).

За последние годы увеличился перечень потребляемых наркотических веществ. К кустарно изготавливаемым наркотическим средствам из мака, конопли прибавились так называемые «тяжелые» наркотики – героин, метадон, кокаин, амфетамин и др.

Незаконное производство и оборот наркотических средств создают угрозу для здоровья и жизни людей, наносят серьезный ущерб экономике и подрывают нравственные основы общества, а в итоге создают угрозу безопасности страны.

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

В соответствии с *Конвенцией ООН о борьбе с незаконным оборотом наркотических средств и психотропных веществ (1988 г.)* и *Резолюцией по вопросу о международном сотрудничестве в борьбе с незаконным оборотом и распространением наркотических и психотропных средств Генеральной Ассамблеи ООН (1990 г.)* рекомендовано странам-участницам взять под контроль:

- производство, изготовление, склонение к употреблению, предложение с целью продажи, распространение, поставку, посредничество, транзит, транспортировку, импорт или экспорт любого наркотического средства или вещества;
- культивирование опийного мака, кокаинового куста, конопли (индийской, южно-маньчжурской, южночуйской) или других запрещенных к возделыванию наркосодержащих культур в целях производства наркотических средств в нарушение положений Конвенции ООН 1961 и 1971 гг.
- изготовление, транспортировку, распространение и продажу оборудования и полупродуктов для производства наркотических средств.

Федеральный закон «*О наркотических средствах и психотропных веществах*» (1998 г.), «*Перечень наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, подлежащих контролю в Российской Федерации*», утвержденный Постановлением Правительства Российской Федерации 30.06.1998 г. №681, упорядочили деятельность оперативно-следственных и судебных органов в сфере злоупотребления и незаконного оборота наркотических и психотропных веществ. Постановлением Правительства Российской Федерации №76 от 7.02.2006 г. утверждены нормы крупных и особо крупных размеров наркотических и психотропных веществ (статьи 228, 281 и 229 Уголовного кодекса Российской Федерации).

Одним из инструментов государства в борьбе с наркоманией является аналитическая служба, осуществляющая химический и химико-токсикологический анализ средств, вызывающих одурманивание, наркотическое и токсикоманическое опьянение.

Глава 3. ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ И ОСНОВЫ ТОКСИКОЛОГИИ

3.1. Доза (концентрация) ядовитого вещества

Степень опасности ядов для организма человека (животных) определяется конкретными понятиями, характеризующими глубину токсического воздействия, вызывающего нарушения нормального физиологического состояния вплоть до гибели организма. Все степени токсического действия химических веществ на живой организм объединены в раздел «токсикометрия».

Основные параметры токсикометрии

LD_{50} (LD_{100}) – среднесмертельная (смертельная) доза ядовитого вещества, вызывающая гибель 50 (100%) подопытных животных при определенном способе введения (внутрь, на кожу и т.д., кроме ингаляции) в течение 2 нед. последующего наблюдения. Выражается в мг/кг массы тела животного.

LC_{50} (LC_{100}) – концентрация (доза) ядовитого вещества, вызывающая гибель 50 (100%) подопытных животных при ингаляционном воздействии. Выражается в мг на 1 м³ воздуха.

ОБУВ – ориентировочно безопасный уровень воздействия вещества. Выражается в мг на 1 м³ воздуха.

Таблица 1

Токсические и смертельные концентрации некоторых чужеродных соединений в плазме крови человека

Чужеродное соединение	Концентрация, мкг/мл	
	токсическая	смертельная
Аминазин	0,8–2,0	3,0–12
Барбитал	20,0–100,0	>100,0
Барбамил	300,0	—
Диазепам	2,0–10,0	50,0
Кокаин	5,2	—
Кофеин	—	100,0
Морфин	1,0	—
Мышьяк	1,0	15,0
Нитразепам	0,2	—
Оксазепам	2,0	—
Салицилаты	150,0–300,0	500,0
Стрихин	2,0	9,0–12,0
Тиоридазин	10,0	20,0–80,0
Фенобарбитал	40,0	80,0–264,0
Хлороформ	70,0–250,0	390,0
Хлоралгидрат	100,0	250,0
Элиениум	5,5	20,0
Этаминал-натрий	100,0	—

LD_{\min} – минимальная токсическая доза. Это наименьшее количество яда, способное вызвать картину острого отравления без смертельного исхода с возможными отдаленными последствиями интоксикации.

Токсическая опасность химического вещества характеризуется величиной зоны острого токсического действия:

$$\frac{LD_{50}}{LD_{\min}}$$

Чем больше эта величина, тем безопаснее данное вещество.

В таблице 1 приведена концентрация в плазме крови некоторых ядовитых соединений.

3.2. Виды, классификация, клинические стадии отравлений

Комплекс патологических изменений, возникающих в организме под влиянием токсических веществ, называется отравлением или интоксикацией.

Виды отравлений

Острые отравления – это одномоментное поступление в организм токсической дозы вещества. Характеризуется острым началом и проявлением специфических симптомов отравления. Острые отравления могут заканчиваться смертельным исходом в течение нескольких минут (синильная кислота и ее соли), часов или суток.

Хронические отравления возможны при повторном воздействии (в течение длительного периода времени) малых доз кумулирующихся в организме ядовитых веществ, не вызывающих острых отравлений, но достаточных для поражения той или иной функции организма. Они характеризуются медленным течением и неясно выраженными симптомами.

Классификация отравлений

Случайные отравления, возникающие при использовании различных веществ лицами, которым может быть неизвестно их токсическое действие и последствия приема. Эти отравления могут быть при передозировке лекарственных средств и, особенно, содержащих сильнодействующие, наркотические и психотропные вещества. К подобным отравлениям можно отнести отравления алкогольными напитками, а также бытовые отравления и отравления при несчастных случаях на производстве.

Преднамеренные отравления происходят при использовании ядовитых веществ лицами, которые заранее знают последствия их применения. Такие отравления, как правило, преследуют криминальные цели: доведение жертвы до гибели или беспомощного состояния с целью насилия или грабежа. К преднамеренным отравлениям следует отнести и суицидальные отравления – истинные и демонстративные (симуляционные). Следует подчеркнуть, что к суицидальным отравлениям часто приводит алкоголизм. По статистике 40% суицидов дает алкогольное опьянение. Использование некоторых веществ может провоцировать алкогольный психоз (например, барбитураты на фоне хронического алкоголизма).

Производственные отравления, как правило, носят хронический характер. Они имеют место на предприятиях, где работники контактируют с ядовитыми веществами при отсутствии должной охраны труда и техники безопасности.

В токсикологии различают две клинические стадии отравления:

1. Токсикогенная стадия. В этот период токсический агент находится в организме в дозе, способной вызвать специфическое действие.
2. Соматогенная стадия. Она наступает после удаления или разрушения токсического агента в виде «следового» поражения структуры и функций различных органов и систем организма.

Токсикогенная стадия включает 2 фазы распределения ядовитого вещества – **резорбцию** (до достижения максимальной концентрации яда в крови) и **элиминацию** (до момента полного выведения яда и его метаболитов из организма). На этой стадии принимаются специальные меры по детоксикации и лечению отравлений.

Соматогенная стадия предполагает симптоматическое лечение последствий отравления.

3.3. Пути поступления ядов в организм

Отравляющие вещества могут поступать в организм через желудочно-кишечный тракт, дыхательные пути, кожу, слизистые оболочки, плаценту, а также путем внутривенного, внутримышечного или подкожного введения.

Наибольшее судебно-медицинское значение имеет поступление ядов *через рот*. Этот путь проникновения ядов в организм является характерным для большинства пищевых и бытовых отравлений.

Через *дыхательные пути* проникают ядовитые соединения из окружающего воздуха в виде газов, паров, пыли. Это возможно при отравлении бытовым газом, оксидом углерода (II) и различными газообразными веществами в помещениях с плохой вентиляцией.

Через *кожные покровы* проникают растворимые в липидах вещества. Растворимые в воде яды через кожу могут проникать в незначительных количествах.

Отравления путем *парентерального поступления* ядов (путем инъекций под кожу, в мышцы, в вену) встречаются редко и характеризуются тем, что вещество, минуя пищеварительный канал, сразу поступает в кровь.

Через *плаценту* ядовитые вещества поступают от матери к плоду (например, этиловый спирт, лекарственные вещества, хлорсодержащие пестициды, соли тяжелых металлов и др.).

Помимо указанных путей, ядовитые вещества могут поступать в организм через *слизистые оболочки* глаз, носа, половых органов, прямой кишки, брюшины, плевры и др.

3.4. Всасывание ядовитых веществ

Всякое вещество, в том числе яд, для проявления биологического действия должно пройти через одну или несколько клеточных мембран. Из курса нормальной физиологии студентам известно, что клеточная мембрана обеспечивает проникновение в клетку и из нее молекул и ионов, необходимых для выполнения специфических функций клеток, избирательный транспорт ионов через мембрану для поддержания трансмембранного потенциала и специфических клеточных контактов.

Опуская многие вопросы, касающиеся функции мембран, мы должны остановиться на строении мембран, чтобы понять пути проникновения различных ядов в клетку.

Мембрана клетки – это эластичная структура толщиной 7–11 нм. Она состоит из липидов и белков. До 90% всех липидов составляют фосфолипиды, которые образуют двойной слой фосфолипидных молекул. Эти группы связаны с белковыми молекулами, частично погруженными в липидную мембрану. Липидный бислой представляет собой жидкокристаллическую структуру. Благодаря этому мембраны обладают некоторой подвижностью, что облегчает процессы транспорта через них.

Схема мембраны, постулированная в 1930-е годы Даусоном и Даниелли, представлена на рисунке 1.

Гидрофобная область состоит из двух слоев фосфолипидов. Наружная часть этой области представляет собой полярную головку, образованную за счет одной фосфорилированной гидроксильной группы глицерина. В свою очередь остаток фосфорной кислоты связан со спиртом холином. Неполярная часть образуется за счет остатков жирных кис-

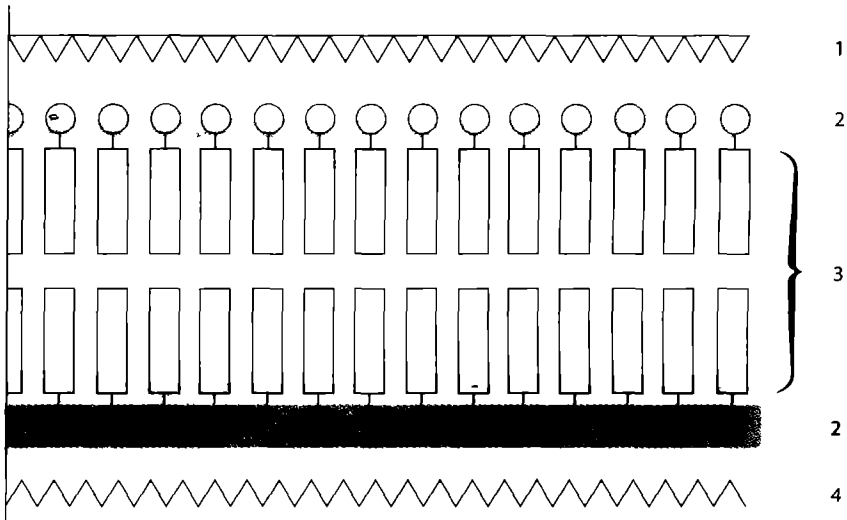


Рис. 1. Упрощенная схема мембранной структуры. 1 – мукополисахариды или мукопротеины; 2 – полярная головка; 3 – гидрофобная область, 4 – растянутая полипептидная цепочка.

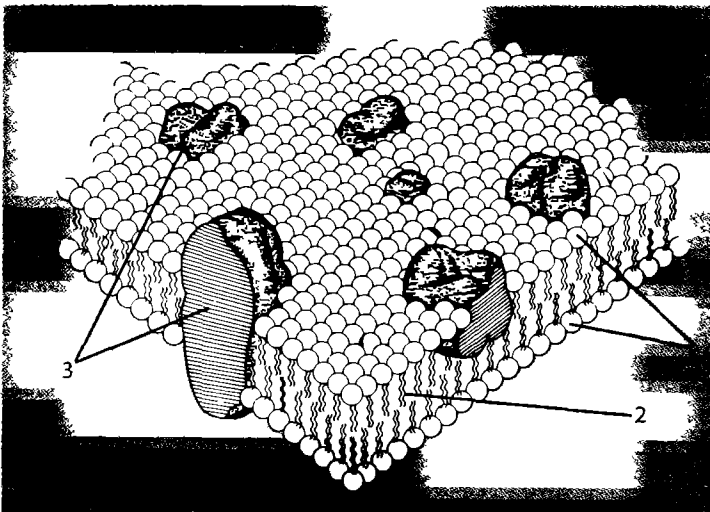


Рис. 2. Строение плазматической мембраны: 1 – липиды, 2 – гидрофобная зона липидных молекул, 3 – интегральные белки плазматической мембраны

лот, связанных с двумя оксигруппами глицерина. Снаружи фосфолипидная гидрофобная часть мембраны покрыта мукополисахаридами, мукопротеинами или полипептидной цепочкой. Такое представление и в настоящее время имеет основополагающее значение, хотя и не полностью отражает отдельные свойства мембран.

Валлахом и Цалером представлена мозаичная модель мембраны (рис. 2). Согласно этой модели предполагается, что протеины на полярных концах не образуют мономолекулярного слоя, а существуют в виде глобулярных протеиновых клубочков, которые насквозь пронизывают липидный слой или погружены в него.

Основными механизмами транспорта веществ через мембраны являются: пассивная диффузия, облегченная диффузия, активный транспорт, фильтрация и пиноцитоз.

Пассивная диффузия играет важную роль для транспорта веществ в клетку. Она обусловлена физическими закономерностями диффузии веществ, растворимых в липи-

дах и воде. Особенностью этого механизма является то, что транспорт осуществляется только в сторону низкой концентрации и следует до достижения равновесия по обе стороны мембраны. Перенос вещества зависит от градиента концентрации между наружной и внутренней сторонами мембраны. Закон Фика описывает этот процесс следующим уравнением:

$$q = A/d \cdot D (C_a - C_i),$$

где q – скорость диффузии; A – площадь мембраны; d – толщина мембраны; D – коэффициент диффузии данного вещества; $(C_a - C_i)$ – градиент концентрации.

Коэффициент диффузии, прежде всего, зависит от коэффициента распределения вещества между водой и липидами:

$$D = k \cdot VK,$$

где k – константа диффузии; VK – коэффициент распределения.

Чем выше растворимость вещества в липидах, тем лучше вещество проникает через мембрану. К таким веществам относятся диэтиловый эфир, этиловый спирт, фенол, дихлорэтан, ацетон, четыреххлористый углерод, синильная кислота, некоторые газообразные соединения и др.

Большинство лекарственных веществ являются слабыми электролитами и могут находиться в организме в неионизированной и ионизированной форме. Соотношение этих форм зависит от величины константы ионизации и значения рН среды. Степень диффузии для таких веществ пропорциональна количеству неионизированной формы вещества. Ионизированная форма плохо диффундирует через мембрану.

Облегченная диффузия происходит с участием специфических переносчиков. Как и при пассивной диффузии, вещества транспортируются без расхода энергии по концентрационному градиенту, но скорость ее выше, чем при пассивной диффузии. Примером облегченной диффузии является транспорт витамина B_{12} с помощью специфического переносчика – гастромукопротеида.

Активный транспорт веществ через мембрану происходит против градиента концентраций и сопровождается затратой метаболической энергии. С помощью активного транспорта осуществляется всасывание катионов натрия, калия, кальция, аминокислот, сердечных гликозидов, гормонов, витаминов и др. Активный транспорт наиболее часто осуществляется с помощью аденозинтрифосфатаз (АТФазы). В настоящее время достаточно хорошо изучены белковые каналы мембран, через которые происходит активный избирательный транспорт веществ.

Пиноцитоз – это транспорт веществ путем впячивания (инвагинации) поверхности мембраны с последующим образованием везикулы вокруг транспортируемого вещества. Образовавшиеся везикулы мигрируют сквозь мембрану в протоплазму клетки. Путем пиноцитоза через мембрану могут проходить многие крупные молекулы, в том числе пептиды, жирные кислоты и др.

Фильтрация веществ через поры мембран зависит от осмотического давления. Поры в мембране могут иметь небольшой диаметр (около 0,4 нм), поэтому через них возможен перенос некоторых неорганических ионов или небольших гидрофильных молекул (мочевина), а также воды.

Общая скорость всасывания зависит от морфологической структуры органа, в котором находится ядовитое вещество, от величины поверхности всасывания. Наибольшую поверхность всасывания имеет желудочно-кишечный тракт (за счет микроворсинок) – около 120 м². Поверхность легких составляет 90–100 м². Поверхность кожи небольшая – около 1,6–1,8 м². Это следует учитывать при определении скорости воздействия ядовитого вещества на организм человека.

Всасывание отравляющих веществ через слизистую оболочку желудка зависит от многих причин: растворимости вещества в воде или жирах, степени воздействия на ве-

щества желудочного сока, наполнения желудка пищей, характера желудочного содержимого и т.д. Лучше всего в желудке всасываются водо- и липидорастворимые вещества, находящиеся в жидком состоянии, хуже – твердые и малорастворимые соединения.

Кислая среда желудочного сока может изменять химическую структуру, а иногда и растворимость ядов. Прием отравляющего вещества натошак ускоряет процесс интоксикации. Пища и ее характер влияют на процесс всасывания яда. Например, молоко и молочные продукты препятствуют всасыванию солей тяжелых металлов, кислая реакция пищевых масс способствует всасыванию цианидов, дубильные вещества в чае связывают некоторые алкалоиды.

При всасывании в желудке и кишечнике яды проходят через печень, которая задерживает их и обезвреживает. Если барьерная функция печени хорошо выражена, многие яды проявляют себя как малотоксичные вещества.

Водорастворимые соединения при поступлении в прямую кишку (применение клизмы), при подкожном и внутривенном введении, через слизистые глаз, носа, половые органы, брюшину, плевру после всасывания сразу попадают в большой круг кровообращения, минуя печень. В этих случаях действие яда оказывается более быстрым и сильным. Некоторые отравляющие вещества (порошкообразные, газообразные, паробразные) попадают в организм через дыхательные пути и всасываются в легких. Слизистые дыхательных путей обладают значительной всасывающей способностью. Особенно быстро через них всасываются водорастворимые вещества, например, «летучие» яды. Иногда смерть может наступить до того, как концентрация яда в крови достигнет критических значений. В этом случае возможен смертельный исход уже после нескольких вдохов вследствие рефлекторной остановки дыхания и деятельности сердца.

3.5. Распределение ядов в организме

После всасывания ядовитое вещество разносится кровью по всем органам и тканям. Первоначально ядовитого вещества будет больше в тех тканях и органах, которые в большей степени снабжены кровеносными сосудами. Наибольшее количество яда в единицу времени поступает обычно в легкие, почки, печень, сердце, мозг.

Яды, по мере их всасывания в кровь, разносятся по всему организму и на первой стадии распределяются между межклеточной и внутриклеточной жидкостью. Для подавляющего большинства ядовитых веществ характерно неравномерное распределение в организме. Одни вещества проходят через эндотелий капилляров и неспособны проникать через другие биологические мембраны. Такие вещества остаются только в межклеточной жидкости. Другие свободно проходят через цитоплазматические оболочки и распределяются по всему организму. Основным результатом процессов распределения, с точки зрения клинической токсикологии, считается поступление ядовитых веществ к месту воздействия, в результате которого проявляется токсический эффект. Содержание токсического вещества в определенной ткани зависит от его количества, поступившего из крови в ткань и из ткани в кровь. Большую роль играет соотношение скорости кровотока и скорости диффузии веществ в ткани.

В крови часть токсических веществ может связаться с белками. В таком состоянии яд плохо проникает через биологические мембраны и не участвует в формировании токсического процесса. Однако по мере снижения концентрации яда в крови и тканях такие комплексы расщепляются, при этом поддерживается равновесие концентрации свободного яда и его комплекса с белками. Это равновесие может сдвигаться в ту или другую сторону в зависимости от интенсивности всасывания яда, метаболических его превращений, дезинтоксикации, выделения из организма.

При обезвоживании организма токсичность яда усиливается за счет увеличения концентрации его в межклеточной жидкости и резкого сокращения «белкового резерва».

В дальнейшем токсические вещества в различных органах и тканях распределяются неравномерно. Это зависит от их структуры, растворимости в воде, липидах, ионизации, а также функциональных особенностей органов и тканей.

В жировой ткани депонируются жирорастворимые яды (органические растворители, алкилгалогениды, хлорсодержащие пестициды и др.). В костной ткани способны откладываться свинец, барий, фтор и др. В коже накапливаются золото, свинец, серебро. Элементы висмут, ртуть, мышьяк накапливаются в органах и тканях, богатых белками, содержащими сульфгидрильные и другие функциональные группы. Ртуть накапливается в почках и вызывает в них некротические изменения.

Место локализации некоторых токсических веществ зависит от характера отравления. Например, при остром отравлении ядовитые вещества накапливаются в печени и почках, а при хроническом – в ногтях, костях, нервной ткани, волосах. Многие наркотические вещества накапливаются в ногтях, волосах, коже.

Знание распределения чужеродных соединений в организме человека особенно важно при выборе объектов для химико-токсикологического анализа.

3.6. Особенности токсического действия некоторых ядовитых веществ

Острые отравления рассматривают как *химическую травму*, развивающуюся вследствие попадания в организм токсической дозы чужеродного химического соединения.

Ядовитые вещества могут проявлять местное и резорбтивное действие на организм. Особенно опасны токсические соединения, которые вызывают необратимые поражения клеточных структур.

Ядовитые вещества, действующие местно

К числу таких веществ относятся «*едкие яды*», оказывающие раздражающее, прижигающее, некротизирующее и расплавляющее действие.

Местное действие является основным и определяющим во вредном воздействии ядовитого вещества и находится в прямой зависимости от его концентрации. Болевые ощущения, возникающие вследствие химического ожога, могут вызвать шок и быструю смерть. При затянувшемся отравлении проявляется общетоксическое, резорбтивное действие яда.

Сильными раздражающими свойствами обладают минеральные кислоты (серная, хлороводородная, азотная), едкие щелочи (гидроксиды калия, натрия, кальция, аммиак, оксид кальция), органические кислоты (уксусная, щавелевая), фенол, формальдегид, «*металлические*» яды и др.

У *кислот* степень токсического воздействия зависит от силы кислоты и ее концентрации. Водородные ионы способны обезвоживать ткани и вызвать свертывание белков с образованием кислых альбуминов, разрушить белок и привести к коагуляционному (сухому) некрозу. Серная и хлороводородная кислоты обуславливают выделение тканями большого количества тепла и «вспенивание» их. При этом гемоглобин расщепляется и образуются его дериваты: гемапопорфирин, метгемоглобин, кислый гематин. Ткани приобретают темно-коричневый или буровато-черный цвет.

Возникает сильное раздражение, воспаление, ожог, ткани разрушаются, образуются плотноватые струпы и участки воспаления.

Щелочи – хорошо растворимы в воде. Они также оказывают разъедающий эффект и при всасывании могут вызывать расщепление биологически важных веществ в организме.

При действии щелочи на белок наблюдается его набухание, затем расплавление и разжижение. Образуются щелочные альбуминаты, которые хорошо растворимы в воде. Щелочи легко проникают в глубину тканей, образуя толстый слой влажного некроза.

Они растворяют эпителий, клетки мышц, нервной ткани и даже плотные ткани кожи, волос, ногтей.

Характерно, что кровь на поврежденных участках не свертывается, гемоглобин при этом превращается в щелочной гематин, придавая пораженным тканям зеленовато-бурый цвет.

Таким образом, щелочи вызывают при отравлении более тяжелые местные поражения по сравнению с кислотами. Однако их резорбтивное действие сравнительно невелико. В крови избыток OH^- -ионов приводит к повышению щелочности крови и тканей. Нарушается клеточный метаболизм, поражается ЦНС и ослабляется сердечная деятельность. В резорбтивном действии щелочей определяющую роль играют катионы (особенно калий, аммоний), влияющие на сердечную мышцу.

Органические кислоты жирного ряда (кроме HCOOH) – слабые кислоты. Их натриевые и калиевые соли в водных растворах за счет гидролиза дают щелочную реакцию. Органические кислоты ароматического ряда более сильные. Местное действие проявляется в разрушающем действии на ткани в результате необратимых изменений в состоянии коллоидов. Такое действие обусловлено водородными ионами, образующимися при диссоциации кислот. В действии большинства органических кислот преобладающим является резорбтивное, а не местное действие.

В качестве примера можно привести *уксусную кислоту*. Ее местное действие выражено в меньшей степени по сравнению с неорганическими кислотами и щелочами. На месте действия уксусной кислоты образуется поверхностный струп, который препятствует ее более глубокому проникновению. В результате даже высокие концентрации уксусной кислоты в основном оказывают поверхностное действие и практически не вызывают прободений.

Фенол (карболовая кислота) относится к нервно-протоплазматическим ядам. При прикосновении с тканями фенол сворачивает белок, обезживает и образует сухой струп беловатого цвета. Концентрированные растворы фенола способны разъедать кожные покровы, слабые концентрации вызывают более глубокие поражения кожи. Наблюдается бледность кожных покровов, потеря чувствительности, появление признаков гангрены.

Формальдегид способен при местном действии на ткани быстро свертывать белки. При этом образуется хрупкий белый струп. Формальдегид фиксирует эритроциты. Некротизированные ткани не окрашиваются кровавым пигментом. Он оказывает также общетоксическое действие на центральную нервную систему и вызывает дистрофические изменения почек, печени, миокарда.

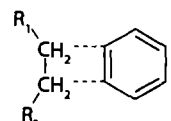
Местное действие *«металлических» ядов* на кожу, слизистые желудка, кишечника, носоглотки, легких основано на деструкции ткани, уплотнении, денатурации белка с образованием струпа. Степень деструктивного воздействия зависит от способности соединений металлов к диссоциации. Это заметно при сравнении местного воздействия солей сильных и слабых кислот (соли азотной, хлороводородной, серной кислот действуют сильнее по сравнению с солями уксусной, пропионовой кислот).

Действие ядовитых веществ на рецепторы

В настоящее время при характеристике резорбтивного действия ядовитого вещества на организм многие токсикологи придерживаются *теории рецепторов токсичности*. Эта теория является скорее попыткой общего и цельного объяснения механизма действия различных соединений. Согласно этой теории условием проявления биологического (токсического) действия веществ является связь молекулы вещества со специфическим для него местом на клеточной мембране или с соответствующей микроструктурой клетки, т.е. с рецептором.

В настоящее время пока не до конца описано, как выглядят рецепторы, каково их физическое и химическое строение, какие физико-химические силы играют роль в процессе связывания химического вещества с рецептором. Можно представить, что рецепторы как белково-липидные структуры являются фрагментами структуры энзимов либо иных

Типы связей вещество–рецептор

Электронная связь (ион–ион)	$R_1-\overset{+}{N}H_3 \cdot \overset{-}{O}=\overset{-}{C}-R_2$	Водородная связь	$R_1-OH \cdots O=C \begin{matrix} R_2 \\ R_2 \end{matrix}$
Ковалентная связь	$R_1-\overset{O}{\parallel}C-O-R_2$		Связь за счет сил Ван-дер-Ваальса
Иондипольная связь	$R_1-\overset{+}{N}H_3 \cdots \overset{-}{O}=\overset{+}{C} \begin{matrix} R_2 \\ R_2 \end{matrix}$		

соединений, имеющих активные группы, способные связывать химические вещества. Рецепторы имеют настолько специфические свойства, что их вид и пространственное строение активных групп позволяет образовывать ограниченный круг связей и реакций между рецептором и химическим веществом.

Типы возможных связей вещество–рецептор представлены в таблице 2.

Возникновение тех или иных связей зависит как от химической структуры вещества и рецептора, так и от фазы взаимодействия. На первой стадии взаимодействия возможно образование ионной связи, которая может путем химического взаимодействия перейти в ковалентную. Местом непосредственного взаимодействия могут быть остатки аминокислот, ферментов, гормонов.

Например, ацилгруппа серина, входящая как составная часть в молекулу фермента ацетилхолинэстеразы (АХЭ), служит местом связи с рецептором для фосфорорганических пестицидов (хлорофос, параоксон и др.), которые фосфорилируют гидроксильную группу серина.

Кинетические исследования показали, что фосфорорганические соединения и фермент за счет ковалентных связей сначала образуют переходное соединение, которое распадается в результате фосфорилирования фермента. Характеристикой этого практически необратимого процесса служит константа фосфорилирования, которая известна для многих фосфорорганических соединений (ФОС) и АХЭ.

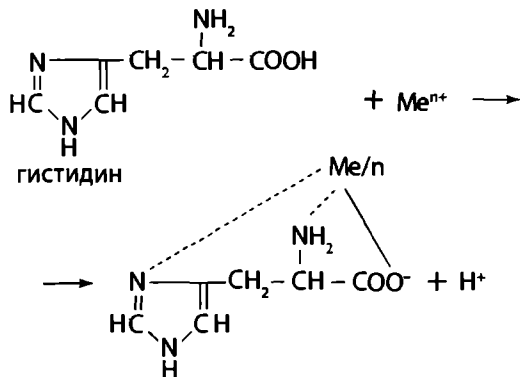
Аналогично ведут себя в организме производные карбаминовой кислоты (например, севин – системный инсектицид). Карбаматы вначале образуют соединения включения с ферментом, перенося группу R_2NCO на гидроксильную группу серина, а затем его карбамоилируют.

Спонтанный процесс реактивации карбамоильных производных АХЭ идет гораздо быстрее, чем фосфорилированных, что объясняется неустойчивостью N-алкильной группы. Период полураспада карбаматов равен 15 мин, а фосфорсодержащих соединений – 8 ч. Поэтому восстановление организма, пострадавшего после отравления карбатами, происходит быстрее, чем у ФОС.

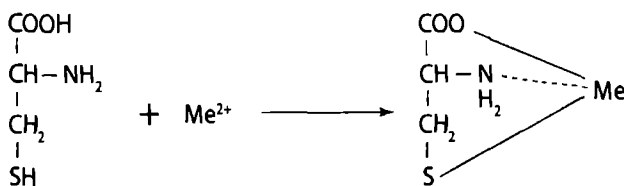
В роли рецепторов токсичности могут выступать различные участки медиаторов и гормонов. Например, опитным рецептором является участок гормона гипофиза β -липотрофина.

Местом первичного действия ядов являются отдельные аминокислоты. Высокой способностью связывать «металлические» яды обладают две аминокислоты: гистидин и цистеин, которые способны образовывать хелатные комплексы. Сюда можно добавить цистин – эффективный специфически действующий агент, способный связывать медь.

Рецепторами часто выступают наиболее реакционноспособные функциональные группы органических соединений, такие как сульфгидрильные, гидроксильные, карбоксильные, которые играют важную роль в жизнеспособности клетки.



Внутрикомплексное соединение гистидина с металлом



Цистеин

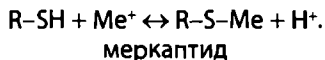
Внутрикомплексное соединение цистеина с металлом

Так, с SH-группами белков и ферментов связаны физиология нервной деятельности, клеточное дыхание, мышечное сокращение, проницаемость клеточной оболочки, в частности, митохондрий, где происходит ряд важных обменных процессов.

Повреждение или инактивация SH-групп металлами ведет к серьезным расстройствам.

Известно более 100 ферментов, активность которых может тормозиться при блокировании в них SH-групп при отравлении металлами.

При этом образуются нерастворимые меркаптиты:



Это действие неспецифично и является общим для многих металлов (медь, серебро, золото, ртуть, мышьяк, сурьма и др.). Некоторые металлы (железо, таллий, молибден, ванадий и др.) легче соединяются с лигандами, которые содержат кислород. Большинству металлов свойственно специфическое угнетение определенных ферментов в малых концентрациях. Поэтому особенности общетоксического действия этими металлами выявляются при длительном контакте с ними.

Таким образом, по современным представлениям, любое химическое вещество, для того чтобы проявлять токсическое действие, должно обладать, по крайней мере, двумя независимыми признаками: сродством к рецептору и собственной физико-химической активностью. Исходя из этого, токсическое действие вещества пропорционально площади рецепторов, занятой молекулами этого вещества.

Максимальное токсическое действие яда проявляется тогда, когда минимальное количество его молекул способно связывать и выводить из строя наиболее жизненно важные клетки-мишени.

Скорость образования комплекса яда с рецепторами, их устойчивость и способность к обратной диссоциации часто играют большую роль, чем степень насыщения ядом рецепторов.

В токсическом действии многих веществ отсутствует строгая избирательность. Их вмешательство в жизненные процессы основано не только на специфическом химическом взаимодействии с определенными клеточными рецепторами, но и на взаимодействии с другими частями клетки.

Большинство известных в настоящее время токсических веществ взаимодействуют с рецептором за счет лабильных, легко разрушающихся связей – ионных, водородных, ван-дер-ваальсовых. Это дает возможность их успешного «отмывания» и удаления из организма. Современные методы детоксикации базируются на возможности разрушения комплекса «яд–рецептор».

Глава 4. БИОТРАНСФОРМАЦИЯ КСЕНОБИОТИКОВ В ОРГАНИЗМЕ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНОГО

Ядовитые вещества, поступившие в организм, под влиянием ферментов подвергаются различным превращениям.

Совокупность всех химических превращений, которым подвергается химическое вещество в живом организме, называют *метаболизмом* или *биотрансформацией*.

Большинство этих реакций катализируются энзимами, которые находятся в микросомах клеток ткани печени, пищеварительного тракта, почек, сердца и др. Порядок и скорость происходящих изменений, виды и количество образующихся продуктов (метаболитов) зависят от химической природы токсического вещества, его взаимосвязи со специфическими или неспецифическими энзимами, путей введения и распределения в организме и других физиологических факторов. На биотрансформацию влияют возраст, пол, состояние отдельных органов человека и его генетика.

В процессе биотрансформации веществ в организме появляются новые вещества (метаболиты), отличающиеся от исходных субстанций по своим физико-химическим и фармакологическим свойствам. Биотрансформацию ксенобиотиков (чужеродных соединений) ранее было принято считать детоксикационным процессом. Однако в ряде случаев ксенобиотики в организме превращаются в более токсичные соединения. По мере накопления таких фактов в токсикологии появился термин «*летальный синтез*».

По предложению Уильямса биотрансформацию рассматривают как двухфазовый процесс. В первую фазу относят реакции окисления, восстановления, гидролиза. Ко второй фазе относят вторичные эффекты, определяемые как реакции конъюгации с некоторыми эндогенными соединениями, в том числе: кислотой глюкуроновой, кислотой серной, кислотой уксусной, аминокислотами, реакции метилирования.

В результате реакций первой фазы образуются метаболиты с более полярными группами (гидроксильными, тиоловыми, карбоксильными и др.), склонными к дальнейшим превращениям во второй фазе биотрансформации.

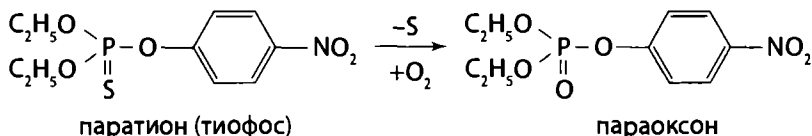
4.1. Понятие о «летальном синтезе»

Как сказано выше, в результате биотрансформации могут образовываться вещества более токсичные (иногда в десятки раз) по сравнению с исходными веществами. Классическим примером может быть снотворный препарат талидомид (Contergan).

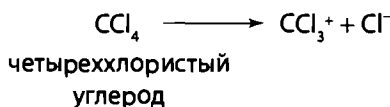
Двухатомный спирт этиленгликоль образует токсические метаболиты, хотя сам является сравнительно малотоксичным веществом:



Еще один пример «летального синтеза» – образование из малотоксичного паратиона (тиофоса) в организме путем замещения атома серы на атом кислорода параоксона – мощного ингибитора холинэстеразы, хотя сам паратион антихолинэстеразной активностью не обладает в опытах *in vitro*:



Одним из путей метаболизма токсических веществ является образование свободных радикалов.

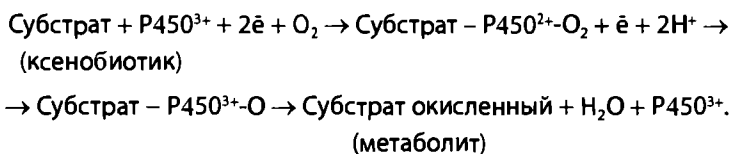


CCl_3^+ взаимодействует с клеточными структурами двумя путями:

- повреждает ферментные системы, в частности цитохром Р-450;
- включается в цепную реакцию перекисления липидов, ненасыщенных жирных кислот внутриклеточных мембран (олеиновой, линолевой, линоленовой, арахидоновой), которые в свою очередь образуют свободные радикалы, что приводит к структурной и функциональной перестройке мембран.

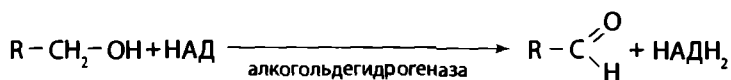
4.2. Процессы превращения веществ в организме (I фаза метаболизма)

Реакции окисления. Основными и наиболее часто встречающимися процессами являются реакции окисления. Их протекание зависит от образования в организме «активного кислорода» с участием определенных энзимов. В состав неспецифических энзимов, содержащихся в микросомах печени, описываемых как системы монооксидаз, входит цитохром Р-450 с негемосвязанным железом и восстановленным никотинамидадениндинуклеотид-фосфатом (НАДФ). Энзимы являются посредниками в использовании молекулярного кислорода для образования «активного кислорода». Этот сложный энзиматический процесс можно упрощенно показать так:

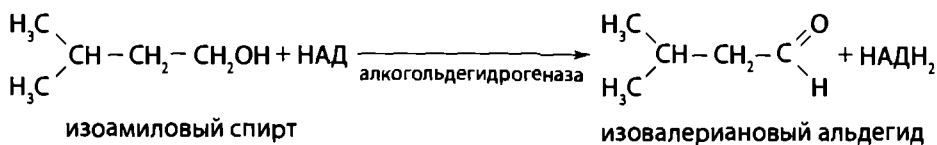


Реакции окисления могут протекать в различных направлениях в зависимости от строения ксенобиотиков.

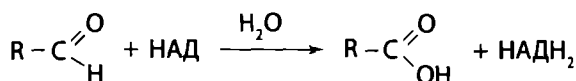
Окисление спиртов



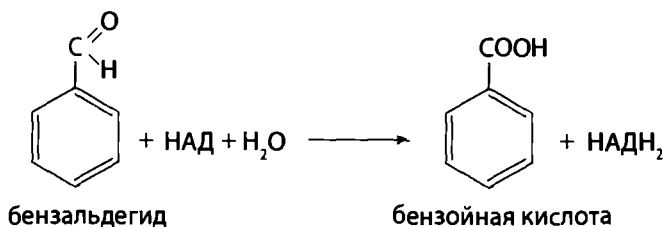
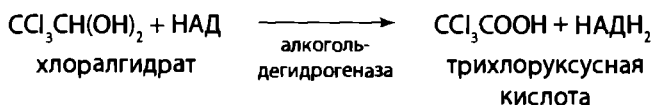
Например:



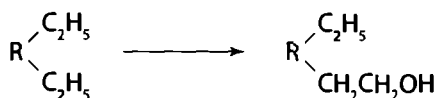
Окисление альдегидов



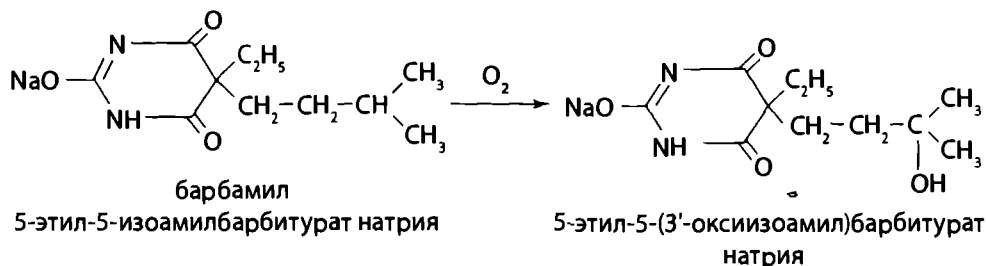
Например:



Гидроксилирование ксенобиотиков с алифатическими радикалами



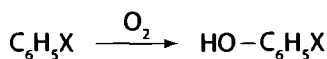
Например:



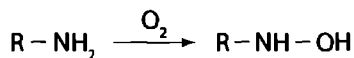
Чем больше углеродных атомов в радикале, тем легче идет реакция алифатического гидроксилирования и тем больше будет образовываться метаболитов.

Гидроксилирование ксенобиотиков с ароматическими радикалами

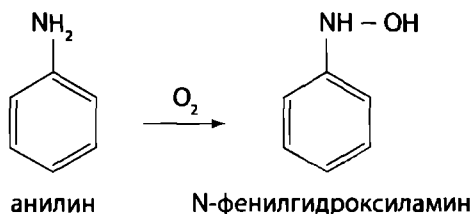
Гидроксилирование фенольного радикала чаще происходит в параположении по отношению к имеющемуся заместителю.



Гидроксилирование ксенобиотиков с аминогруппой

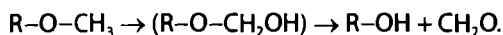
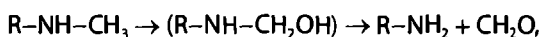


Например:

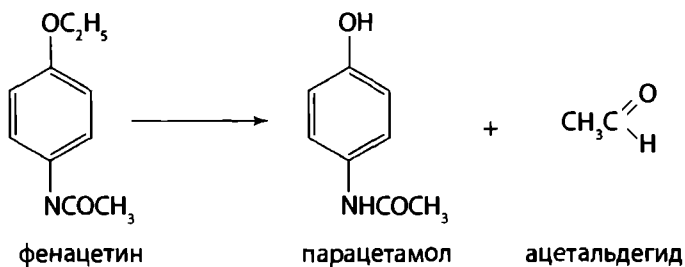
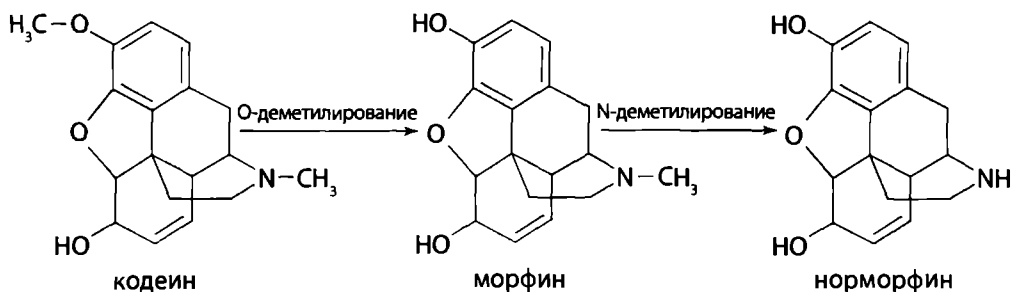


Окислительное N- и O-дезалкилирование

Реакции дезалкилирования можно представить следующим образом:

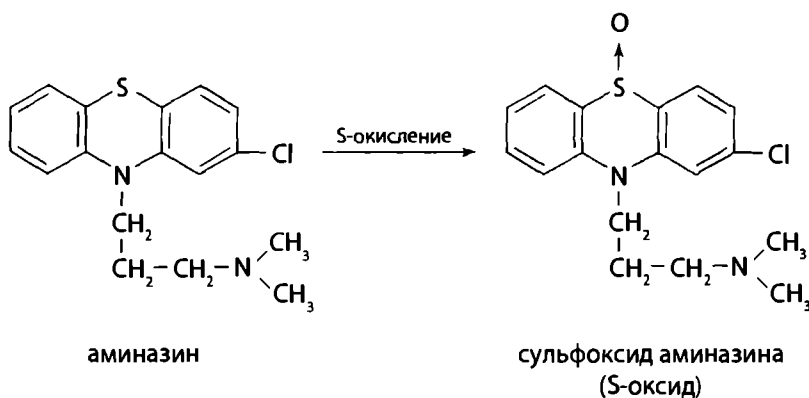
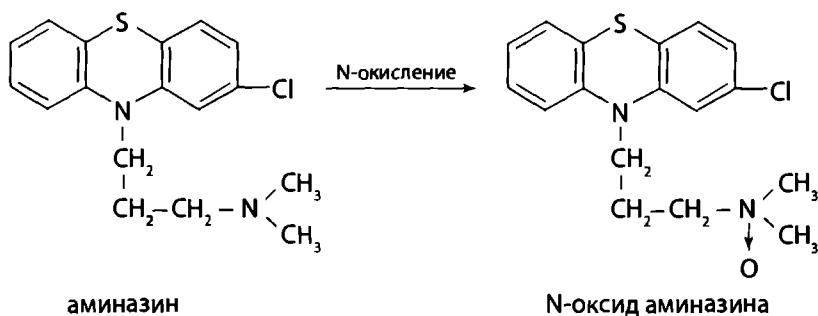


Образующиеся метаболиты могут сохранять или терять активность исходных веществ. Примером может быть деметилирование кодеина до морфина и последующее его деметилирование до неактивного норморфина или дестилирование фенацетина до парацетамола.



N- и S-окисление

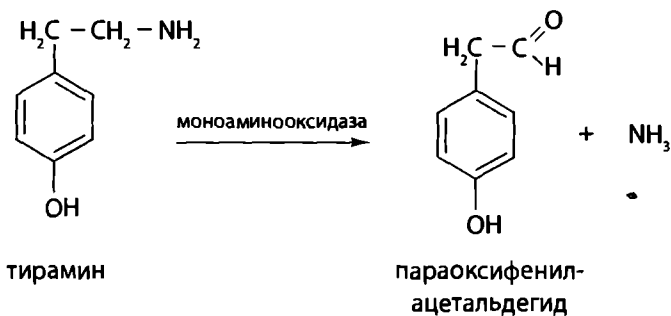
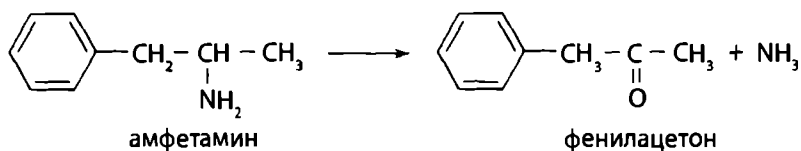
Ксенобиотики, содержащие атомы азота или серы, в организме подвергаются окислению до N-оксидов или сульфоксидов. Примером может быть биотрансформация аминазина.



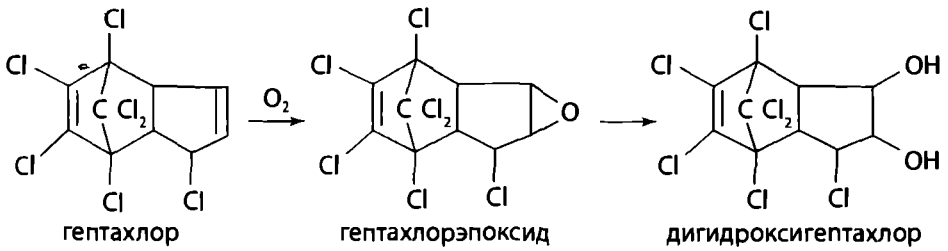
Окислительное дезаминирование

Окисление ксенобиотиков, содержащих первичную аминогруппу, приводит к образованию метаболитов с альдегидной либо кетонной группами.

Как пример можно привести метаболизм амфетамина и тирамина:

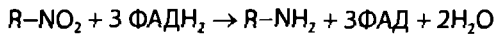
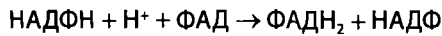


Эпоксирирование с последующим образованием дигидроксипроизводного



Реакции восстановления. Этим реакциям подвергаются ксенобиотики, содержащие нитрогруппу, азогруппу, N-оксидную группу или ненасыщенные связи. Процессы восстановления катализируются с помощью флавопротеиновых энзимов, присутствующих в микросомах печени, и восстановленным НАДФН.

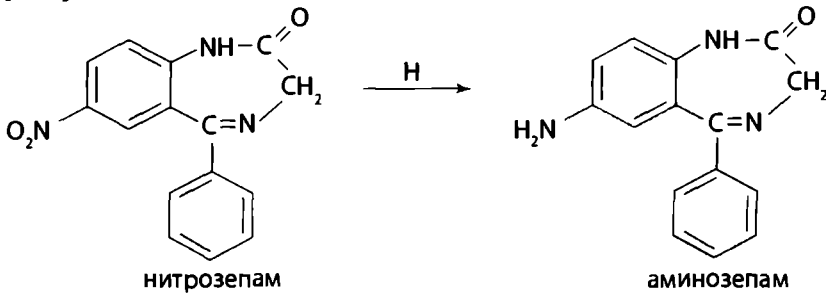
Схематично эти процессы представляют так:



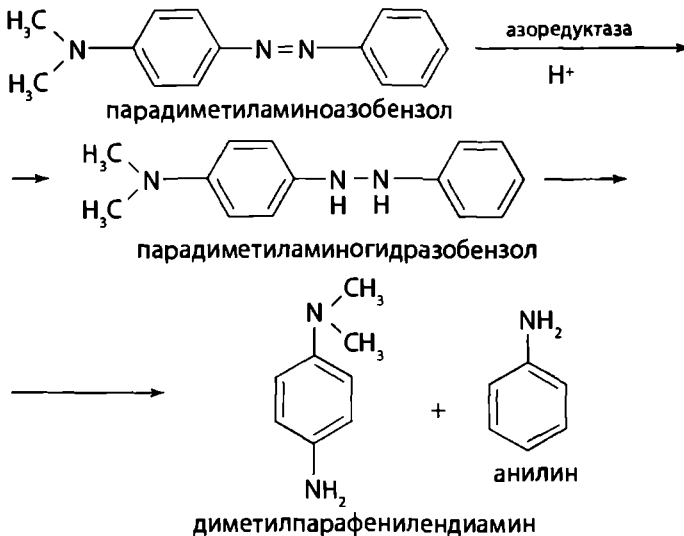
ФАД – флавинаденин-динуклеотид, катализирует перенос водорода на кислород.

НАДФН – восстановленный никотинамидаденин-динуклеотидфосфат.

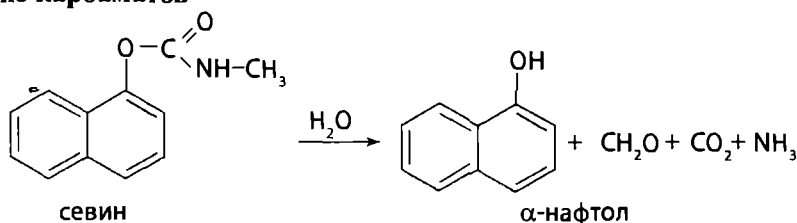
Например:



Азосоединения восстанавливаются до гидразосоединений, а затем расщепляются до двух молекул ароматических аминов. Оба процесса катализируются одним ферментом.

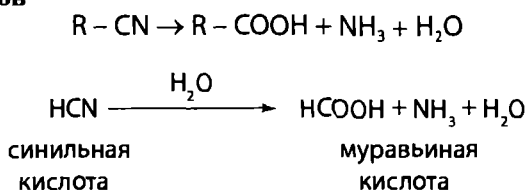


Гидролиз карбаматов

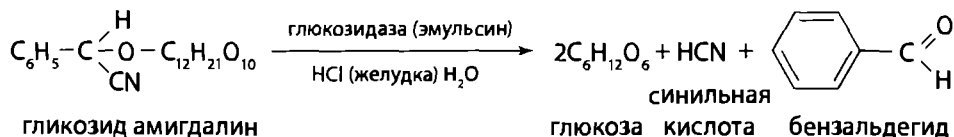


Гидролиз нитрилов

Например



Гидролиз гликозидов

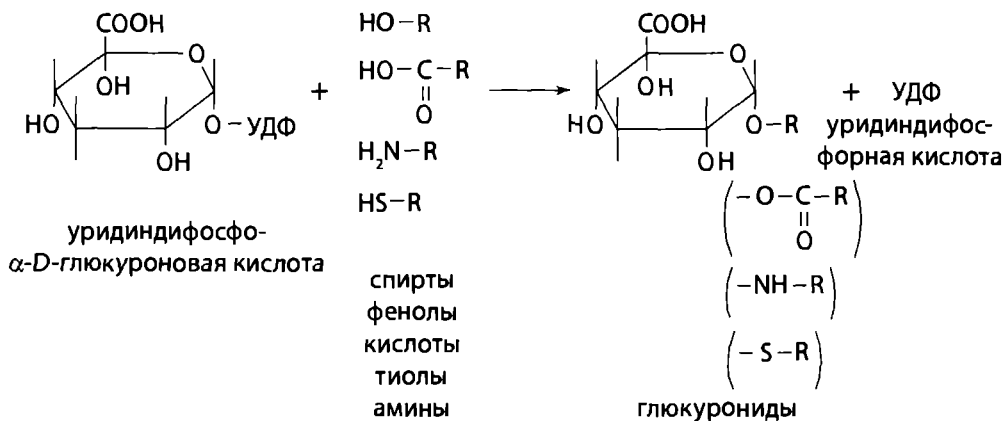


4.3. Конъюгация ксенобиотиков и метаболитов (II фаза метаболизма)

Во второй фазе биотрансформации происходят реакции конъюгации. Эти процессы обусловлены либо предварительным образованием активной формы метаболита в первой фазе, либо образованием активной формы веществ эндогенного характера. Для образования активных форм затрачивается энергия за счет разложения АТФ.

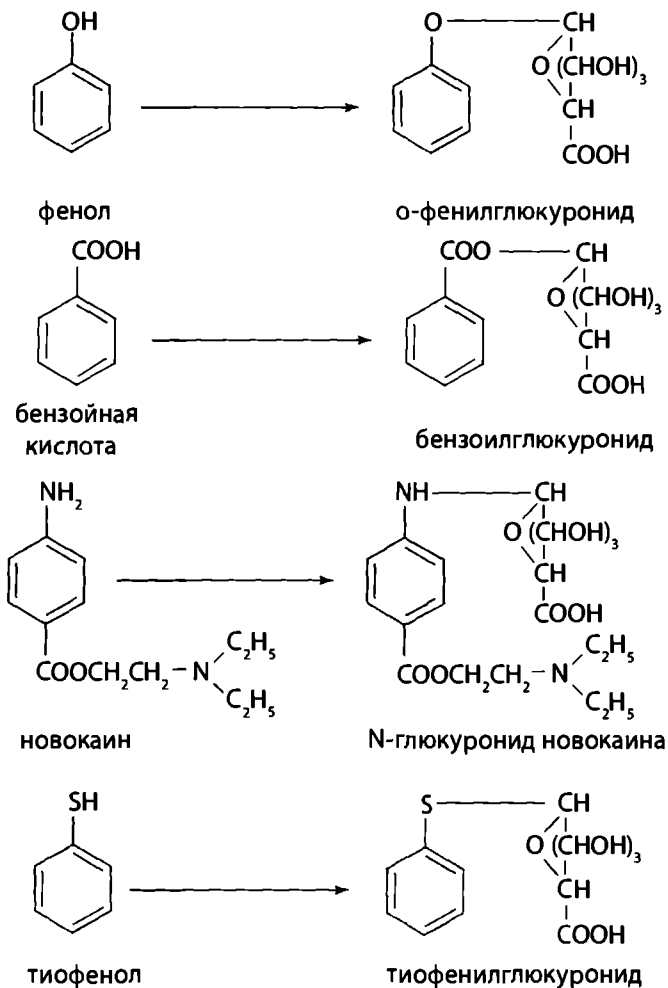
Конъюгация с глюкуроновой кислотой. Реакции конъюгации с этой кислотой чаще всего подвергаются спирты, фенолы, алифатические и ароматические кислоты, ароматические амины, тиолы, карбаматы, а также некоторые гетероциклические соединения.

Активной формой глюкуроновой кислоты является уридиндиффо- α -D-глюкуроновая кислота. Процесс катализируется глюкуронилтрансферазой по схеме

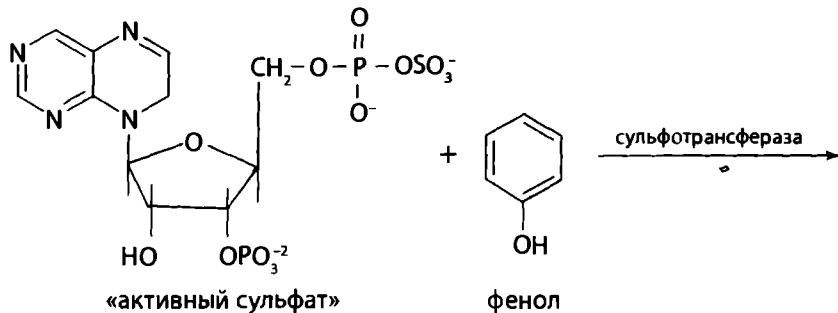


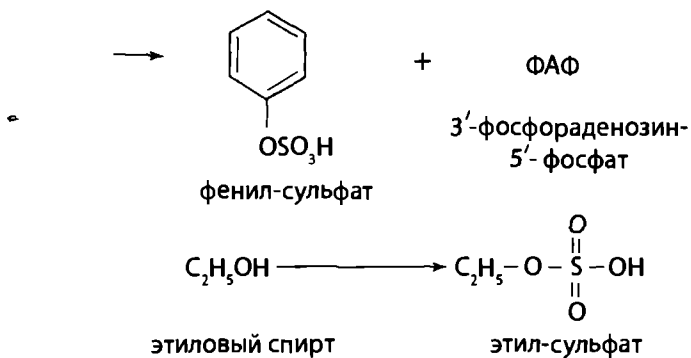
В результате образуются гидрофильные вещества, легко удаляемые через мочевыделительную систему.

Примеры конъюгации с глюкуроновой кислотой:

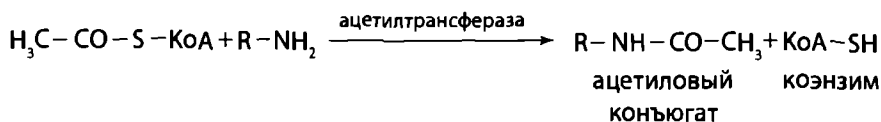


Конъюгация с серной кислотой. Процессы конъюгации с серной кислотой проходят реже, чем с глюкуроновой. В реакцию конъюгации вступает так называемый «активный сульфат», образующийся из АТФ и сульфат-ионов при участии АТФ – сульфотрансферазы. Конъюгации подвергаются фенолы, амины, спирты.

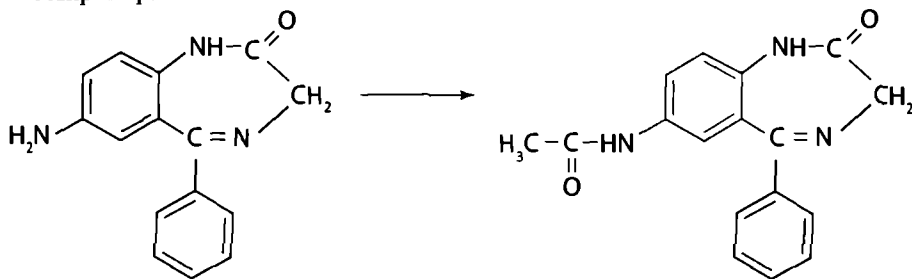




Конъюгация с уксусной кислотой. Ксенобиотики или метаболиты, содержащие свободную аминогруппу, могут подвергаться в организме реакции ацетилирования. Реакция протекает при участии коэнзима А и ацетилтрансферазы.



Например:



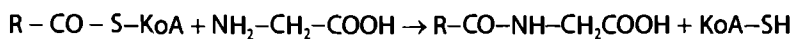
восстановленный нитразепам

конъюгат восстановленного нитразепама с уксусной кислотой

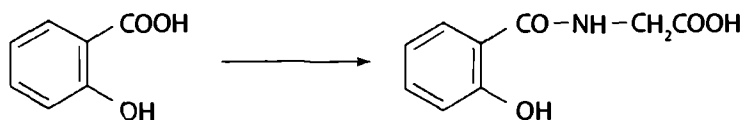
Продукты ацетилирования малорастворимы в воде и могут вызывать нежелательные последствия (например, явления кристаллурии при лечении некоторыми сульфаниламидами).

Конъюгация с аминокислотами

Ароматические кислоты могут подвергаться в организме конденсации с аминокислотами. В этом случае при участии АТФ и коэнзима А образуется активная форма метаболита, связывающаяся с эндогенной кислотой, чаще всего с глицином, цистеином, глутаминовой кислотой или таурином.



Например:

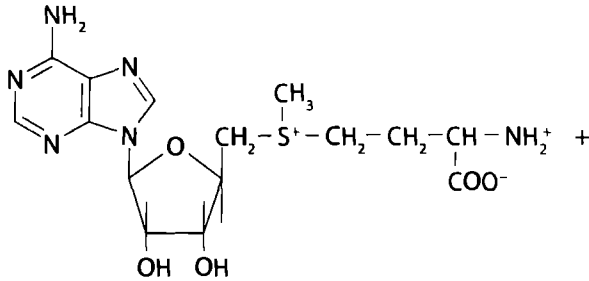


салициловая кислота

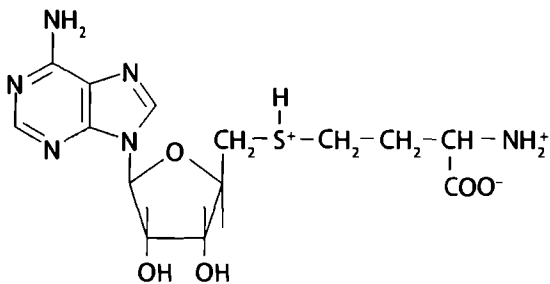
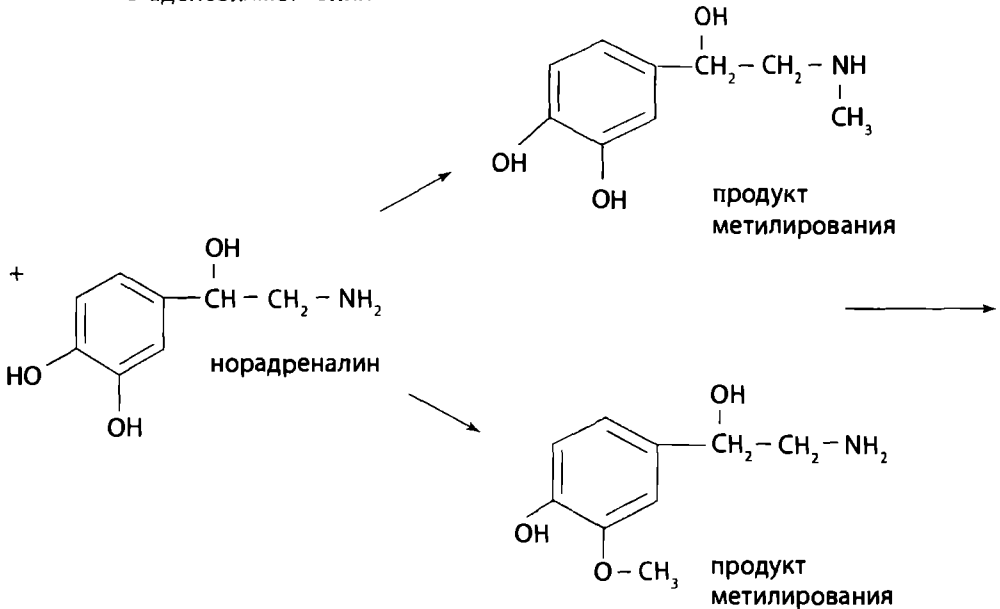
салицилуровая кислота
(оксигиппуровая кислота)

Реакции метилирования. Ксенобиотики или их метаболиты, содержащие атомы со свободной парой электронов (кислород, азот, сера), могут подвергаться реакциям метилирования. Источником метильных групп для этих реакций является «активный метионин», образующийся из метионина и АТФ. Процесс метилирования катализируется с помощью метилтрансферазы в печени, почках, нервной ткани.

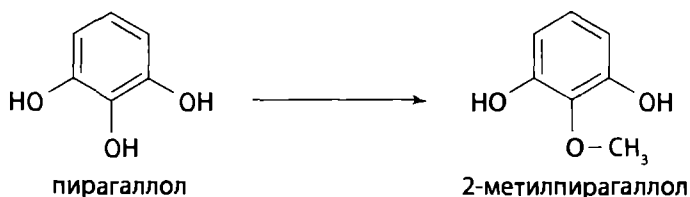
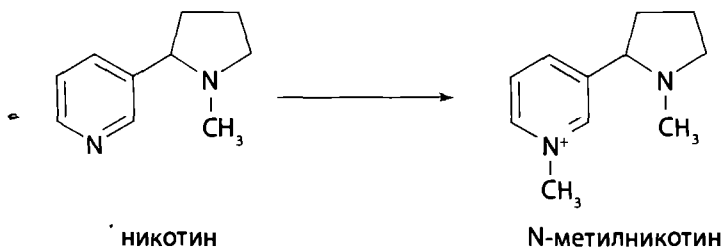
Метилированию могут подвергаться катехоламины, производные пиридина, тиолы и др. Например:



S-аденозилметионин

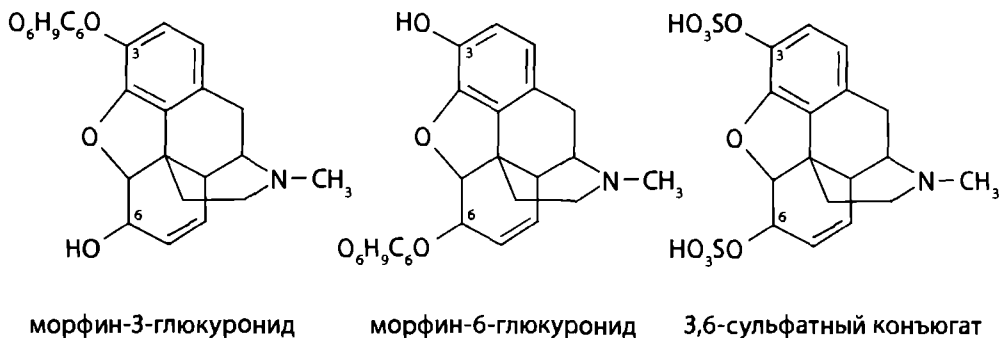


S-аденозилгомоцистеин



Если молекула имеет две или более функциональных групп, способных образовывать конъюгаты, то обычно конъюгируется одна группа. Двойные конъюгаты образуются легче, если конъюгация по одной функциональной группе не увеличивает полярность молекулы настолько, чтобы вызвать ее быстрое выделение из организма.

Некоторые соединения способны образовывать двойные конъюгаты. К их числу относятся реакции образования конъюгатов с глюкуроновой кислотой и сульфатами. Например, морфин может образовывать одинарные и двойные конъюгаты за счет двух гидроксильных – фенольного и спиртового:



Чужеродные соединения могут метаболизироваться несколькими путями. Например, сложные эфиры гидролизуются до спиртов и кислот. Спирты окисляются до кислот и вступают в реакцию конъюгации с глицином. Нитросоединения восстанавливаются до аминов, которые затем ацетируются и т.д. Особенности путей метаболизма отдельных ядовитых, сильнодействующих и наркотических веществ будут нами рассматриваться при изучении свойств, токсичности и методов анализа конкретных соединений.

4.4. Факторы, влияющие на метаболизм ксенобиотиков

Скорость метаболизма чужеродных соединений зависит от многих факторов, которые могут оказывать влияние на проявление токсичности и изменять картину метаболизма. Эти факторы можно подразделить на генетические, физиологические и связанные с окружающей человека средой.

Генетические факторы и видовые различия. Эти факторы обусловлены дефектами ферментных систем, что вызывает отклонения в картине метаболических процессов и токсического действия. Например, при некоторых заболеваниях в организме может отсутствовать фермент глюкуронилтрансфераза, что приводит к хронической желтухе, особенно у новорожденных детей. Когда у таких людей возникает необходимость дополнительно конъюгировать чужеродные соединения, например салицилаты, может наступить желтуха мозговых ядер (повреждение мозга билирубином).

У некоторых людей отмечено снижение скорости ацетилирования (например, изо니아зида). В результате его содержание в плазме оказывается более высоким. Это приводит, с одной стороны, к более сильному противотуберкулезному действию, а с другой – к большей чувствительности к побочному токсическому воздействию препарата и т.д.

Известно, что ацетилирование ароматических аминов происходит у человека, кролика и крысы, но не у собак. Образование глюкуронидов осуществляется у большинства млекопитающих, но не имеет места у кошек.

Глютаминовая конъюгация возможна у человека, но в животном мире обнаружена только у шимпанзе. Синтез с участием орнитина происходит только у птиц. Скорость метаболизма может меняться у разных видов. Эти различия часто очень значительны.

Существенное влияние в индивидуальной реакции организма на химическое соединение имеют тип и состояние высшей нервной деятельности.

Животные, занимающие более высокое положение в эволюционном ряду, чувствительнее к большинству нейротропных химических соединений, действующих преимущественно на центральную нервную систему. Большие одинаковые дозы фосфорорганических соединений на морских свинок действуют в 4 раза сильнее, чем на мышей, и в сотни раз сильнее, чем на лягушек.

Яд ЦНС тетраэтилсвинец является более сильным для крыс, чем для кроликов. Кролики более чувствительны к эфиру, чем собаки.

Эти различия определяются биологическими особенностями, присущими животным каждого вида, и, прежде всего, степенью развития отдельных систем, их компенсаторными механизмами и возможностями, а также интенсивностью и характером обменных процессов и биотрансформации чужеродных соединений. Это позволяет биохимически оценить факт устойчивости кроликов к атропину, которые переносят дозы в 100 раз больше, чем смертельная доза для человека. Выяснено, что их кровь содержит эстеразу, которая гидролизует атропин и отсутствует у человека.

Человек оказался более чувствителен ко многим химическим веществам, чем теплокровные животные. В 5 раз человек чувствительнее к серебру, чем морские свинки и кролики, и в 25 раз, чем крысы. К таким соединениям, как героин, атропин, морфин, человек чувствительнее в десятки раз.

Действие токсических веществ на животные организмы также различно. На собак морфин оказывает, как и на человека, наркотическое действие, а у кошек вызывает сильное возбуждающее действие и судороги. Бензол вызывает у кроликов и у человека угнетение кровяной системы и не действует на собак. Даже у обезьян реакции на яды, по сравнению с человеком, сильно различаются.

Физиологические факторы. На течение отравления и метаболизм чужеродных соединений оказывают влияние возраст, степень развития ферментных систем, пол, гормональный фон, питание, беременность, заболевания, длительность приема лекарственных веществ.

Молодые особи часто легче подвержены отравлению, чем взрослые. Это объясняется недостаточной активностью микросомальных ферментов у молодых особей. У ново-

рожденных животных и человека отсутствует цитохром P-450, принимающий участие в микросомальном окислении ядов. У крыс он достигает нормальной активности к 30-му дню, а у человека – к концу второго месяца жизни.

Способность организма новорожденных синтезировать конъюгаты значительно ниже, чем у взрослых, поэтому многие химические вещества и лекарства более токсичны для детей. Из-за этого ребенок хуже переносит действие таких ядов, как никотин, алкоголь, свинец, сероуглерод, стрихнин, алкалоиды опия. Более устойчивы, чем взрослые, дети до 1 года к действию оксида углерода – яду, который блокирует кислородопередающую функцию крови. Это объясняется меньшей чувствительностью ребенка к кислородному голоданию.

Дети до 6 месяцев имеют еще несформированные ферментные системы и поэтому обладают повышенной чувствительностью к морфину, его аналогам, которые вызывают часто остановку дыхания, барбитуратам, приводящим к глубокому наркозу

Лица пожилого возраста также тяжело переносят интоксикацию. При лечении часто вводят лекарственные вещества без учета возраста. Это приводит к коллапсу, кровоизлияниям в мозг и т.п.

Влияние пола на проявление токсичности и скорости метаболизма было изучено на крысах. Установлено, что самки более устойчивы к действию оксида углерода, ртути, свинца, наркотических и снотворных веществ, в то время как самцы устойчивее самок к воздействию ФОС, никотина, стрихнина, соединений мышьяка, что можно объяснить существенными различиями скорости биотрансформации яда в клетках печени, биологической спецификой мужских и женских половых гормонов. Это различие начинает проявляться при достижении ими половой зрелости.

Гормоны щитовидной железы, надпочечников, поджелудочной железы способны изменить функцию микросомальных ферментов печени.

При беременности, особенно в конце ее, уменьшается глюкуронидная конъюгация химических соединений за счет накопления в тканях прогестерона и прегнандиола, которые подавляют активность глюкуронидазы. В результате нарушается метаболизм многих ядов.

Питание влияет на активность ферментных систем печени. При голодании нарушается метаболизм некоторых барбитуратов, производных пиразола. При дефиците в пище белка и кальция возрастает токсичность аспирина и некоторых других веществ.

При различных заболеваниях наблюдается повышенная чувствительность ко многим химическим веществам и медикаментам. Это связано с нарушением детоксикационной функции печени, снижением иммунной резистентности организма, появлением различных осложнений. Отравление в условиях заболевания приводит к суммированию патологических эффектов. У пациентов, больных гепатитом, циррозом печени, нарушено образование глюкуронидов и сульфатных соединений.

Длительный прием чужеродных соединений приводит к развитию химической зависимости, сенсбилизации и возникновению аллергических реакций.

Химическая зависимость – состояние, при котором в результате длительного приема препарата человек вынужден продолжать его прием уже без медицинских показаний. Различают психическую, физическую зависимость и привыкание (толерантность).

Психическая зависимость основана на приятных ощущениях, что приводит к желанию (даже непреодолимому) снова и снова принимать это вещество.

Физическая зависимость – состояние адаптации, которое характеризуется развитием тяжелых нарушений физического состояния при прекращении приема вещества или нейтрализации его действия специфическим антагонистом. Это расстройство носит название **абстинентного синдрома**

Психическая зависимость является характерной чертой для всех видов лекарственной зависимости, физическая – развивается при приеме препаратов группы морфина и барбитуратов.

При длительном лечении может появиться привыкание к препарату. Это чаще всего проявляется при приеме снотворных, обезболивающих, слабительных, гипотензивных и мочегонных средств. Это влечет за собой увеличение дозы для ожидаемого терапевти-

ческого эффекта, что приводит к внезапному развитию интоксикации. Значительная степень привыкания у наркоманов приводит к тому, что морфинисты используют до 6–10 г морфина в сутки без признаков интоксикации, в то время как смертельная доза препарата для взрослого здорового человека составляет 0,2–0,3 г

Прием аминазина может достигнуть при привыкании к нему 10–14 г в сутки, а суточная доза с лечебной целью не превышает 1–1,5 г

Наблюдается привыкание к фенобарбиталу, мепробамату, гексобарбиталу и другим веществам, что объясняется способностью этих лекарств ускорять свой собственный метаболизм.

Привыкание к барбиталу, морфину, кодеину обусловлено изменением чувствительности рецепторного аппарата.

Аллергия – мера защиты сенсibilизированного организма от веществ и факторов, несущих в себе признаки генетически чужеродной информации. Реакцию организма на яд можно считать аллергической, если при повторном воздействии происходит реакция антиген (аллерген)–антитело, проявляющаяся в виде типичных аллергических синдромов.

Различают аллергию, токсичность и идиосинкразию. Токсический эффект возникает при применении высоких доз вещества. **Идиосинкразия** – генетически обусловленная своеобразная реакция организма на данный препарат. Оба эффекта – токсический и идиосинкразический – зависят от дозы вещества. При медикаментозной аллергии не существует зависимости между дозой и эффектом. Даже самые маленькие количества препарата могут вызвать тяжелейшую реакцию в сенсibilизированном организме. Таким образом, реакция организма на вещество определяется не дозой, а состоянием иммунной системы.

Кумуляция химических соединений наблюдается сравнительно часто. Кумулятивным свойством обладают хлорорганические соединения, соли тяжелых металлов и мышьяка, а также многие лекарственные препараты. Кумулятивное действие вещества проявляется в том случае, когда интервал между введением субтоксических доз не более того срока, в течение которого яд при предыдущем его приеме остается в организме или сохраняется его токсическое влияние, не проявляющееся как острое отравление. Кумуляция характерна для веществ, которые вызывают необратимые или мало обратимые явления в организме или медленно метаболизируют и плохо выводятся из организма.

Влияние некоторых факторов внешней среды на действие и метаболизм ядов

Различия между «внутренними» (присущими организму) и «внешними» факторами по силе токсического эффекта являются чисто условными. Изменения внешних условий редко могут изменить состояние яда настолько, что это приводит к резкому изменению токсического эффекта, хотя температура, влажность могут существенно повлиять на физико-химические свойства ядов. Воздействие изменений температуры внешней среды приводит к изменению дыхания и кровообращения, ускорению многих биохимических процессов, в частности к увеличению интенсивности микросомального окисления.

Некоторыми авторами изучалось влияние барометрического давления на токсический эффект чужеродных соединений. Установлено, что снижение барометрического давления до 500 и 600 мм рт.ст. усиливает токсическое действие оксида углерода. Повышение барометрического давления вызывает изменения многих физиологических функций, что влияет на эффект взаимодействия организма и яда. Усиливается токсичность этилового спирта, пестицидов, а также некоторых наркотических средств.

Ионизирующая радиация вызывает в организме типичную стрессовую реакцию. Это воздействие приводит к угнетению ряда биохимических реакций. Установлено, что при этом наблюдается угнетение процессов гидроксилирования стероидов, у молодых особей прекращается развитие системы микросомальных ферментов, которая десульфировывает некоторые яды, но не оказывает воздействия на развитие других микросомальных редуц-

таз. При облучении всего организма рентгеновскими лучами угнетается глюкуронидная конъюгация стероидов и некоторых других веществ.

Повышенный шум и вибрация увеличивают токсичность некоторых наркотических средств, дихлорэтана, оксида углерода, этилового спирта и других ядов.

Стимулирование процессов метаболизма можно достичь путем введения в организм других чужеродных соединений, таких как медикаменты, пестициды, полициклические углеводороды. В результате происходит активирование микросомальных ферментов в различных тканях (печени, почках, легких, кишечнике и коже). Типичным таким активатором является препарат фенobarбитал, который при предварительном введении увеличивает скорость гидроксилирования, деметилирования, восстановления азосоединений и других микросомальных биотрансформаций. При этом увеличивается количество цитохрома P-450 и НАДН-цитохром-С-редуктазы за счет увеличения скорости синтеза ферментов и уменьшения скорости их распада.

Ингибирование метаболизма достигается также при введении некоторых чужеродных соединений, которые способны подавлять микросомальный метаболизм, что приводит к продлению токсического действия лекарственных веществ. Механизм их действия не изучен полностью. Установлено, что некоторые из них подавляют N-деметилование этилморфина конкурированием за активный центр фермента. Введение 4-диметиламиноазобензола подавляет печеночный микросомальный метаболизм чужеродных соединений. Некоторые вещества способны ингибировать глюкуронидную конъюгацию.

Таким образом, *токсический эффект чужеродного соединения есть результат взаимодействия трех основных факторов: организма, яда и условий внешней среды.*

4.5. Выведение ксенобиотиков и их метаболитов из организма

Токсические соединения и их метаболиты выводятся из организма различными путями в зависимости от места их локализации и механизма выведения. Основными путями выведения или экскреции являются почки, кишечник, легкие, кожа. Таким образом, выведение ядовитых веществ возможно с мочой, с желчью, со слюной, с выдыхаемым воздухом, с потом. У женщин часть ядов или их метаболитов могут выделяться с молоком.

Выделение ксенобиотиков почками. Экскреция ядовитых веществ через почки происходит путем пассивной фильтрации и активного транспорта.

Пассивная фильтрация основана на образовании в почечных клубочках ультрафильтрата, в котором чужеродные соединения и их метаболиты содержатся в той же концентрации, что и в плазме. Почечный нефрон можно представить как длинную полупроницаемую трубку, через стенки которой происходит обмен веществ между кровью и мочой путем диффузного обмена. В почечных канальцах неэлектролиты, хорошо растворимые в липидах, путем пассивной диффузии могут проникать в двух направлениях:

- из канальцев в кровь – реабсорбция (так как в фильтрате концентрация токсических веществ в 3–4 раза выше, чем в плазме);
- по градиенту концентрации из крови в канальцы – секреция.

Количество токсического вещества, выделяемого с мочой, зависит от интенсивности его реабсорбции в дистальном отделе нефрона.

Количественно скорость экскреции оценивают с помощью почечного клиренса, численно равного объему плазмы крови, полностью освобожденному от ксенобиотика в единицу времени.

Гидрофильные ионизированные и полярные соединения имеют более высокий почечный клиренс по сравнению с липофильными неионизированными соединениями. Это объясняется тем, что ионизированные соединения при прочих равных условиях меньше реабсорбируются. Неионизированные соединения являются в большей степени жирорастворимыми, в значительной степени подвергаются реабсорбции и поэтому имеют низкий почечный клиренс. В связи с этим, на почечный клиренс влияет значение показателя

кислотности мочи (значение рН) При значении рН ниже 7 в ионизированном состоянии будут находиться основания, при значении рН больше 7 в ионизированное состояние переходят кислоты Степень ионизации кислот определяется величиной ($pK_a + pH$), степень ионизации оснований – величиной ($pK_a - pH$) Значение рН мочи колеблется от 4,8 до 7,5, поэтому слабые кислоты и слабые основания могут находиться в ионизированной или неионизированной форме в зависимости от их значения pK_a

Активный транспорт. В почечных канальцах существуют независимые системы активного транспорта Этим путем выводятся эндогенные органические кислоты и основания (мочевая кислота, холин, гистамин), а также чужеродные соединения сходной структуры, которые секретируются из крови в мочу с участием тех же переносчиков

Конъюгаты с глюкуроновой, серной и другими кислотами также концентрируются в моче благодаря активному канальцевому транспорту и имеют высокий почечный клиренс

Металлы выделяются почками не только в ионном виде, но и в виде органических комплексов Они подвергаются клубочковой ультрафильтрации, а затем через канальцы проходят путем активного транспорта

Выведение ксенобиотиков желчью. Печень играет важную роль в выведении многих чужеродных соединений из организма После метаболизма токсических веществ в печени их выделение с желчью зависит от размера молекул и молекулярной массы, с увеличением которой возрастает и скорость выделения С желчью эти вещества выделяются в виде конъюгатов, некоторые из них подвергаются разложению гидролитическими ферментами желчи Желчь с токсическими веществами поступает в кишечник, где ядовитые вещества снова могут всосаться в кровь и выделяться затем с мочой почками

С калом выводятся только те вещества, которые выделяются с желчью в кишечник и повторно не всасываются (соли тяжелых металлов, каннабиноиды, некоторые производные фенотиазина) Таким образом, через кишечник с калом удаляются невсосавшиеся в кровь токсические вещества при пероральном поступлении, выделяемые желчью, поступившие в кишечник через его стенки путем пассивной диффузии по градиенту концентрации

Выведение ксенобиотиков через легкие. Легкие являются главным органом выделения из организма летучих жидкостей и газообразных веществ Чем меньше коэффициент растворимости в воде вещества, тем быстрее оно выделяется, особенно та его часть, которая циркулирует в крови, так как такие токсические вещества легко проникают из крови в альвеолы и через их мембраны выделяются с выдыхаемым воздухом Выделение летучих веществ, депонированных в жировой ткани, происходит медленнее, причем это количество яда может быть значительным Например, 50% поступившего ингаляционным путем хлороформа выделяется в течение 8–12 ч, а остальная часть – в течение нескольких суток Некоторые вещества метаболизируются в организме до углекислого газа, воды, аммиака и также выделяются с выдыхаемым воздухом

Выделение ксенобиотиков через кожу. Кожа является органом, через который способны вместе с потом выводиться многие ядовитые вещества этиловый спирт, ацетон, фенолы, алкилгалогениды, некоторые металлы, хинин, камфора и др

Выведение ксенобиотиков с молоком. С молоком могут выводиться и попадать в организм ребенка многие токсические вещества (этиловый спирт, аспирин, барбитураты, кофеин, морфин, никотин и др) Коровье молоко может содержать отдельные пестициды и токсические соединения, которыми обрабатывают растения, поедаемые животными

Выделение ксенобиотиков со слюной. Экскреция веществ со слюной имеет значение для токсикологической химии в том случае, когда их концентрация в слюне коррелирует с концентрацией в плазме крови Основной механизм экскреции со слюной – пассивная диффузия Скорость диффузии зависит от многих факторов, это создает трудности при интерпретации данных по биотрансформации ядовитых веществ

Таким образом, анализ продуктов экскреции из организма важен для токсикологической химии и токсикологии при разработке методов анализа ксенобиотиков, выборе методов детоксикации

4.6. Возможные превращения ксенобиотиков в трупах, образование трупных ядов (птомаинов)

Для химика особые трудности представляет анализ объектов, изъятых после смерти человека. Поэтому изучение процессов, происходящих с ядовитыми веществами и объектами исследования в трупе, имеет значение в определении путей анализа и выработки обоснований для объективного заключения. Обнаружение ядов в биологическом объекте само по себе довольно сложная задача. Вероятность и достоверность обнаружения ядовитых веществ в органах и тканях трупа, подвергшегося гнилостным процессам, во много раз уменьшаются. Это объясняется тем, что в посмертный период параллельно протекают два процесса: процесс разложения ядовитых веществ и процесс образования продуктов гнилостного разложения тканей. В организме живого человека ядовитые вещества подвергаются биотрансформации как неотъемлемому процессу жизнедеятельности, после гибели эти процессы заканчиваются. Сразу начинается превращение ядовитых веществ по другому механизму, так как естественные ферменты живого организма теряют свою активность (погибают). Разложение проходит по общим законам разрушения органических веществ. На этот процесс оказывают влияние совершенно другие факторы.

После гибели кислотно-щелочной баланс (рН среды) в трупе смещается в кислую сторону. Вследствие этого активность специфических клеточных ферментов – катепсинов (бактерий кишечника) резко повышается. Начинается аутолиз тканей (самопереваривание клеток). Резко возрастает активность трупной бактериальной флоры, сопровождающаяся выделением микробных ферментов. Три указанных фактора: изменение рН среды, микробные и клеточные ферменты, а также действие влаги и доступ воздуха оказывают главное влияние на сохраняемость ядовитых веществ в органах трупа.

Гнилостное разложение органов и тканей приводит к образованию новых соединений. Число таких веществ достигает 1000 и более (по данным Гадамера – примерно 1300). Но проблему составляет не число, а структура веществ. Некоторые продукты гнилостного разложения могут давать одинаковые реакции с ядовитыми веществами, которые могли быть причиной отравления. Поэтому химик должен учитывать, как скоро разрушается ядовитое вещество в трупах и какие продукты гнилостного разложения могут исказить результаты анализа и привести к неверному заключению.

По скорости разложения резко различаются яды органической и неорганической природы. Яды органической природы отличаются друг от друга в зависимости от их структуры. Наиболее быстро разлагаются сложные эфиры, содержащие остатки алифатических спиртов или кислот. Более длительный период разрушения имеют сложные эфиры ароматических кислот, особенно связанных с гетероциклами (например, атропин, кокаин). Быстро разрушаются сердечные гликозиды. По данным Л.М.Власенко, через месяц в модельных смесях обнаруживается всего 1/3 от введенной дозы препарата (строфангина). Другие гликозиды через этот срок вообще невозможно количественно определить. Ароматические соединения в трупном материале сохраняются несколько дольше, чем алифатические и гидроароматические.

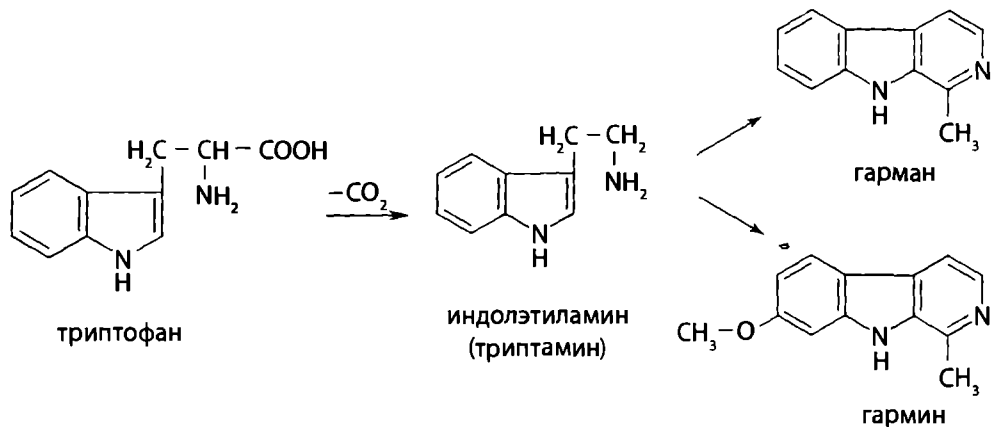
Органические яды при гнилостном разложении в большей степени подвергаются реакциям деструкции: декарбосилирования, десульфирования, деметилирования, гидролиза, окисления – и, редко, реакциям синтеза. Реакции деструкции ядов в трупах более интенсивно протекают в первоначальный период после гибели, затем несколько замедляются по мере уменьшения или замедления действия указанных выше факторов. В большинстве случаев обнаружение органических ядов почти невозможно через шесть месяцев после захоронения трупа. Это не относится к вещественным доказательствам, которые были специальным образом законсервированы. В этих условиях действие клеточных и микробных ферментов остановлено целенаправленным действием. При консервировании модельных смесей 96% спиртом и хранении их в течение года Л.М.Власенко определяла строфангины К и G примерно в тех же количествах, какие были первоначально добавлены к объектам.

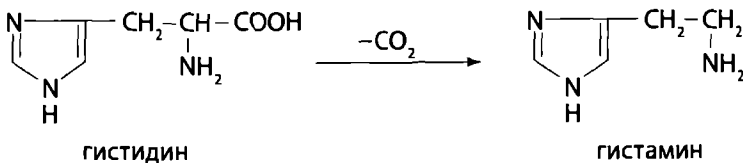
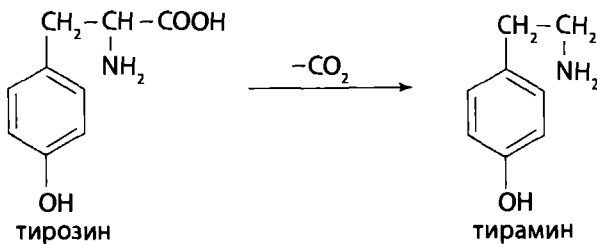
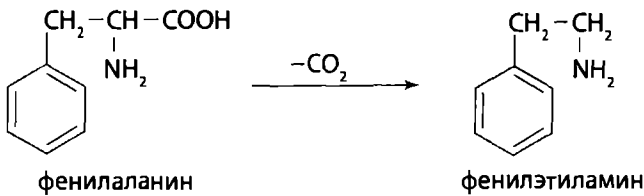
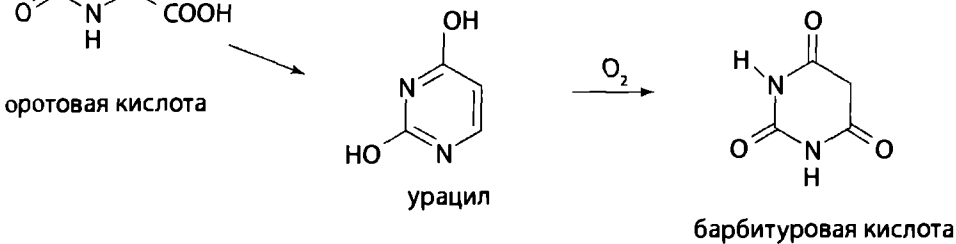
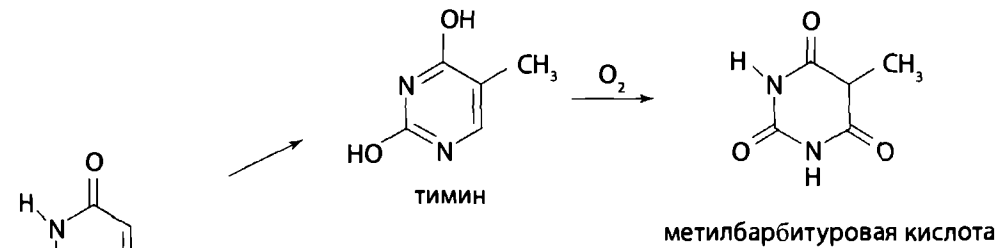
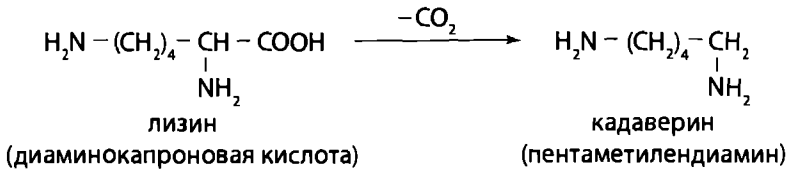
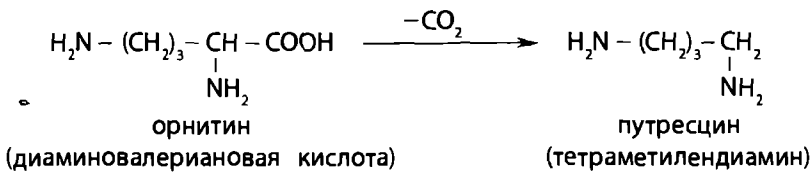
Время сохранения неорганических ядов в объектах по сравнению с органическими ядами во много раз больше. Это связано с тем, что большинство неорганических ядов практически не изменяется в трупном материале. Известны процессы восстановления «металлических» ядов до низшей степени окисления. Соединения мышьяка, фосфора, серы, сурьмы, висмута можно обнаружить по содержанию элементов даже после полного гнилостного разложения трупов. Некоторые элементы остаются в костной ткани (свинец), волосах, ногтях, коже (мышьяк), если отравление было длительным (хроническим). Отравление некоторыми неорганическими ядами можно установить по прошествии 8–9 лет. Через более длительное время установление факта отравления малодостоверно, так как «металлические» яды равномерно распределяются в окружающей среде вследствие естественной диффузии.

Как было уже сказано, при гнилостном разложении трупов образуются продукты, которые могут вести себя во многих химических реакциях подобно ядовитым веществам. Основными источниками таких соединений являются белки и углеводы, в меньшей степени – жиры. При разложении белковых веществ образуются пептиды, которые разлагаются до аминокислот и подвергаются дезаминированию, десульфированию с выделением аммиака и сероводорода. При гниении белков образуются меркаптопроизводные (тиоспирты, тиофенолы), органические кислоты, амины и др. При разложении углеводов образуются органические кислоты, продукты их декарбоксилирования, альдегиды, кетоны, лактоны, оксид углерода(IV).

Под влиянием гнилостных бактерий аминокислоты и жиры разрушаются с образованием спиртов, среди которых токсикологически значимые метиловый, этиловый и высшие спирты. Из глюкозы образуется различное количество метилового, пропилового, бутилового спиртов. Из лейцина образуется амиловый спирт, из валина – изобутиловый. В результате концентрация спиртов может достигать 1,5 и более %. Образующиеся спирты окисляются в дальнейшем до альдегидов и соответствующих кислот.

В 1878 г. Ф. Сельми в гнилостных трупах обнаружил вещества, которые были названы **птомаинами** (от греческого слова *ptoma* – мертвое тело (труп)). К числу главных птомаинов он отнес путресцин и кадаверин, которые образуются из соответствующих аминокислот (орнитина и лизина). Позже другие исследователи выделили из загнившего биологического материала так называемые «трупные алкалоиды» (кониин, вератрин, стрихнин и др.), которые также называли птомаинами. Принадлежность вещества к числу «трупных алкалоидов» базировалась на незначительном числе неспецифичных реакций осаждения и окрашивания. Так, если вещество, выделенное из трупа, давало такие же реакции, как стрихнин, его называли «трупным стрихнином». Ниже приведены примеры некоторых трупных ядов, которые образуются при гниении биологических объектов из соответствующих аминокислот за счет их декарбоксилирования, окисления, биосинтеза (образование гармина и гармана).





С развитием аналитических методов анализа было установлено, что по элементному составу «трупные алкалоиды» не идентичны соответствующим растительным алкалоидам. Эти выводы были подтверждены физико-химическими методами (хроматография, спектрофотометрия и др.)

Таким образом, была установлена принадлежность большинства птомаинов к другим веществам кислотного, слабоосновного и основного характера. Среди образующихся соединений имеются вещества кислотного характера (индоксил, метилбарбитуровая, барбитуровая, индолуксусная, индолпировиноградная кислоты) и слабоосновного и основного характера (путресцин, кадаверин, фенилэтиламин, гистамин, гарман, гармин и др.). Через 2 нед. после смерти в печени и почках обнаруживается триптамин, через 4 нед. – триптамин, гармин, кадаверин, путресцин. В желудочно-кишечном тракте обнаруживаются фенилэтиламин, кадаверин, путресцин, триптамин.

Высокая токсичность трупных ядов – птомаинов объясняется присутствием примесей бактериальных токсинов и ряда продуктов синтеза, образующихся в трупном материале под влиянием бактериальных ферментов. Очищенные или полученные путем синтеза путресцин и кадаверин намного менее токсичны, чем выделенные из трупного материала

Глава 5. ОСНОВНЫЕ МЕТОДЫ ДЕТОКСИКАЦИИ ОРГАНИЗМА ПРИ ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЯХ

Патология, вызванная любым химическим веществом, требует использования специального метода лечения. На разных этапах развития медицины предлагались и постепенно развивались различные методы антидотной терапии.

Из истории создания антидотов известны многие отдельные вещества или композиции различных веществ, которые применялись в качестве противоядий. Древнегреческий ученый **Гиппократ** считал, что против любого яда должно быть свое противоядие. «Тайные мемуары» царя понтийского **Митридата IV Эвпатора (120–63 гг. до н.э.)** содержали описание различных ядов, симптомы отравлений ими и способы их лечения. Предложенный им антидот содержал 54 компонента и включал растительные и животные составляющие (в том числе опий, порошок тела змеи).

Клавдий Гален (120–199 гг. н.э.) в своих трудах также подчеркивал, что применение антидотов должно соответствовать принципу «лечения противоположного противоположным». В его работе «Антидоты» приведен список противоядий, которые использовались в медицинской практике в течение 200 лет.

В известном «Каноне врачебной науки» **Авиценны (980–1037 гг.)**, наряду с описанием лекарственных средств, приводится перечень многих противоядий растительного и животного происхождения, в том числе цитварный корень, инжир, вино, молоко. Многие растительные продукты упоминаются также как противоядия в «Салернском кодексе здоровья» (XIII в.).

Развитие химии позволило выяснить состав многих ядов. Уже в начале XIX столетия в качестве противоядий использовались карбонат кальция, гидрокарбонат натрия и оксид магния при отравлении кислотами, йод и органические кислоты – при отравлении алкалоидами, сульфид железа – при отравлении мышьяком.

Русский ученый **А.А.Иовский** в своих работах точно и кратко изложил меры по оказанию помощи при отравлениях: *«удалить как можно быстрее яд из желудка, нейтрализовать яд и лечить болезнь, возникшую в результате вредного воздействия яда».*

Е.В.Пеликан (1824–1884 гг.) указывал, что *«действие ядов определяется их химическим составом или свойством, числом и расположением частиц, их образующих, поэтому вещества, аналогично составленные и представляющие симметрические реакции, оказывают аналогию в образе действия».* Этот взгляд на сущность токсического эффекта предопределил изучение молекулярного механизма действия ядов и явился основой для создания антидотных средств.

В 1846 г. **Гаррод** показал значение древесного угля как антидота при отравлении различными ядами. Русские ученые **Н.Д.Зелинский** и **Н.А.Шиллов** уже в начале XX столетия разработали методы активации угля для противоязгов.

В XX в. были созданы эффективные противоядия, которые позволяют нейтрализовать действие ядов не только в желудке и кишечнике, но и после их проникновения в кровяное русло.

5.1. Усиление естественной детоксикации организма

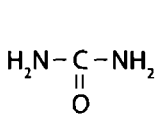
Усиление естественной детоксикации позволяет добиться прекращения поступления яда в кровь и удаления его из организма. Одним из первых приемов при попадании ядов внутрь является очищение желудочно-кишечного тракта.

Вызывание рвоты. Рвота как защитная реакция организма играет важную роль в удалении яда из желудка и в его дальнейшем поступлении и распределении в организме. Она может быть самопроизвольной, вызванной механическим раздражением корня языка и глотки, или с применением специальных рвотных средств. При отравлении прижигающими жидкостями (сильными кислотами, концентрированными растворами едких щелочей) этот метод применять нельзя, так как во время рвоты эти вещества усилят степень повреждения пищевода, а также могут попасть в дыхательные пути и вызвать их ожог. Не рекомендуется использовать вещества, нейтрализующие эти яды, например, пищевую соду при отравлении кислотами. Это приведет к образованию газов (углекислого газа), что усилит кровотечение и боли.

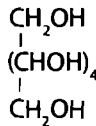
Промывание желудка. Осложнений можно избежать при промывании желудка с помощью зонда. Промывание желудка эффективно при отравлении хлорорганическими и фосфорсодержащими ядохимикатами, наркотическими и снотворными веществами. После промывания больным вводят суспензию активированного угля в воде или другие сорбенты, поглощающие яды и прекращающие всасывание оставшегося в желудке ядовитого вещества.

Очищение кишечника осуществляется с помощью клизм, зондового лаважа, а также путем приема различных слабительных средств.

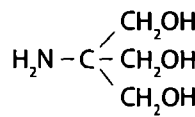
Форсированный диурез. Этот метод используют для удаления ядовитых веществ из крови и тканей, когда яды выводятся из организма преимущественно через почки. Наиболее простым приемом является введение в больших объемах (до 1,5–2,0 л) физиологического раствора или 5% раствора глюкозы внутривенно капельным способом. Для стимулирования диуреза используют различные диуретические средства. К их числу относятся осмотические диуретики – 15–20% растворы мочевины, маннитола или трисамина:



мочевина
(карбамид)



маннитол

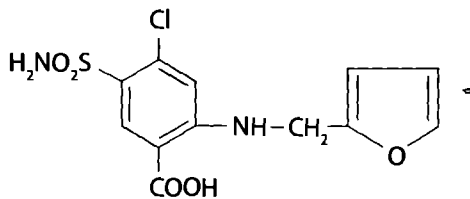


трисамин
(триоксиметиламинометан)

При их использовании уменьшается реабсорбция, происходит более быстрое прохождение фильтрата через нефрон почек и, таким образом, повышается диурез и элиминация токсических веществ. После внутривенного вливания раствора диуретика вводят растворы электролитов, содержащие ионы калия и натрия со скоростью 500–800 мл/ч. Метод направлен на ощелачивание крови или мочи. Небольшой сдвиг pH артериальной крови в щелочную сторону повышает содержание ядовитых веществ в плазме и уменьшает их содержание в тканях. Это объясняется ионизацией молекул ядовитых веществ (например, барбитуратов), что снижает их проницаемость через клеточные мембраны.

Ощелачиванием мочи добиваются лучшей диссоциации ядовитых веществ и их метаболитов, что приводит к выделению их с мочой в больших количествах.

Сильным диуретическим действием обладает фуросемид (лазикс):



фуросемид

(4-хлор-N-(2-фурилметил)-5-сульфамоилантраниловая кислота)

Его действие связано с угнетением реабсорбции ионов натрия и хлора, в меньшей степени – калия. Он применяется в разовой дозе 100–150 мг. Однако при повторном его введении возможны значительные потери электролитов, особенно солей калия.

Метод форсированного диуреза используют при отравлении барбитуратами, морфином, хинином, пахикарпином, дихлорэтаном, тяжелыми металлами и другими веществами, выводимыми из организма почками. Эффективность метода снижается, если ядовитое вещество образует прочную связь с белками или липидами крови (например, при отравлении производными фенотиазина и др.). Форсированный диурез проводят обычно в три этапа: предварительная водная нагрузка, быстрое введение диуретиков и заместительная инфузия растворами электролитов.

Лечебная гипервентиляция. При отравлении ядами, которые полностью или частично выводятся через легкие, стимулирование функции дыхания позволяет добиться быстрого их выведения из организма. К таким ядам относятся: угарный газ, низшие спирты, сероуглерод, хлорированные углеводороды, ацетон, бензин, растворители красок и др. Стимулирование дыхания достигается ингаляцией смеси кислорода (95%) и углекислого газа (5%), которая носит название «карбоген». При потере сознания больной подключается к аппарату искусственного дыхания. Чтобы резко не нарушить газовый состав крови, гипервентиляцию проводят прерывисто: по 15–20 мин через каждые 1–2 часа в течение токсикогенной стадии отравления.

Успех лечения острых отравлений во многом зависит от своевременного осуществления всего комплекса терапевтических мероприятий, проводимых на догоспитальном этапе и непосредственно в лечебных учреждениях. Часто эффективность терапии определяется последовательностью применения соответствующих методов лечения. В каждом случае тактика врача зависит от путей поступления ядовитого вещества в организм, его токсических свойств, условий отравления и времени, прошедшего с момента отравления до оказания помощи, глубины нарушения жизненно важных функций организма, скорости выведения токсических веществ и ряда других факторов. Освобождение организма от ядов различными методами проводится специалистами-медиками. Однако химики должны знать принципы методов, направленных на удаление из организма ядов и их метаболитов. Эта необходимость связана с тем, что они проводят исследование рвотных масс, мочи, диализатов и других жидкостей, полученных в процессе детоксикации.

5.2. Методы искусственной детоксикации организма

Для искусственной детоксикации организма в большинстве случаев используются методы диализа, сорбции или замещения.

Диализом (от греч. *dialysis* – разложение, разделение) называют процесс разделения веществ через полупроницаемую мембрану. В токсикологии полупроницаемой мембраной может быть слизистая оболочка кишечника, брюшины или желудка.

Сорбция (от лат. *sorbeo* – поглощаю) – это поглощение газов, паров или растворимых веществ твердыми телами или жидкостями. Поглощение может происходить на поверхности твердого тела – **адсорбция** или с образованием химических связей – **хемосорбция**. Одним из распространенных сорбентов в токсикологии является активированный уголь.

Замещение – процесс замещения биологической жидкости, содержащей токсические вещества, другой подобной ей биологической жидкостью или искусственной средой с целью выведения яда из организма. В токсикологии проводят замещение крови – **гемаферез** или плазмы – **плазмаферез** различными кровезаменителями или плазмазаменителями.

Искусственная детоксикация может проводиться интракорпоральными или экстракорпоральными методами.

5.2.1. Интракорпоральные методы детоксикации

Среди этих методов необходимо рассмотреть перитонеальный диализ, кишечный диализ и детоксикационную энтеросорбцию.

Перитонеальный диализ считается наиболее простым и доступным методом. Он бывает непрерывным и прерывистым. Непрерывный диализ проводят с помощью двух катетеров, введенных в брюшную полость. Через один катетер жидкость вводят, а через другой она удаляется. Прерывистый метод заключается в периодическом заполнении брюшной полости специальным раствором объемом до 2 л, который после экспозиции каждый раз удаляется.

Полупроницаемой мембраной является брюшина, имеющая большую поверхность (около 20 000 см²).

Через брюшину из крови легко диффундируют токсические вещества во введенный в брюшную полость раствор. Это объясняется разностью концентраций токсических веществ по обе стороны брюшины, и яды переходят из среды с большей концентрацией в среду с меньшей концентрацией.

В качестве диализирующего раствора применяют смесь растворов хлоридов калия, натрия, кальция, магния, глюкозы в определенных соотношениях. Состав и pH этого раствора может меняться в зависимости от природы ядовитого вещества. Например, при отравлении барбитуратами и другими веществами, обладающими свойствами кислот, оптимальным является $\text{pH} > 7,0$. Для выделения аминазина и других токсических веществ, обладающих свойствами слабого основания, используют диализирующие растворы с $\text{pH} < 7,0$, что создает эффект «ионной ловушки». При добавлении в диализирующий раствор альбумина ядовитое вещество (барбитурат, аминазин и др.) образует с ним крупномолекулярные протеиновые комплексы. Эффект подобной «молекулярной ловушки» создается при введении в брюшную полость масляных растворов, связывающих жирорастворимые яды (липидный диализ).

Кишечный диализ. В этом методе функцию естественной полупроницаемой мембраны выполняет слизистая оболочка кишечника, преимущественно тонкой кишки. Для этого используют двухпросветный зонд длиной около 2 м с введенным в него металлическим мандреном. Зонд вводят в кишечник на 40–50 см ниже пилорического отдела желудка (под контролем гастроскопа). Через зонд с помощью насоса вводят диализирующий раствор (гипертонический по отношению к плазме крови). Через 20–30 мин начинается выделение содержимого из прямой кишки. Кишечный диализ проводят 2–3 ч с использованием 8–12 л раствора. Этот метод является общедоступным способом очищения организма при пероральных экзогенных отравлениях и в случае острой почечной недостаточности.

Некоторые ядовитые вещества (метилловый спирт, муравьиная кислота, морфин и др.) способны выделяться через слизистую оболочку желудка, а соли тяжелых металлов – через слизистую оболочку толстого кишечника.

В лечебных учреждениях используют также орошение желудка и кишечника при острых отравлениях (гастроинтестинальный диализ). Орошение проводят изотоническими растворами хлорида натрия, гидрокарбоната натрия и др. при помощи специальных систем.

Метод энтеросорбции. Это доступный метод искусственной детоксикации. Он основан на введении в желудок сразу после его промывания 80–100 г активированного угля вместе с водой. Этот метод способствует снижению концентрации ядовитого вещества в крови и улучшению клинического состояния больного. Осложнений при использовании этого метода не выявлено. Наибольшая эффективность метода энтеросорбции достигается в первые 12 часов после отравления, особенно на догоспитальном этапе.

5.2.2. Экстракорпоральные методы детоксикации

Методы направлены на удаление ядов, прежде всего из крови. В эту группу входят гемферез (плазмаферез), гемодиализ, гемосорбция, плазмасорбция, обменное замещение крови, лимфодиализ, лимфосорбция.

Гемаферез является одним из старых способов детоксикации. Больному вводят 1,5–2 л донорской крови и столько же удаляют из организма вместе с токсическим веществом. Эффективность операции замещения оценивают по клиническим данным и результатам химико-токсикологического исследования, проводимого в динамике. Этот метод детоксикации используют при отравлении ядами, образующими метгемоглобин (анилин, нитробензол и др.), вызывающими гемолиз крови (уксусная кислота, арсин), а также вызывающими изменение ферментативной активности крови (фосфорорганические соединения, карбаматы) и др.

Гемодиализ. Используется в ранней токсикогенной стадии отравления и называется «ранним гемодиализом». Он основан на способности токсического вещества к свободному прохождению из крови через полупроницаемую мембрану в диализирующую жидкость. Его используют при тяжелых отравлениях барбитуратами, соединениями тяжелых металлов и мышьяка, дихлорэтаном, метиловым спиртом, этиленгликолем, хинином, фосфорорганическими соединениями и др.

Гемодиализ проводят с помощью аппарата «искусственная почка», снабженного высокопроницаемыми полисульфоновыми мембранами. Кровь больного циркулирует между мембранами, которые омываются солевыми диализирующими растворами, по составу близкими к плазме крови. Благодаря этому, происходит очистка плазмы от ядов. Этот метод особенно эффективен в течение первых 24 часов после поступления токсического вещества в организм. Например, за 1 час гемодиализа из организма выводится столько же барбитуратов, сколько самостоятельно может выделиться с мочой за 25–30 ч. В процессе детоксикации с помощью химико-токсикологического анализа контролируется концентрация яда в крови. При использовании раннего гемодиализа выздоравливают до 70% пострадавших. При отравлении липофильными веществами (производными фенотиазина, 1,4-бензодиазепина, хлорорганическими соединениями и др.) в качестве диализирующей жидкости используют растительное масло.

Гемосорбция. Применяется при лечении больных с почечной и печеночно-почечной недостаточностью и при острых отравлениях барбитуратами и транквилизаторами. Метод основан на сорбции чужеродных соединений из крови на поверхности твердой фазы. В качестве сорбентов применяют активированный уголь и ионообменные смолы (иониты). Чтобы предотвратить осложнения при использовании гемосорбции (снижение числа тромбоцитов, кровоточивость из операционных ран) сорбенты предварительно покрывают белками крови больного (альбуминированный уголь) или специальными синтетическими покрытиями. Гемосорбцию проводят в приборах – детоксикаторах, которые снабжены насосом для перекачивания крови и набором колонок (капсул) с сорбентом. Этот аппарат подсоединяется к кровотоку больного. Кровь проходит через сорбенты и освобождается от токсических веществ. Метод эффективен при отравлении производными фенотиазина, 1,4-бензодиазепина, барбитуратами короткого действия.

Гемосорбция имеет преимущества перед гемо- и перитонеальным диализом, так как технически проста в выполнении, отличается высокой скоростью детоксикации и неспецифичностью, т.е. она может использоваться при отравлениях препаратами, плохо или практически не диализирующимися в аппарате «искусственная почка».

Плазмсорбция и плазмодиализ – методы очищения плазмы крови от токсических веществ. Они позволяют избежать значительной потери белков, ферментов, витаминов и других биологически важных ингредиентов плазмы больного.

Лимфодиализ и лимфосорбция – это методы искусственной детоксикации организма. Они основаны на выведении из организма большого количества лимфы с последующим очищением ее от токсических веществ с помощью диализа в аппарате «искусственная почка» или методом лимфосорбции. Очищенная лимфа вводится обратно в организм. Этот способ особенно полезен для компенсации возможной потери белков, липидов и электролитов.

Все перечисленные экстракорпоральные методы имеют одно общее начало: очистка крови или лимфы от ядов, как экзогенных, так и эндогенных, производится вне организма.

5.3. Методы антидотной терапии

В основу современной антидотной терапии положены принципы, разработанные русскими учеными в XIX столетии. С прогрессом медицины, биологии и химии каждый этап оказания медицинской помощи при отравлениях получил дальнейшее развитие. В настоящее время удаление яда возможно не только из желудочно-кишечного тракта, но и из крови и тканей организма. Нейтрализация ядов производится как путем их связывания, так и путем введения веществ, оказывающих противодействие ядам.

Для восстановления функций отдельных органов применяются специфические лекарственные средства. Все этапы антидотной терапии проводит врач. Однако он иногда не знает (и не обязан знать), в силу своей профессиональной подготовки, химических основ антидотной терапии. В этом должен ему оказать помощь химик-токсиколог. В свою очередь химик-токсиколог должен понимать принципы и этапы детоксикации организма. В зависимости от времени поступления яда в организм борьба с отравлением обычно включает следующие меры:

- немедленное прекращение поступления (всасывания) ядовитого вещества в кровь;
- максимальное уменьшение количества токсических веществ и их метаболитов в крови и тканях;
- обеспечение нормального функционирования жизненно важных органов и систем;
- своевременное оказание медицинской помощи на месте происшествия и лечение в стационаре;
- профилактика различных осложнений.

В конце 1960-х годов появился новый тип противоядий, которые сами не реагируют с ядом, но устраняют или предупреждают нарушения в организме, возникающие при отравлениях.

Немецкие ученые *Шмидеберг* и *Коппе* впервые показали антидотные свойства атропина при отравлении ядом мухомора – мускарином. Атропин способен блокировать рецепторы, возбуждение которых определяет отравляющее действие мускарина. Это открытие легло в основу изучения сущности функционального антагонизма комбинирующихся в организме веществ.

Значительный вклад в разработку антидотной терапии сделан профессором *Н.В.Лазаревым (1895–1974 гг.)*. Наряду с теорией лекарственного воздействия на токсический процесс им и его учениками разработан ряд эффективных противоядий.

Ряд трудов академика *Е.М.Карасика (1894–1964 гг.)* посвящен разработке основных вопросов теории антидотов.

Академик *А.И.Черкес* и профессор *Н.В.Луганский* свои работы посвятили лечению и профилактике профессиональных отравлений.

Изучение биохимической сущности действия многих ядов, лечение отравлений и создание антидотов описаны в работах *С.Н.Голикова*.

Разработке теоретических и практических проблем современной токсикологии и антидотной терапии посвящены исследования *Ж.И.Абрамовой, Д.И.Гадаскиной, Ю.С.Кагана, С.И.Лактионова, В.А.Филова, И.В.Саноцкого, Л.А.Тиунова, Е.А.Лужникова, А.А.Голубева* и др. Они внесли большой вклад в изучение молекулярных механизмов, количественных закономерностей токсических процессов, в создание современных антидотных средств.

Специфическая антидотная терапия является эффективной в ранней «токсикогенной фазе» острых отравлений. Она может быть использована при достоверном химическом или клиническом установлении соответствующего токсического вещества. Для правильного выбора антидота большое значение имеют результаты химико-токсикологического исследования яда, находящегося в организме.

В токсикологии противоядием (антидотом) называют средства, способные либо не допустить всасывания ядовитого вещества в кровь, либо обезвредить яд, цир-

кулирующий в кровяном русле или связавшийся с биологическим субстратом, либо устранить токсический эффект яда. По этим свойствам антидоты делят на три группы: физико-химические, биохимические и фармакологические.

Физико-химические (токсикотропные) противоядия

К физико-химическим противоядиям относят средства, применяемые до резорбции яда и обезвреживающие его в желудке путем сорбции (энтеросорбенты) или путем химических реакций (специфические детоксиканты и комплексоны). Наиболее распространенным противоядием является *активированный уголь*.

Активированный уголь применяется в виде взвеси в воде (1 столовая ложка на 250 г воды). 1 грамм угля сорбирует 800 мг морфина, 700 мг барбитала, 300–350 мг алкоголя, что препятствует всасыванию этих веществ в кровь.

Подобное действие оказывает белок, который связывает и адсорбирует многие яды. Например, *молоко* содержит протеин и является антидотом при отравлении тяжелыми металлами и некоторыми алкалоидами. Однако комплекс яд–протеин в кишечнике способен диссоциировать, что может привести к всасыванию ядовитого вещества в кровь. Поэтому после приема молока обязательно вызывают рвоту. *Яичный белок* содержит протеин и также является антидотом при отравлении «металлическими» ядами и некоторыми алкалоидами. Доза белка должна быть значительной (белок от 10 яиц), и обязательно нужно вызвать рвоту, иначе преципитат растворится, и яд может всосаться в кровь. *Обволакивающие средства*: отвар семени льна, растворы желатина, крахмала, и *вяжущие средства*: танин, отвар дубовой коры, крепкий чай используют при отравлении алкалоидами, гликозидами, металлами.

В эту подгруппу можно отнести антидоты, которые связывают многие яды с образованием малорастворимых и нетоксичных соединений, которые выводятся из организма с калом и мочой. Наиболее простыми антидотами, проявляющими такие свойства, являются:

Оксид магния (MgO) – нейтрализует кислоты, связывает соединения мышьяка. При этом образуются нерастворимые $Mg_3(AsO_3)_2$ и $Mg_3(AsO_4)_2$.

Сульфат магния – $MgSO_4$ (2 и 5%) – антидот для солей бария и свинца. Образуются нерастворимые $BaSO_4$ и $PbSO_4$.

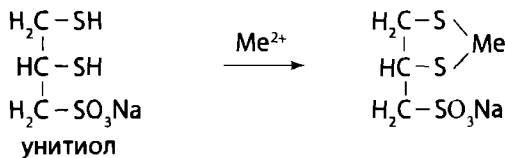
Хлорид натрия – $NaCl$ (0,9%) – антидот для солей серебра. Образуется нерастворимый $AgCl$.

Хлорид кальция – $CaCl_2$ (1,5–3%) – антидот при отравлении щавелевой кислотой и фторидами. Образуются нерастворимые оксалат кальция и фторид кальция: CaC_2O_4 , CaF_2 .

Раствор йода осаждает соли серебра, свинца, ртути, хинина, стрихнина.

В эту же группу относят противоядия, осуществляющие химическое взаимодействие с токсическим веществом в гуморальной среде организма (химические противоядия парентерального действия).

При отравлении различными соединениями мышьяка, ртути, меди, кадмия широко применяют *тиоловые соединения*, в частности отечественный препарат *унитиол*. Он взаимодействует не только со свободными, но и связанными с ферментами ионами металлов. В результате освобождаются ранее связанные с ионами металлов сульфгидрильные группы белков и восстанавливаются их функции. Это объясняется тем, что связь унитиола с ионами металлов более прочная, чем связь тех же металлов с сульфгидрильными группами белков. Соединения металлов с унитиолом являются малотоксичными и водорастворимыми и быстро выводятся из организма с мочой.



Биохимические и фармакологические противоядия

В эту группу обычно включают средства, которые не являются собственно антидотами, так как не изменяют физико-химического состояния яда и не вступают с ним во взаимодействие. Однако специфический характер лечебного эффекта сближает их с группой химических противоядий

В подгруппу «биохимических противоядий» входят вещества, которые не влияют на физико-химические свойства ядов, но обеспечивают изменение путей их метаболизма.

Противоядия при отравлениях метгемоглобинообразующими ядами. Многие вещества, используемые в промышленности, медицинской практике, в быту, оказывают сильное действие на гемоглобин крови, превращая его в метгемоглобин.

В нормальных условиях жизнедеятельности гемоглобин представляет собой сложный протеид, включающий белковую часть – глобин и порфириновую часть – гем. В состав гема входит ион двухвалентного железа Fe(II). При переносе кислорода его молекула связывается координационной связью с ионом Fe(II). Связывание происходит обратимо, без окисления Fe(II), с образованием оксигенированного комплекса HbO_2 . Молекула гемоглобина является тетрамером, поэтому способна связывать четыре молекулы кислорода.

При образовании метгемоглобина происходит окисление Fe(II) до Fe(III). С метгемоглобином прочно связываются отрицательно заряженные гидроксильные группы, и метгемоглобин теряет способность к оксигенации и переносу кислорода.

К метгемоглобинообразующим ядам относятся.

- нитросоединения (оксиды азота, нитриты, нитраты, тринитротолуол),
- аминоксиды (анилин, гидроксиланилин и др.),
- окислители (хлораты, перманганаты, хиноны);
- красители с окислительно-восстановительными свойствами (метиленовый синий),
- лекарственные препараты (нитроглицерин, амилнитрит, сульфаниламиды, аспирин, барбитураты и др.)

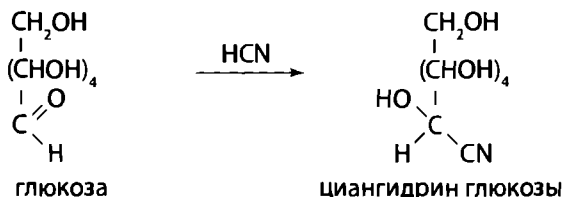
В качестве антидотов при отравлении метгемоглобинообразователями используют глюкозу, тиолы, а также метиленовый синий в малых дозах.

Глюкоза является одним из наиболее часто применяемых средств при отравлениях. Действие глюкозы объясняется тем, что она тормозит образование метгемоглобина в присутствии нитро- и аминопроизводных бензола, а также восстанавливает метгемоглобин в гемоглобин при ферментативном окислении. Кроме того, метаболит глюкозы глюкуроновая кислота нейтрализует многие яды и способствует быстрому их выведению из организма.

Метиленовый синий рассматривают как второй по значению антидот при отравлениях метгемоглобинообразующими ядами. В крови устанавливается равновесие между окисленной и восстановленной формами метиленового синего и гемоглобином и метгемоглобином. Восстановленная форма метиленового синего реагирует с метгемоглобином, восстанавливая его до гемоглобина. Метиленовый синий применяют в малых дозах (50 мг). В больших дозах (200–300 мг) метиленовый синий сам вызывает образование метгемоглобина.

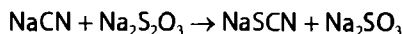
Цианиды и антицианиды. Синильная кислота, проникая в кровяное русло, быстро оказывает действие в клеточных структурах (митохондриях) и вследствие особого сродства к трехвалентному железу избирательно (но обратимо) взаимодействует с окисленными молекулами цитохромоксидазы. В результате этого тормозится нормальный процесс тканевого дыхания.

Глюкоза, соединяясь с синильной кислотой и цианидами, образует нетоксичное соединение — циангидрин:



Метиленовый синий, метгемоглинообразующий агент, также используют при отравлении цианидами. Метгемоглобин связывает цианиды, причем прочнее, чем геминовые структуры тканей. В результате этого происходит восстановление функции цитохромоксидаз тканей.

В качестве специфического антидота при отравлении цианидами может использоваться **натрия тиосульфат**. При этом цианиды превращаются в малотоксичные тиоцианаты.



При отравлении **фосфорорганическими соединениями и производными карбаминной кислоты** антидотная терапия строится на использовании двух групп лечебных препаратов: холинолитиков и реактиваторов холинэстеразы.

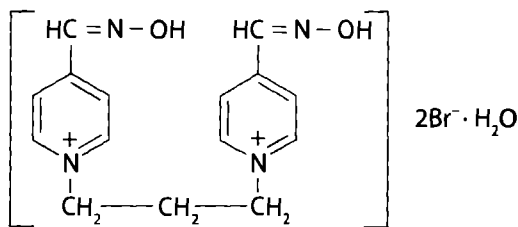
Лучшим холинолитическим препаратом оказался атропин, действие которого основано на принципе физиологического антагонизма и выражается в блокировании холин-реактивных систем.

Реактиваторы холинэстеразы способны восстановить при отравлении активность холинэстеразы. Действие реактиваторов сводится к вытеснению ингибитора ФОС из комплекса фермент-яд, что приводит к частичному восстановлению функции фермента.

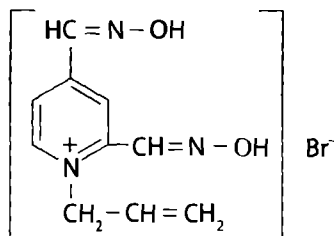
Имеются сведения о способности этих антидотов образовывать комплекс с ферментом и защитить его от стойкой ингибиции ФОС.

Реактивируя холинэстеразу, оксимы могут вызвать гидролиз избыточных количеств ацетилхолина, оказывать холинолитическое действие при внутривенном введении и ослаблять судорожный синдром.

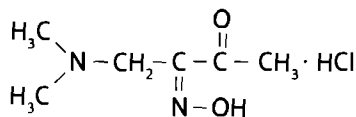
В настоящее время нашли применение реактиваторы холинэстеразы, которые являются сильными нуклеофильными реагентами:



дипироксим
1,1'-триметиленбис-(4-пиридилий-альдоксим) дибромид



аллоксим
N-аллил-2-пиридинальдоксима бромид



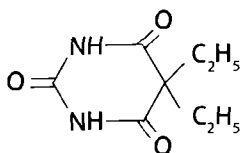
изонитрозин

1-диметиламино-2-изонитроэтанона-3 гидрохлорид

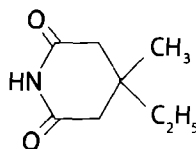
Применение этих веществ сочетают с атропином или другими холинолитическими препаратами.

Среди фармакологических антидотов следует отметить вещества, которые действуют на организм противоположно ядовитому веществу. Они тормозят или прерывают течение отравления. Эти соединения часто по химическому строению близки к ядовитому веществу.

Например, при отравлении барбитуратами вводят функциональный антагонист барбитуратов аналептик, возбуждающий центральную нервную систему – **бемегрид**. По структуре бемегрид близок к барбитуратам:



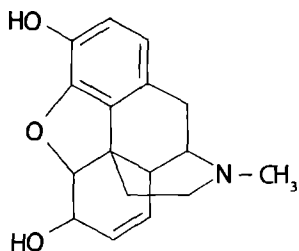
барбитал



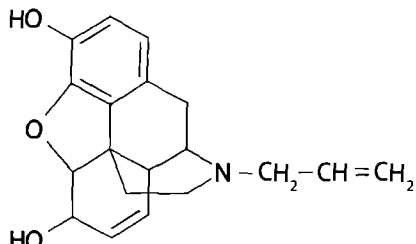
бемегрид

Бемегрид уменьшает токсичность барбитуратов, снимает угнетение дыхания и кровообращения.

При отравлении препаратами группы опия (морфином) в качестве антидота используют антагонист морфина – **налорфин** (анторфин).



морфин



налорфин

Его эффективность основана на избирательном выведении морфина из клеток центральной нервной системы. Налорфин, как и морфин, является анальгетиком, однако почти вдвое слабее угнетает дыхание человека. При отравлении небольшими дозами морфина вводят аналептики – **кофеин**, **кордиамин** и др.

При отравлении метиловым спиртом или этиленгликолем в качестве антидота используют этиловый спирт. Его вводят внутривенно в виде 5% раствора (иногда до 30%). Этанол обладает более высоким сродством к дегидрогеназам и, таким образом, тормозит окисление метанола и этиленгликоля до альдегидов и кислот, которые отличаются высокой токсичностью.

Следует помнить, что патология при отравлениях всегда носит комплексный характер. Антидотная терапия на первом этапе требует точной диагностики отравления и надежного антидота.

Глава 6. ВЫБОР МЕТОДОВ ИЗОЛИРОВАНИЯ ЯДОВИТЫХ ВЕЩЕСТВ

Достоверность результатов химико-токсикологического анализа является в большинстве случаев решающим фактором для определения путей лечения при несмертельных отравлениях или одним из главных доказательств причин отравления при смертельном исходе. Это налагает особую ответственность на химика при организации и проведении исследования различных объектов.

Химико-токсикологический анализ предполагает решение двух больших задач: *выделение ядовитых веществ из объекта исследования (изоляция) и определение содержания этих веществ в изолированной фазе*. Обе эти задачи базируются на разных разделах химии (неорганической, органической, аналитической, физической) и физики. Однако они в значительной степени опираются на собственные предпосылки токсикологической химии. Так, в токсикологической химии под термином «изоляция» чаще всего объединяются три понятия: разделение, концентрирование и выделение. При изолировании ядовитых веществ проводится отделение токсических веществ от субстрата, повышение их концентрации по сравнению с концентрацией в субстрате с последующим выделением в самостоятельную фазу. В то же время процесс изолирования основывается на таких свойствах, как летучесть, основность, кислотность, растворимость ядовитых веществ, которые используются для их разделения и концентрирования.

Выбор методов изолирования определяется обстоятельствами дела, природой объекта, результатами предварительных испытаний. Если отсутствуют точные указания на наличие того или иного вещества в объектах исследования, то используют общую схему изолирования, позволяющую извлечь вещества, проявляющие свойства оснований или кислот.

Для извлечения определенных групп веществ применяют специальные методы. Выбор метода изолирования и очистки определяется следующими факторами:

1. Конкретной практической задачей, т.е. природой объекта, метрологическими параметрами методики.
2. Предысторией объекта (предварительное исследование, обстоятельства отравления, указание на происхождение и т.д.).
3. Сочетаемостью выбранного метода изолирования и очистки с методом последующего обнаружения и определения ядовитого вещества в извлечении.

При разработке методик определения токсических веществ в различных объектах следует учитывать оснащенность лабораторий современными приборами.

6.1. План проведения химико-токсикологического анализа

Необходимость составления плана анализа определяется тем, что объекты исследования нельзя продублировать. При острых отравлениях ядовитыми веществами кровь, моча и другие жидкости организма человека быстро изменяются, и повторный их анализ даст совершенно другие результаты. При смертельных отравлениях вещественные доказательства вторично не могут быть предоставлены.

Составление плана химико-токсикологического анализа зависит от природы и характера объекта исследования, поставленных перед экспертом вопросов, содержания сопроводительных документов и результатов наружного осмотра объекта.

План химико-токсикологического анализа должен быть построен так, чтобы наиболее рационально и с малой затратой времени решить главную задачу – обнаружить и определить количественно ядовитые вещества и (или) их метаболиты в исследуемых объектах.

Составление плана проводится в соответствии с Приказом МЗ РФ №289 от 5.10.1989 г. и Приказом МЗ РФ №161 от 24.04.2003 г. в следующем порядке.

Осмотр присланного на анализ объекта

Наружный осмотр объекта. Объекты подвергают подробному осмотру и сравнивают с описанием в сопроводительном документе. Обращают особое внимание на особенности упаковки объекта, надписи на банках, скляках, пакетах, ящиках, коробках, на их содержание, оттиск, целостность печати. Убедившись в полном соответствии, приступают к вскрытию упаковки, что делается осторожно, чтобы предотвратить попадание в сам объект частей печати или упаковки.

Осмотр объекта после вскрытия упаковки. Данные осмотра объекта позволяют предположить, чем произошло отравление, и включить в план анализа в первую очередь исследование на предполагаемые вещества.

Определение природы, характера и запаха объекта. После вскрытия упаковки важно установить, какие органы или их части доставлены на исследование и в каком они состоянии – имеются ли признаки гнилостного разложения. Специфический запах объекта (особенно содержимого желудка) можно уловить при отсутствии резких признаков гниения, так как сероводород и аммиак, образующиеся при этом, могут маскировать запах чужеродных соединений. Характерный запах объекту могут придать многие «летучие» яды. Например, запах горького миндаля указывает на возможное отравление цианидами, запах пиридиновых оснований – на возможное отравление денатурированным спиртом. Можно ощутить характерный запах фенола, сивушного масла, хлороформа, ацетона, формальдегида, этилового спирта и других пахучих веществ.

Определение наличия инородных включений. Объект осматривают вначале визуально, а затем с помощью лупы. Инородные включения могут быть обнаружены в содержимом желудка. Это – части растений, семена, кристаллы солей алкалоидов, металлов, нераспавшиеся таблетки, порошки и др. Все подозрительные инородные включения отбирают при помощи чистого пинцета и анализируют отдельно. Исследование отобранных кусочков растений, грибов, семян, порошка индийской конопли и других включений растительного происхождения производится лицами, имеющими познания в области фармакогнозии.

Определение окраски объекта. Окраска объекта (главным образом содержимого желудка) может также ориентировать на возможное отравление некоторыми ядовитыми веществами.

Например, желтая окраска указывает на возможное отравление хроматами, азотной кислотой, некоторыми анилиновыми красителями, пикриновой кислотой, акрихином. Зеленое, синее или фиолетовое окрашивание встречается при отравлении солями меди и некоторыми красителями, черное окрашивание (с обугливанием) слизистой желудка или одежды может дать указание на наличие концентрированной серной кислоты и т.д. Биологические жидкости (кровь, моча) могут также иметь необычную окраску при отравлении некоторыми ядовитыми веществами. Например, при попадании в организм фенола моча обычно окрашена в оливковый или темно-зеленый цвет за счет продуктов окисления фенола. При отравлении нитробензолом, анилином кровь приобретает шоколадную окраску, при отравлении нитритами, бертолетовой солью – красно-коричневую, при отравлении оксидом углерода – алую.

Предварительные испытания с объектом

Предварительные испытания преследуют цель сократить время исследования объекта, что особенно важно при ненаправленном анализе. Такие испытания позволяют сузить

круг веществ в окончательном испытании и определить направление его основного исследования. Обычно для предварительных испытаний подбирают групповые реакции, обладающие высокой чувствительностью. С их помощью можно обнаружить не только токсические, но и терапевтические дозы принятых веществ, а иногда и естественно содержащиеся в объекте соединения. Поэтому делать вывод, что найденное вещество явилось причиной отравления, только по результатам предварительных испытаний недопустимо.

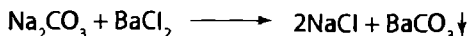
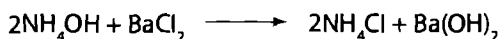
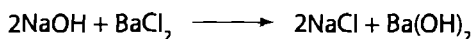
Положительный результат предварительных испытаний указывает на то, что в исследуемом объекте может быть найдено одно вещество или группа веществ, которые дают такие же реакции. В этом случае в план анализа включается основное исследование на эту группу соединений с использованием специальных приемов, методов и подтверждающих реакций.

Отрицательный результат предварительных испытаний указывает на отсутствие соответствующих веществ в исследуемом объекте, и данное вещество (или группа веществ) исключается из плана анализа, после окончания экспертизы делается заключение о его (или их) необнаружении.

Предварительные испытания с содержимым желудка

Определение pH среды проводится в содержимом желудка и имеет значение для предварительного решения вопроса о веществах, которые могли быть причиной отравления. С этой целью применяют индикаторные бумажки, пропитанные фенолфталеином, лакмусом, конго красным и универсальным индикатором. Небольшое количество объекта измельчают, добавляют очищенную воду и взбалтывают. В полученной водной вытяжке определяют реакцию среды путем ее нанесения стеклянной палочкой на полоску индикаторной бумажки.

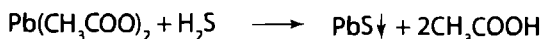
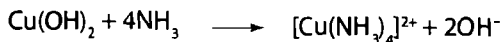
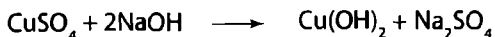
При наличии минеральных или больших количеств органических кислот синяя лакмусовая бумажка покраснеет, бумажка, смоченная конго красным, посинеет, универсальный индикатор покажет значение $\text{pH} < 3$. Если при разбавлении водной вытяжки в 5–10 раз водой очищенной красная бумажка конго посинеет, можно говорить о наличии минеральных кислот в объекте. Слабокислая реакция среды ($\text{pH} = 4,0–6,5$) объекта может быть обусловлена продуктами кислотного брожения, малым количеством органических кислот. При наличии в объекте щелочей красная лакмусовая бумажка синее, фенолфталеиновая – краснеет, универсальная индикаторная бумажка показывает $\text{pH} > 7$. Щелочная среда водных вытяжек может быть обусловлена присутствием в объекте едких щелочей, карбонатов щелочных металлов, аммиака и других соединений. Чтобы установить природу щелочи, к водной вытяжке добавляют 1–2 капли спиртового раствора фенолфталеина – образуется розовое или красное окрашивание. К окрашенному раствору добавляют раствор хлорида бария:



Если в растворе была едкая щелочь или аммиак, то образуется гидроксид бария, гидроксильные ионы в растворе сохраняются, и окраска фенолфталеина не исчезает. Если в растворе был карбонат натрия, то при добавлении хлорида бария образуется осадок карбоната бария, и окраска фенолфталеина исчезает. Раствор становится бесцветным.

Чтобы решить вопрос о наличии аммиака и его происхождении, часть объекта помещают в колбу, закрывают пробкой, к нижней поверхности которой прикрепляют три индикаторные бумажки: смоченную водой красную лакмусовую, смоченную щелочным раствором ацетата свинца, смоченную щелочным раствором сульфата меди.

Колбу нагревают. Если в объекте присутствует аммиак, красная лакмусовая бумажка меняет цвет на синий, «медная» принимает также синее окрашивание, а «свинцовая» остается без изменения. Если в объекте начались процессы гниения, то образовались эндогенные сероводород и аммиак. В этом случае изменяют цвет все три бумажки: красная лакмусовая и «медная» – на синий цвет, «свинцовая» – на черный. При таком результате делают вывод о невозможности обнаружения аммиака в данном объекте.

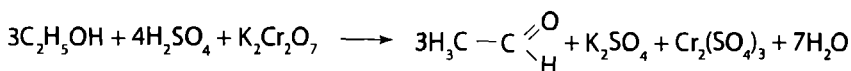


Таким образом, определение pH исследуемого объекта дает возможность включить в план химико-токсикологического анализа исследование на минеральные кислоты (щелочи) или исключить их из этого плана.

Предварительные испытания мочи на некоторые токсические вещества

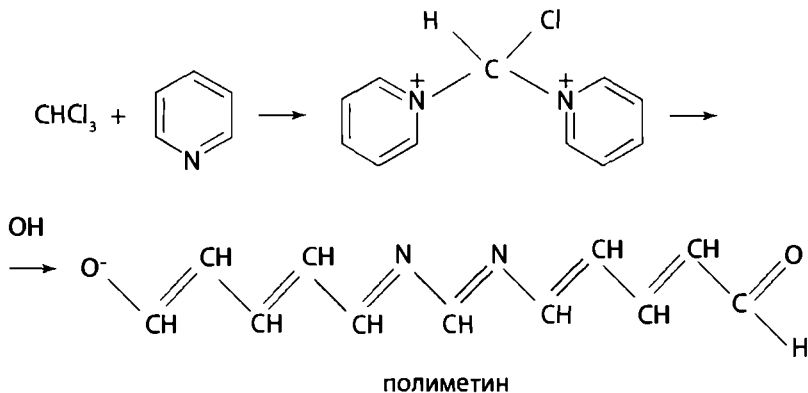
С мочой из организма человека выделяются чужеродные соединения, как в виде метаболитов, так и в неизменном состоянии. В последние годы участились случаи отравления различными лекарственными препаратами, наркотическими средствами, алкоголем и его суррогатами. Чтобы оказать срочную медицинскую помощь пострадавшему, требуются быстро выполнимые методы анализа, к числу которых относятся предварительные испытания, проводимые непосредственно с биологическими жидкостями (преимущественно с мочой).

Испытание на этиловый и метиловый спирты. К моче добавляют дихромат калия и сериую кислоту. При наличии спиртов постепенно появляется зеленое окрашивание. Спирты окисляются до соответствующих альдегидов, а хром(VI) восстанавливается до хрома(III), соли которого окрашены в зеленый цвет.



Реакция неспецифична.

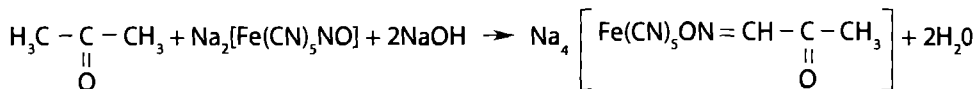
Испытание на алкилгалогениды. К моче добавляют гидроксид натрия и пиридин. При нагревании на водяной бане появляется розовое или красное окрашивание.



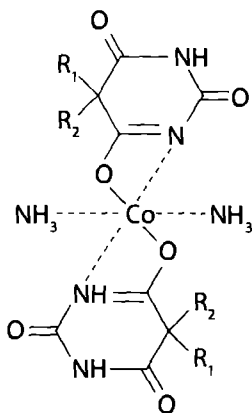
В сильно щелочной среде при нагревании хлороформ вызывает расщепление пиридинового кольца с образованием аниона полиметина (реакция Фудживара).

К моче добавляют гидроксид натрия и раствор резорцина. При нагревании появляется розовое окрашивание.

Испытание на ацетон. К моче добавляют растворы гидроксида и нитропруссид натрия – появляется красное или красно-оранжевое окрашивание, которое при добавлении уксусной кислоты переходит в вишнево-красное

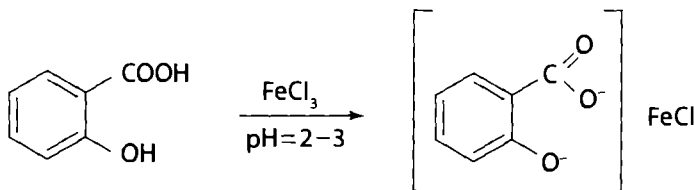


Испытание на барбитураты. Мочу подкисляют серной кислотой и экстрагируют этиловым эфиром, который отделяют от водной фазы и испаряют досуха. Остаток растворяют в хлороформе и наносят на фильтровальную бумагу, которую после высушивания обрабатывают раствором ацетата кобальта и окуривают парами аммиака – наблюдают фиолетовое окрашивание.



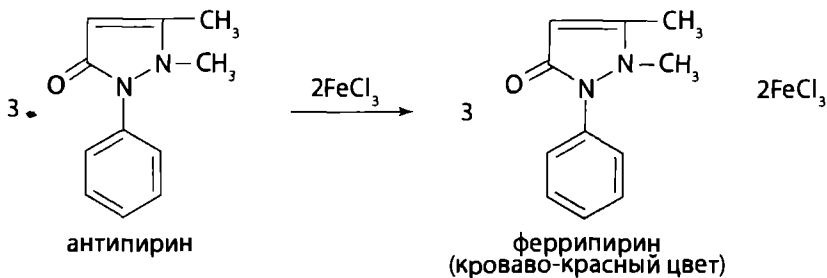
Испытание на производные фенотиазина. К моче добавляют реактив FPN (смесь хлорида железа(III), азотной и хлорной кислот) или серной кислоты и хлорида железа(III) – появляется характерное окрашивание: при наличии аминазина, дипразина – розовое или малиновое, при наличии тизерцина – фиолетовое, при наличии сонapakса – зеленое, переходящее в синее.

Испытание на салициловую кислоту. При добавлении к моче хлорида железа(III) образуется сине-фиолетовое окрашивание.



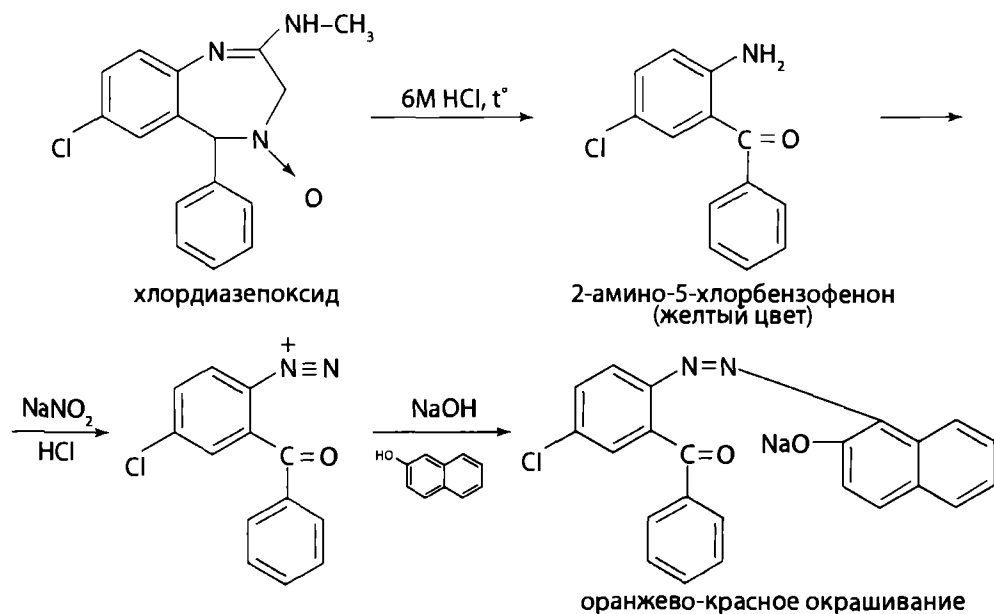
При добавлении к моче нитрата железа(III) и азотной кислоты образуется пурпурное окрашивание.

Испытание на производные пиразола. При добавлении к моче хлорида железа(III) наблюдается характерное окрашивание: при наличии антипирина – кроваво-красное, при наличии анальгина или пропифеназона – красно-коричневое.



Испытание на хинин. К моче добавляют концентрированную серную кислоту и смесь рассматривают в УФ-свете (облучатель, пропускающий свет с длиной волны 254 нм) – наблюдают голубую флуоресценцию

Испытание на хлордиазепоксид. Экстрагируют хлордиазепоксид из мочи хлороформом при значении pH=9–10, хлороформ испаряют, гидролизуют остаток при нагревании в течение часа с 6 М раствором хлороводородной кислоты, а затем проводят реакцию образования азокрасителя



Испытание на амфетамин. Экстрагируют амфетамин из мочи хлороформом при значении pH=10, упаривают экстракт и наносят остаток на фильтровальную бумагу. При добавлении реактива Марки появляется оранжевое окрашивание, переходящее в коричневое

При получении положительного результата предварительного испытания с объектом обнаруженное вещество включается в план основного исследования

При получении отрицательного результата предварительного испытания с объектом на определенное вещество (или группу веществ) основное исследование не проводится, и делается заключение о необнаружении этого вещества или группы веществ в объекте

6.2. Характеристика объектов химико-токсикологического анализа

Характерной особенностью химико-токсикологического анализа, как было отмечено ранее, является большое разнообразие объектов, которые могут стать предметом исследования. Основными и наиболее часто встречающимися объектами являются печень, почки, мышечная ткань, кровь, моча, слюна, волосы, ногти. Знание состава исследуемого объекта, поведения и превращения ядовитого вещества в нем имеет особое значение при выборе способа пробоподготовки и метода изолирования чужеродного соединения в случае отравления им.

Внутренние органы (печень, почки, мышечная ткань). Химический состав мышечной ткани, печени, почек сложен и в целом включает следующие вещества: воду – до 70–75%, белки – 18–22%, липиды – 2–3%, неорганические соли – 1–1,5%, углеводы – 2–3%, азотистые экстрактивные вещества – 1–1,7%, безазотистые экстрактивные вещества – 1–1,5%, а также ферменты, витамины.

Благодаря большой молекулярной массе, белки в органах находятся в коллоидном состоянии. Они имеют свободные карбоксильные и аминные группы и являются амфотерными соединениями. При значении $pH > 7$ белок проявляет свойства кислоты, а при значении $pH < 7$ – основания. Концентрация водородных ионов (pH среды), при которой в молекуле белка устанавливается равенство положительных и отрицательных ионов, называется **изоэлектрической точкой белка**. В этом случае белок электронейтрален. По мере возрастания pH среды увеличивается отрицательный заряд белка, а при значении pH ниже изоэлектрической точки белки имеют положительный заряд.

Наибольшее число белков в тканях представлено альбуминами и глобулинами. Изоэлектрическая точка у альбуминов наблюдается при значении $pH = 4,8$, у глобулинов – при значении $pH = 5,4$. Альбумины делятся на растворимые в воде и нерастворимые в насыщенных растворах сернокислого аммония. Глобулины нерастворимы в воде, но растворимы в ней в присутствии различных солей. С глобулинами в организме образуют прочные связи «металлические» яды.

Так как белки выше их изоэлектрической точки имеют отрицательный заряд, они могут связывать многие основания (в том числе алкалоиды и другие органические основания). Чем сильнее основание, тем прочнее оно связывается с белками.

Содержание углеводов в живом организме достигает 3% сухой массы. Основная масса углеводов находится в печени и мышцах в виде полисахарида гликогена.

Липиды (жиры и жироподобные вещества) нерастворимы в воде, растворимы в органических растворителях (эфире, хлороформе, спирте, ацетоне, толуоле). Жиры в основном являются триглицеридами, их содержание может достигать 50%. Кроме того, в организме содержится большое количество фосфолипидов, входящих в состав всех клеток.

Кровь. Количество крови в организме человека составляет 6–7,5% массы тела, у взрослого человека это 5–6 л, у новорожденного ребенка – примерно 240 мл. Кровь состоит из плазмы и взвешенных в ней форменных элементов: эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов. Преобладают в крови эритроциты. Плотность крови человека – 1,050–1,060. Содержание воды – 75–85%. Кровь имеет слабощелочную реакцию среды ($pH = 7,35–7,4$).

Плазма крови (белковая жидкость после удаления форменных элементов) составляет 4% от массы тела. Плазма на 90% состоит из воды, в которой содержание белков достигает 70–80 мг/мл, в их числе 40–50 мг/мл составляют альбумины. Основная часть других белков (до 25 мг/мл) представлена глобулинами, к числу которых относится фибриноген (примерно 3 мг/мл), отвечающий за свертывание крови.

В плазме содержатся 7,5 мг/мл минеральных солей, 4–8 мг/мл липидов, в том числе 2–2,5 мг/мл фосфолипидов. В плазме (сыворотке) находится много эндогенных низкомолекулярных органических веществ. Среди них гормоны, биогенные амины, витамины, креатин, креатинин, билирубин, мочевая кислота, мочевины и др. Эти соединения мо-

гут потенциально мешать проведению химико-токсикологического анализа на ядовитые и наркотические вещества. Многие токсические вещества связываются в крови с белками (иногда до 90%), в основном с альбуминами, реже с глобулинами.

Моча – прозрачная жидкость, окрашенная в желтый цвет (за счет пигмента урохрома) или в оранжевый цвет (за счет пигмента уробилина). Объем мочи в среднем составляет ежедневно 1,5 л у мужчин и 1,2 л у женщин, что зависит от питьевого режима, и может даже достигать 2–3 л. При стоянии в моче появляется муть, представляющая собой фосфаты, карбонаты, оксалаты, сульфаты металлов, в основном второй группы. Моча содержит те вещества, которые поступают к почкам с кровью, но по составу значительно отличается от состава плазмы. Моча в норме не содержит белок и глюкозу. В моче в 50–100 раз больше, чем в крови, мочевины, вдвое выше концентрация минеральных солей, в 8–10 раз больше уровень мочевой кислоты, креатинина. За сутки с мочой выделяется 50–70 г сухих веществ. Эти растворенные вещества повышают плотность мочи в среднем до 1,015–1,025 г/мл. В моче много минеральных веществ – за сутки выделяется примерно 20 г солей (в основном хлориды натрия и калия), что снижает температуру замерзания мочи до $-1,3$ – $-2,3$ °С, что следует учитывать при лиофилизации проб. Значение pH среды в моче в норме от 4,5 до 8,0 и зависит от характера пищи. Из эндогенных соединений в моче присутствуют низкомолекулярные продукты метаболизма аминокислот, сахаров, стероиды и др. В моче содержатся вещества, являющиеся продуктами обезвреживания ядов в организме. К ним относятся эфирсерные кислоты, парные соединения с глюкуроновой кислотой, оксигиппуровая кислота и др. В виде парных соединений с глюкуроновой кислотой выделяются с мочой ядовитые вещества, образующиеся при гниении в кишечнике (феиол, крезол, индол, скатол), многие лекарственные, наркотические вещества и их метаболиты (морфин, эфедрии, фенилалкиламины, барбитураты, производные фенотиазина и др.).

Слюна – продукт секреции желез ротовой полости. Она содержит ферменты α -амилазу, мальтазу, ионы калия, кальция, гидрокарбонаты, белковые соединения (альбумины, липопротеиды и др.). Значение pH слюны 6,8–7,1. Чужеродные соединения, особенно лекарственные и наркотические вещества, могут связываться с белками слюны и подвергаться ферментативному воздействию. Установлено, что неионизируемые формы токсических веществ, находящиеся в плазме крови, пассивно диффундируют в слюну, и в таких случаях существует прямая зависимость между концентрацией анализируемого вещества в слюне и его концентрацией в плазме крови.

Волосы являются производными эпидермиса. В волосе различают стержень, выступающий над поверхностью кожи, а также корень, располагающийся в толще кожи и оканчивающийся утолщением (луковицей). Корень волоса (как и стержень) имеет сердцевину, корковый слой и кутикулу. Клетки сердцевины имеют вид тонких пластинок с ядрами и зернами кератогиалина. Кутикула в верхней части корня состоит из плоских безъядерных чешуек, книзу в них имеются цилиндрические клетки с ядрами. Обычно волосы головы вырастают на 0,1–0,5 мм в сутки. За месяц они могут удлиниться на 3–15 мм.

Волосы представляют собой сложную комплексную структуру, состоящую, главным образом, из белков, липидов и меланина. Основной субстанцией волос является твердый кератин, отличающийся большой прочностью. Он плохо растворим в воде, устойчив к воздействию химических веществ – кислот, щелочей. Кератин – белковое вещество. Он богат серой (около 4–5%) и аминокислотами (цистеин – около 14%, лейцин – 14%, глутаминовая кислота – 12%, тирозин – 3%), которые способны связывать некоторые металлы.

Меланин придает природную окраску волосу. Он состоит из полимеров индолинохинолиновой структуры и способен связываться с большинством физиологически активных веществ.

Липиды волос имеют в своем составе полярные группы, в число которых входят ненасыщенные связи, гидроксильные и эфирные группы, которые образуют связи с лекарственными и наркотическими веществами по различным механизмам.

Волосы представляют собой легкодоступный для отбора и хранения биологический субстрат при химико-токсикологическом анализе как на неорганические, так и на органические яды. Важно то, что наркотические и лекарственные вещества не метаболизируются в волосах.

В последние годы установлено, что в волосах наркоманов обнаруживаются опиаты, амфетамины, кокаин, каннабиноиды, фендиклидин, метаквалон и другие яды. Возникает возможность обнаружения лекарственных, наркотических, психотропных средств, сильнодействующих и одурманивающих веществ, некоторых «металлических» ядов в волосах в отдаленные сроки после окончания их приема и даже в тех случаях, когда анализ биологических объектов дает отрицательный результат. В литературе описаны случаи обнаружения опиатов в волосах ирландского поэта Джона Китса спустя 167 лет после смерти. Известно обнаружение морфина в волосах египетской мумии через несколько тысяч лет после гибели организма. Бензоилэкогонин был обнаружен в мумии человека, жевавшего листья кока ~2000 лет назад.

Анаболический стероид станоэнол в 1974 г. был запрещен для использования спортсменами. Этот препарат после 4–18 нед. применения и прекращения приема за месяц до начала соревнований не обнаруживался в моче, но в волосах его можно было обнаружить спустя год и более после приема.

Ногти. Подобно волосам, ногти также являются производными эпидермиса. Это роговые пластинки, располагающиеся на тыльной поверхности концевых фаланг пальцев рук и ног. Ногтевая пластинка образована плотно прилегающими друг к другу роговыми чешуйками плоской формы, заполненными твердым кератином, устойчивым к воздействию химических веществ. Белок кератин содержит цистин, аргинин, тирозин, лизин, фенилаланин, триптофан, гистидин и др. Ногти содержат 10,1–13,7% воды, 0,15–0,76% жироподобных веществ (холестерин и его эфиры), минеральные вещества (кальций, фосфор, цинк, мышьяк и др.). Установлено, что в ногтях способны накапливаться наркотические вещества и прежде всего – опиаты.

6.3. Подготовка объектов к изолированию ядовитых веществ

Внутренние органы (печень, почки, мышечная ткань). Органы измельчают до размеров кусочков 0,5×0,5×0,5 см. Естественно, что более мелкое измельчение приводит к увеличению экстракционной поверхности и одновременно к значительному увеличению количества балластных зидогенных соединений (белков, ферментов, продуктов распада белковых молекул, пигментов и др.) в извлечении. При этом химик вынужден будет применить особые способы очистки, что приведет к потере токсических веществ, особенно при их следовых количествах в объекте.

Рекомендуется использовать также *вымораживание* объекта при температуре –30–40°C. При этом в органах образуются льдинки, которые разрывают клетки, так и способствуют выходу токсических веществ в окружающую среду, что увеличивает процент изолирования искоемых соединений.

Можно использовать *лиофилизацию*, т.е. высушивание объекта при низких температурах в вакууме. Это приводит к потере объектом воды и получению при изолировании более чистых извлечений.

Если объект законсервирован спиртом, его осторожно удаляют. В случае подозрения на отравление летучими соединениями мышьяка, ртути объект подщелачивают перед удалением спирта карбонатом натрия.

Для анализа обычно берут навеску объекта 5, 25, 50 или 100 г (зависит от конкретной методики).

Кровь. Ядовитые вещества и их метаболиты в крови находятся в свободном виде или могут быть связаны с белками (альбуминами, глобулинами). При пробоподготовке крови к экстракции используют приемы, позволяющие разрушить комплекс анализируемого вещества с белком. Для этой цели рекомендованы следующие методы.

Добавление к крови смешивающихся с водой органических растворителей (этилового, метилового спиртов, ацетонитрила, ацетона). Их количество в 10 раз превышает объем крови. Эффективность очистки от белков зависит от величины диэлектрической проницаемости (ϵ) используемого растворителя. Для ацетона $\epsilon=31$, для этилового спирта – 26,8, для метилового спирта – 23,1, для воды – 80. При понижении диэлектрической проницаемости сила притяжения между молекулами растворенных веществ возрастает. В результате под влиянием ацетона и спиртов (этилового и метилового) происходит агрегация молекул белковых веществ крови, понижается растворимость и происходит выпадение их в осадок.

Добавление химических агентов для коагуляции белков: кислот (трихлоруксусной, хлорной), солей тяжелых металлов (например, солей бария).

Термическая обработка крови. Этот метод используют для ядовитых веществ, которые не разлагаются при повышенной температуре. Он не рекомендуется при анализе объекта, содержащего термолабильные соединения.

Процесс пробоподготовки крови к анализу – весьма ответственная операция, при которой возникает опасность адсорбции значительного количества анализируемого вещества на скоагулированном белке.

Моча. С мочой токсические вещества выделяются как в неизменном состоянии, так и в виде метаболитов и конъюгатов с серией, уксусной, глюкуроновой кислотами. Пробоподготовка мочи к экстракции токсических веществ и их метаболитов включает проведение разрушения конъюгатов с указанными кислотами. Для этой цели проводят неспецифический кислотный или специфический ферментативный гидролиз.

Кислотный гидролиз является более быстрым и простым в осуществлении. Однако вследствие неспецифичности реакции расщепления ковалентной связи и жестких условий проведения в среде концентрированной кислоты при кипячении в течение длительного времени или при нагревании в автоклаве под давлением, образуется большое количество побочных продуктов. Экстракция органическим растворителем из полученного гидролизата дает высокий фон и много посторонних пиков при проведении анализа методом газовой хроматографии. Кислотный гидролиз проводится в герметично закрытых сосудах, которые помещают в водяные бани или специальные нагревательные блоки. Можно использовать кипячение с обратным холодильником или нагревание при 100–125°C в автоклаве под давлением 12–15 пси.

Всемирной Организацией Здравоохранения (ВОЗ) для опиатов рекомендуется проводить кислотный гидролиз по следующей методике: в пробирку емкостью 50 мл вносят 10 мл мочи, добавляют 1 мл концентрированной хлороводородной кислоты, герметично закрывают пробирку и нагревают в водяной бане при 100°C около 60 мин. После охлаждения проводят экстракцию органическим растворителем.

Ферментативный гидролиз проводится в присутствии одного или смеси ферментов β -сульфатазы и β -глюкуронидазы в мягких условиях, что уменьшает образование побочных продуктов, и гидролизат получается более чистым. Существенным недостатком метода являются необходимость соблюдения строгих условий гидролиза: pH, температуры, состава буфера, активности ферментов, – а также длительность процесса (12–20 ч). Легче гидролизуются конъюгаты, образованные через кислород фенольного гидроксильного, более длительно – конъюгаты, связанные через кислород спиртовой (гидроксильной) группы.

Методика, рекомендованная ВОЗ для ферментативного гидролиза опиатов, сводится к следующему: в 5–10 мл мочи создают pH=7 с помощью уксусной кислоты, затем добавляют 0,1 мл 0,1 М ацетатного буферного раствора с pH=5,5 и 0,02 мл фермента (75 ЕД/мл) на каждый мл мочи. Смесь оставляют на 24 ч при 37°C или на 1 ч при 55°C. Температура не должна превышать 55°C, иначе фермент может подвергнуться денатурации. После охлаждения проводят экстракцию органическим растворителем.

Слюна. Для снижения активности ферментов слюну при хранении замораживают. Перед экстракцией ее разбавляют водой очищенной в отношении 1:3, после чего экс-

трагируют токсические вещества органическими растворителями при соответствующем значении pH.

Волосы, ногти. Для удаления внешних загрязнений волосы и ногти отмывают 2 М раствором хлороводородной кислоты и метанолом (или этанолом), затем сушат при комнатной температуре и отбирают для анализа навеску 30–40 мг.

6.4. Изолирование токсических веществ путем экстракции и сорбции

Наиболее распространенный способ выделения ядов – их извлечение из объектов с помощью различных растворителей. В токсикологической химии путем экстракции выделяют ядовитые вещества из *твердой фазы*: различные ткани, органы, растительные объекты, – и из *жидкой фазы*: кровь, моча, слюна, промывные воды желудка, перитонеальная жидкость и др. Выделение токсических веществ из жидкой фазы (реэкстракция) часто используется и для очистки извлечений от примеси эндогенных соединений. Таким образом, жидкостная экстракция является одним из главных способов выделения многих ядов из биологических объектов. С помощью жидкостной экстракции рекомендуется проводить выделение из объектов различных групп соединений. Среди них лекарственные, наркотические вещества, пестициды и др.

Лекарственные и наркотические вещества

В токсикологической химии рассматриваются следующие группы лекарственных и наркотических веществ, производные:

- пиридина и пиперидина (никотиин, анабазин, пахикарпин);
- тропана (атропин, кокаин, скополамин);
- хинолина (хинин);
- тетрагидроизохинолина (наркотин);
- бензилизохинолина (папаверин);
- феантренизохинолина (опиаты: морфин, кодеин, наркотин, тебаин, этилморфин, диацетилморфин, орипавин);
- опиоидные анальгетики – промедол, фентанил, трамал, метадон;
- идола (стрихин, брucin, LSD и др.);
- гурина (кофеин);
- фециклидин и его аналоги (тиеиоциклидин, ролициклин, этициклидин);
- производные барбитуровой кислоты: фенобарбитал, барбитал, бутобарбитал, этаминал-натрий, барбитал;
- производные 1,4-бензодиазепина: клордиазепоксид, диазепам, оксазепам, нитразепам;
- производные п-аминобензойной кислоты: новокаин, новоканнамид;
- производные фенотиазина: аминазин, дипразин, левомепрамазин, тиоридазин;
- каннабиноиды: каннабидиол, каннабинол, тетрагидроканнабинол, тетрагидроканнабиоловая кислота;
- фенилалкиламины: эфедрин, эфедрон, амфетамин, метамфетамин.

Характерной особенностью приведенных веществ является их способность давать ионизированные и неионизированные формы. Существование различных форм зависит от величины константы ионизации вещества и значения pH среды. Для кислот константа ионизации определяется уравнением:

$$K_a = \frac{[H^+] \cdot [A^-]}{[HA]},$$

или в логарифмической форме:

$$pK_a = pH + \lg [HA] - \lg [A^-].$$

Для оснований:

$$K_a = \frac{[H^+] \cdot [B]}{[BH^+]},$$

в логарифмической форме:

$$pK_a = pH + \lg [B] - \lg [BH^+].$$

Исходя из этих уравнений, можно считать, что кислота будет полностью (99,9%) ионизирована при $pH = pK_a + 3$, а основание – при $pH = pK_a - 3$. Эти закономерности справедливы для водных растворов. В смешанных или неводных растворителях эти соотношения могут изменяться, иногда на значительную величину.

Достиж условий полной ионизации веществ удается не всегда. В этих случаях ограничивают значения pH до величины $pK_a \pm 2$ и даже меньше. При этом следует учитывать, что при $pH = pK_a$ только 50% вещества будет находиться в ионизированной форме. В таблице 3 представлены константы диссоциации некоторых токсикологически важных соединений.

Эти закономерности используют как при извлечении ядовитых веществ, так и при очистке полученных экстрактов. Соли кислот и оснований хорошо растворимы в воде и спирте и практически не растворяются в органических растворителях. Свободные кислоты и основания хорошо растворимы в органических растворителях и плохо растворимы в воде и спиртоводных смесях.

Метод извлечения ядовитых веществ из твердых объектов (твердая фаза) водным или спиртовым раствором кислоты или основания практически всегда является *первым этапом изолирования*. На этом этапе измельченные внутренние органы заливают экстрагентом, устанавливают необходимое значение pH и настаивают в течение определенного времени. Выбор растворителя и время настаивания зависят от многих факторов.

Вода и спирт как наиболее часто применяемые растворители отвечают многим требованиям, предъявляемым к экстрагентам. В них хорошо растворяются многие соли оснований и кислот.

Время настаивания зависит от скорости проникновения экстрагента внутрь ткани. Продолжительность настаивания определяется моментом наступления равновесия между концентрацией токсического вещества в ткани и окружающей жидкости.

Вода имеет большее сродство к тканям. Она содержится в большом количестве в органах человека: в мышцах – до 75–78%, в печени – до 70–75%. Поэтому вода легко проникает в ткани. Время настаивания объекта с водой и наступление равновесия составляет 1–2 ч.

Спирт денатурирует белковые молекулы на поверхности кусочков биологического материала, его проникновение в ткани затрудняется, и равновесие возникает не менее чем через 6 часов.

Для создания необходимого значения pH среды объект с экстрагентом подкисляют органической или неорганической кислотой. Природа кислоты может оказывать влияние на степень изолирования алкалоидов и органических оснований из биологического материала. Чем лучше растворяются соли ядовитых веществ в данном растворителе, тем лучше они будут извлекаться.

Применение минеральных кислот для подкисления объектов ограничивается возможностью гидролиза эфироподобных токсических веществ (атропин, кокаин и др.) и белковых молекул. В.Ф. Крамаренко установлено, что такие явления не происходят, если для подкисления взята разбавленная минеральная кислота.

При необходимости одновременного определения ядовитых веществ и их метаболитов могут возникнуть трудности в подборе условий их извлечения. Метаболиты часто значительно отличаются по физико-химическим свойствам от самих ядов. Поэтому для их извлечения требуются иные растворители и значение pH среды. В таких случаях изолирование ядов и их метаболитов иногда рекомендуется проводить из разных навесок объекта.

**Показатель константы ионизации (рКа)
некоторых веществ кислотного и основного характера**

Вещество	рКа ₁	рКа ₂
Апоморфин	5,88	
Барбитал	7,97	
Бутобарбитал	7,98	
Барбамил	7,96	
Фенобарбитал	7,45	
Этаминал	8,20	
Наркотин	7,83	
Нитразепам	2,30	11,00
Стрихин	6,00	11,70
Атропин	10,00	
Бруцин	6,04	11,70
Кодеин	6,05	
Кокаин	8,70	
Кофеин	0,60	
Морфии	6,17	10,00
Никотин	6,16	10,86
Папаверин	8,09	
Хинин	5,97	9,88

Для изолирования слабых кислот, в частности барбитуратов, используют подщелоченную воду. При этом образуются натриевые соли барбитуратов, которые хорошо извлекаются водой.

Выбор величины рН при изолировании обычно учитывает только возможность извлечения ядовитых веществ. Однако пептиды тканей также могут ионизироваться и переходить в раствор. Оптимальным значением рН, препятствующим такому переходу, было бы значение рН, равное изоэлектрической точке белка. В реальных условиях этого достичь не удастся. Поэтому извлечения из биологических объектов, полученные на первом этапе, всегда содержат примеси белковых молекул и других эндогенных веществ, а поэтому требуют применения различных способов очистки.

Очистка вытяжек из биологического материала на первом этапе изолирования

В нейтральной среде белки мало растворимы в воде и спирте. Однако при подкислении они в большей степени растворяются в воде. Значительно сильнее в подкисленной воде способны растворяться пептиды и аминокислоты. При анализе биологического материала, находящегося в состоянии гнилостного разложения, количество извлекаемых эндогенных соединений увеличивается.

По составу примесей водная и спиртовая вытяжки отличаются между собой. В водном извлечении содержится больше низкомолекулярных пептидов и аминокислот. В спиртовой вытяжке содержатся примеси липопротеидов, липидов, втомаинов, некоторых аминокислот. Белки в спиртовое извлечение переходят в меньшем количестве, чем в водное, так как спирт вызывает денатурацию белка и уменьшает его растворимость.

Очистка вытяжек от балластных веществ достигается несколькими способами: осаждением примесей различными реагентами, фильтрованием, центрифугированием, гель-хроматографией и другими методами.

Осаждение белковых молекул методом высаливания проводится путем добавления к водной вытяжке из объекта электролитов. В результате изменяется ионная сила раствора, которая определяется уравнением:

$$J = \frac{1}{2} \sum C_i \cdot Z_i^2,$$

где J – величина ионной силы, C_i – концентрация электролита; Z_i^2 – квадрат заряда иона электролита.

При изменении величины ионной силы от 0 до 0,05–0,1 растворимость многих веществ может увеличиваться. При высоких концентрациях электролитов в растворе, особенно при добавлении их до его насыщения, белки выпадают в осадок за счет резкого снижения их растворимости. Поэтому для высаливания белков используют высокие концентрации солей.

В качестве электролитов при очистке извлечений из трупного материала применяют соли одновалентных катионов: сульфат аммония – $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, вольфрамат натрия – Na_2WO_4 и др.

Метод высаливания является одним из эффективных способов осаждения примесей из вытяжек, полученных при настаивании гнилостно-разложившегося биологического материала с подкисленной водой.

Осаждение белковых молекул кислотами, спиртом и нагреванием Осаждение белков из вытяжек можно проводить с помощью трихлоруксусной, вольфрамовой, фосфорновольфрамовой и фосфорномолибденовой кислот.

Белковые вещества могут осаждаться после их денатурации путем нагревания или при добавлении этилового спирта.

Необходимо отметить, что осаждение примесей указанными методами может привести к потере исследуемых соединений, так как не исключено соосаждение ядовитых веществ и их адсорбция на поверхности образующихся осадков белковых молекул. Кроме того, ядовитые вещества, в молекуле которых имеются эфирные группы, при нагревании могут быть разрушены.

Фильтрация и центрифугирование. Эти способы позволяют отделить вытяжки от механических загрязнений и от образовавшихся продуктов осаждения. Фильтрация – процесс более длительный, и кроме того, материал фильтров частично адсорбирует ядовитые вещества.

Центрифугирование является эффективным способом отделения примесей и осажденных белков от основного раствора. Современные центрифуги позволяют достигать до 15 тысяч оборотов в минуту и получать сравнительно чистую надосадочную жидкость.

Гель-хроматография используется для очистки водной вытяжки из биологических объектов от примесей балластных веществ. Этот метод основан на различной способности молекул проникать в поры неионогенного геля, который служит неподвижной фазой. Для гель-хроматографии в токсикологической химии используют гидрофильные полимерные сорбенты, в частности сефадексы. Например, сефадекс G-25. Это декстран с поперечными сшивками, в воде хорошо набухает, образуя гель, стабильный в разбавленных кислотах и щелочах.

При работе гель помещают в колонку диаметром 2,5 см и высотой 43–45 см. Водную вытяжку из объекта пропускают через колонку. Крупные молекулы белков и пептидов не проникают или проникают только в часть пор. Когда колонку промывают элюентом, первыми вымываются наиболее крупные молекулы, последними – низкомолекулярные вещества.

Метод гель-хроматографии рекомендуется в химико-токсикологическом анализе при изолировании барбитуратов из трупного материала. Он позволяет получать достаточно чистые вытяжки.

Экстракция примесей из вытяжек на первом этапе применяется очень редко. Это связано с тем, что трудно подобрать условия, при которых возможно отделить большие количества примесей от исследуемых веществ, содержащихся часто в объекте в малых концентрациях.

Жидкость-жидкостная экстракция

Эффективным и распространенным методом в химико-токсикологическом анализе является жидкость-жидкостная экстракция. Этот метод применяется при извлечении ве-

ществ из крови, лимфы, слюны, перитонеальной жидкости, мочи и промывных вод желудка. Он также используется на втором этапе при изолировании ядовитых соединений из трупного материала.

Жидкость-жидкостная экстракция – это метод выделения, разделения и концентрирования веществ, основанный на распределении растворенного вещества между двумя жидкими несмешивающимися фазами. В токсикологической химии чаще всего одной жидкой фазой является вода, другой – органический растворитель. Органический растворитель должен обладать высокой растворяющей способностью для анализируемого вещества, иметь низкую температуру кипения. Однако выбор органических растворителей невелик. Наиболее часто для этой цели используют диэтиловый эфир и хлороформ. Выбор органического растворителя определяется свойствами анализируемого соединения.

В условиях равновесия отношение концентраций вещества в обеих фазах представляется константой распределения (K), которая не зависит от общей концентрации вещества.

$$K = \frac{[C_o]}{[C_a]}$$

где C_o и C_a – равновесные концентрации вещества в обеих фазах (органической, водной) в одной и той же форме

Однако при экстракции могут происходить различные процессы. ассоциация, диссоциация, сольватация, комплексообразование. Практическое значение при химико-токсикологическом анализе имеет отношение общих (аналитических) концентраций экстрагируемого вещества, которое называют коэффициентом распределения (D).

$$D = \frac{C_o}{C_a}$$

где C_o и C_a – общие концентрации вещества в органической и водной фазе (независимо от формы существования вещества).

Коэффициент распределения определяют экспериментально в реальных условиях. Его значение используют для разработки условий экстракции ядовитого вещества.

Степень извлечения (процент экстракции) при однократной экстракции рассчитывают по формуле:

$$R = \frac{100 \cdot D}{D + V_a/V_o}$$

где R – степень экстракции, %, D – коэффициент распределения, V_a и V_o – равновесные объемы водной и органической фаз

Эта формула позволяет рассчитать объем органической фазы для определенного процента извлечения вещества при однократной экстракции.

Пример. Найти объем органического растворителя для извлечения 99% вещества из 100 мл водного раствора при однократной экстракции. Коэффициент распределения равен 20.

Из предыдущей формулы находим:

$$V_o = \frac{R \cdot V_a}{(100 - R) \cdot D}$$

Подставляя указанные значения R и D , находим:

$$V_o = \frac{99 \cdot 100}{(100 - 99) \cdot 20} = 495 \text{ мл.}$$

При *многократной экстракции* удается добиться полной экстракции значительно меньшим объемом органического растворителя. В этом случае расчет степени экстракции проводится по формуле:

$$R = 100 \cdot \left[1 - \left(\frac{V_b}{DV_o + V_b} \right)^n \right],$$

где n – *кратность экстракции*

Для приведенного выше примера при $D=20$, объеме водной фазы 100 мл достаточно использовать трехкратное извлечение органическим растворителем объемом 25 мл.

$$R = 100 \cdot \left[1 - \left(\frac{100}{20 \cdot 25 + 100} \right)^3 \right].$$

Таким образом, данным количеством растворителя можно полнее извлечь растворенное вещество, если проводить экстракцию многократно малыми порциями растворителя.

По приведенной выше формуле можно найти необходимую кратность экстракции при заданных условиях с целью достижения требуемой степени экстракции. Из вышеприведенных формул можно найти.

$$n = \frac{\lg \left(1 - \frac{R}{100} \right)}{\lg \frac{V_b}{DV_o + V_b}}.$$

Используя данные взятого примера $V_b=100$ мл; $V_o=25$ мл; $D=20$, найдем число экстракций для извлечения 99% вещества:

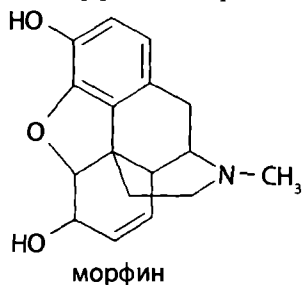
$$n = \frac{\lg \left(1 - \frac{99}{100} \right)}{\lg \frac{100}{500 + 100}} = \frac{-2}{-0,778} = 2,57 \text{ (округленно 3)}.$$

Добавление электролитов в водную вытяжку оказывает высаливающее действие за счет понижения растворимости ядовитых веществ в воде. В результате повышается степень их экстракции органическим растворителем.

Влияние pH зависит от характера извлекаемого вещества:

- при экстракции органическим растворителем вещество в водной фазе должно находиться в молекулярном, неионизированном состоянии,
- для веществ кислотного характера необходимо создать в растворе $pH=pK_a-2$, а для оснований – $pH=pK_a+2$;
- для веществ нейтрального характера значение pH особого значения не имеет. Эти соединения экстрагируются как из кислой, так и из щелочной среды,
- для веществ, являющихся амфолитами, расчет pH для экстракции производится иначе. В этих соединениях имеются кислотная и основная группы, и для каждой известна величина pKa.

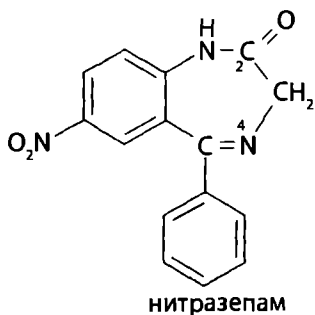
В качестве примеров можно привести расчет оптимальных значений рН для экстракции морфина и нитразепама.



Морфин проявляет кислотные свойства за счет фенольного гидроксила ($pK_{a1}=10$) и основные свойства за счет третичной аминогруппы ($pK_{a2}=6,17$).

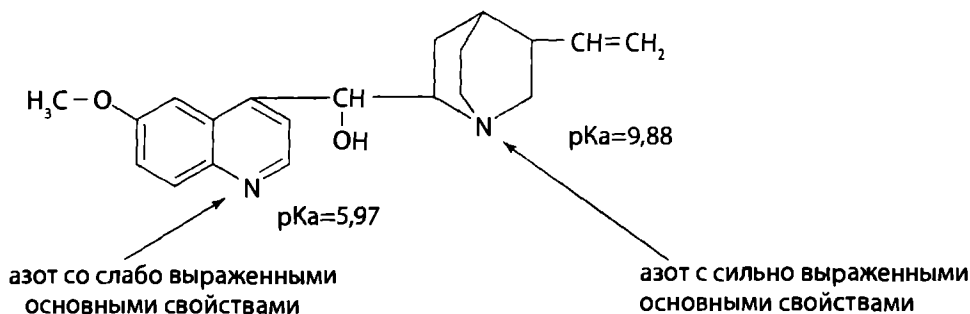
$$pH_{\text{экстракции}} = \frac{pK_{a1} + pK_{a2}}{2} = \frac{10 + 6,17}{2} = 8,08$$

Нитразепам проявляет кислотные свойства за счет имидольной группы в положении 2 ($pK_{a1}=11,0$) и основные свойства за счет азота в положении 4 ($pK_{a2}=2,3$).



$$pH_{\text{экстракции}} = \frac{11 + 2,3}{2} = 6,65$$

Для веществ, имеющих в молекуле более одного атома азота, расчет рН для максимальной экстракции проводится с использованием рКа более сильного основания. Например, алкалоид хинин:



Расчет максимального значения рН для экстракции хинина проводят по рКа азота хинуклидинового кольца:

$$pH_{\text{экстракции}} = pK_{a} + 2 = 9,8 + 2 = 11,8.$$

Очистка экстрактов на втором этапе изолирования

При извлечении токсических веществ из водной фазы в органической фазе вместе с токсическими соединениями будут содержаться так называемые соэкстрактивные вещества, среди которых жиры, белки, продукты их распада, птомаины, красящие, дубильные и дру-

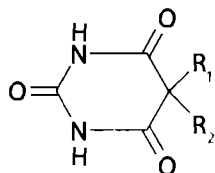
гие вещества. Эти примеси мешают анализу, загрязняют колонки хроматографов, могут привести к получению ложноположительных результатов. Например, птомаины – продукты распада аминокислот в подвергшемся разложению объекте – дают при анализе характерное свечение в УФ-свете, осадки с общеалкалоидными реактивами осаждения и т.д.

Для очистки экстрактов используют возгонку, реэкстракцию, электрофорез, хроматографию в тонком слое сорбента и др.

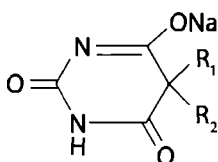
Возгонка (сублимация) применима для веществ, способных при нагревании возгоняться без разложения. Это барбитураты, салициловая и бензойная кислоты и некоторые алкалоиды. С этой целью после удаления органического растворителя остаток нагревают. Возгон, содержащий исследуемые вещества, осаждается на охлаждаемой с помощью мокрой ваты или марли поверхности (обычно на стекле). При этом соэкстрактивные соединения не возгоняются. Полученный возгон подвергают анализу.

Электрофорез – разделение веществ под действием внешнего электрического поля. Разделению подвергаются вещества, находящиеся в ионизированном состоянии. С этой целью часто используют лист фильтровальной или специальной бумаги для электрофореза, на который наносят 1/25 часть в виде точки и рядом 1/2 часть в виде полосы полученного из объекта экстракта. Бумагу смачивают буферным раствором с определенным значением pH, помещают в аппарат для горизонтального электрофореза, устанавливают необходимую величину напряжения. Условия подбирают таким образом, чтобы степень миграции (передвижения в электрическом поле) искомым соединений и соэкстрактивных веществ была разной или чтобы разделяемые вещества имели неодинаковый заряд и перемещались к противоположным полюсам. Полученную электрофореграмму высушивают и зону, по которой мигрировали вещества из 1/25 части экстракта, обрабатывают подходящим реагентом-проявителем. Непроявленную часть электрофореграммы, соответствующую обнаруженному с помощью реагента-проявителя пятну, вырезают, измельчают, элюируют исследуемое вещество соответствующим растворителем и анализируют.

Реэкстракция основана на переведении веществ из водной фазы в органическую при изменении pH среды. Этот метод применяют для очистки остатков, содержащих барбитураты и некоторые алкалоиды. Используется различная растворимость их молекулярных и ионизированных форм в воде и в органических растворителях. При очистке остатков, содержащих барбитураты, используется их способность к лактам-лактимной (имидо-имидольной) таутомерии. Экстракт, полученный из водной вытяжки при pH=2, содержит барбитураты в лактамной (имидной) форме:



После испарения органического растворителя к остатку добавляют раствор щелочи до pH=10. Барбитураты переходят в соли монолактимной формы. Их особенностью является растворимость в воде и нерастворимость в органическом растворителе



Примеси из полученного щелочного раствора экстрагируют диэтиловым эфиром. Очищенный щелочной раствор подкисляют до pH=2. При этом барбитураты вновь переходят в лактамную форму, способную экстрагироваться органическим растворителем.

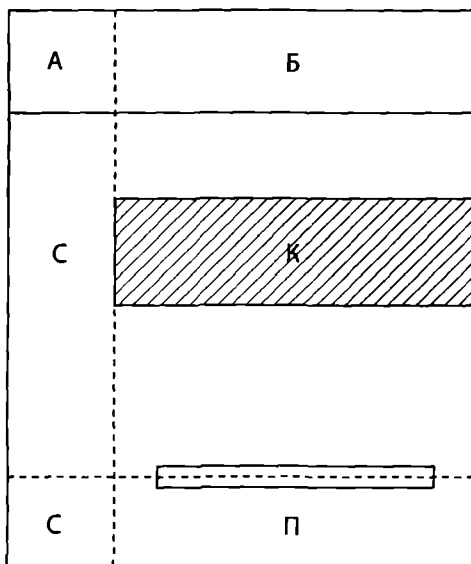


Рис. 3. Очистка извлечений из биологических объектов с помощью ТСХ

Особые трудности представляет анализ гнилостно разложившегося биологического материала, содержащего трупные яды

Очистка экстрактов от птомаинов При очистке остатков, содержащих алкалоиды и птомаины, использование реэкстракции основано на способности алкалоидов (оснований) образовывать соли в слабнокислой среде, а птомаинов (оснований) – в сильнокислой среде. Экстракт, полученный из водной вытяжки при $\text{pH}=8-10$, содержит алкалоиды и птомаины в виде оснований. После испарения органического растворителя такой остаток окрашен в бурый цвет и маслянистый на вид. Остаток после испарения органического растворителя растворяют в воде и добавляют щавелевую кислоту до слабнокислой реакции среды, алкалоиды переходят в соли, а птомаины остаются в виде оснований. После экстракции раствора хлороформом в органическую фазу переходят птомаины-основания, а алкалоиды-соли остаются в растворе, который затем подщелачивают раствором аммиака до $\text{pH}=8-10$ и экстрагируют очищенные алкалоиды-основания хлороформом. Методы реэкстракции часто сочетают с хроматографической очисткой.

Хроматография в тонком слое сорбента (ТСХ). Очистка извлечений с помощью ТСХ рекомендуется на последнем этапе химико-токсикологического анализа, когда необходимо определить найденное ядовитое вещество количественно или подтвердить его обнаружение с помощью физико-химических методов

С этой целью определенную часть экстракта наносят на пластинку в виде полосы (П) или в виде капель, а рядом наносят «стандарт» – раствор известного вещества – С (около 10–15 мкг) (рис. 3)

Пластинку помещают в частную систему растворителей, в которой происходит четкое разделение ядовитого вещества, его метаболитов и эндогенных соединений. Когда растворитель поднимется по пластинке на высоту 10 см, ее вынимают, высушивают. С помощью стеклянной пластинки закрывают часть Б и обрабатывают реагентом-проявителем ту часть пластинки (А), по которой двигался «стандарт». При этом фиксируют только «пятно-стандарта» С. Затем стеклянную пластинку снимают и зону сорбента (К), соответствующую «пятну-стандарту», соскабливают и элюируют подходящим растворителем (растворами кислот, щелочей, аммиака, спирта и др.).

Полученный элюат используют для обнаружения или количественного определения найденного ядовитого вещества с помощью ГЖХ, ВЭЖХ, УФ-спектрофотометрии, хроматомасс-спектрометрии и др.

6.4.1. Изолирование лекарственных и наркотических веществ амфифильными растворителями

Амфифильные растворители (метанол, этанол, ацетонитрил, ацетон) имеют сродство к гидрофильным и гидрофобным участкам мембран клеток, а поэтому способны легко проникать внутрь клеток и извлекать лекарственные и наркотические вещества. Известно, что в ионизированной форме (при $\text{pH}=2$) лекарственные и наркотические вещества извлекаются полярными растворителями – водой и спиртом, в молекулярной (неионизированной) форме – липофильными (неполярными) растворителями. С помощью амфифильных растворителей лекарственные и наркотические вещества способны извлекаться как в ионизированной, так и в неионизированной форме. При изолировании не обязательно подкислять или подщелачивать объект.

Изолирование подкисленным спиртом

Метод Стаса–Отто. Метод предложен в 1851 г бельгийским химиком Ж.С.Стасом для изолирования никотина из внутренних органов трупа. В 1856 г. Юлий и Роберт Отто ввели в этот метод очистку от примесей с помощью органических растворителей. В настоящее время он известен как метод Стаса–Отто. На протяжении многих десятилетий этот метод подвергался различным модификациям с учетом факторов, влияющих на изолирование ядовитых веществ. В настоящее время метод применим для выделения не только алкалоидов, но и веществ кислотного, слабоосновного характера, в том числе синтетических лекарственных и наркотических средств.

Схема метода

1-й этап. Навеску объекта массой 100 г настаивают три раза по 24 ч с 96% этиловым спиртом, подкисленным щавелевой кислотой до $\text{pH}=2,5-3,0$. Спиртовые вытяжки упаривают при 40°C и в полученном остатке многократно осаждают белки 96% спиртом. Очищенный остаток растворяют в 20–25 мл воды.

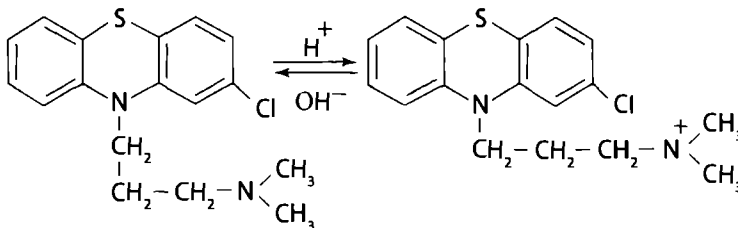
2-й этап. Водный раствор последовательно экстрагируют хлороформом при $\text{pH}=2$ и $\text{pH}=8-10$ после подщелачивания 25% раствором аммиака. В экстракт при $\text{pH}=2$ переходят вещества кислотного и слабоосновного характера. В экстракт при $\text{pH}=8-10$ переходят вещества основного характера.

Оценка метода

Достоинство метода состоит в том, что он позволяет извлекать вещества различной природы. Кроме того, этиловый спирт вызывает осаждение белков, что очень важно при работе с трупным материалом.

Недостатком метода являются длительность выполнения и возможные потери искомого вещества за счет адсорбции их белками при осаждении и фильтровании. Однако несмотря на это и на появление новых методов изолирования, метод Стаса–Отто не теряет значения, особенно при исследовании объектов, подвергшихся сильному гнилостному изменению.

Метод Е.М.Саломатиной. Экстракция подкисленным спиртом хорошо обоснована Е.М.Саломатиным при определении производных фенотиазина в биологических объектах. Обладая слабыми основными свойствами, производные фенотиазина при $\text{pH}=2-3$ образуют ионизированную форму, а при $\text{pH}>7$ – неионизированную.



неионизированная форма аминазина ($\text{pH}=13$). Легко растворима в эфире ионизированная форма аминазина ($\text{pH}=2-3$). Растворима в спирте и воде

Используя эти свойства, удалось выделить и очистить от примесей анализируемые соединения и их основные метаболиты – сульфоксиды.

Схема метода

1-й этап. Объект заливают 96% этиловым спиртом, подкисляют щавелевой кислотой до $pH=2-3$ и настаивают 3 раза по 2 ч. Спиртовые вытяжки упаривают при $40^{\circ}C$ до густоты сиропа. В остатке осаждают белки 96% спиртом, фильтруют и выпаривают досуха. Очищенный остаток растворяют в 100 мл воды, нагретой до температуры $40-60^{\circ}C$, охлаждают и фильтруют.

2-й этап. Фильтрат экстрагируют дважды диэтиловым эфиром при $pH=2-3$. Затем водную фазу подщелачивают 50% раствором гидроксида натрия и вновь экстрагируют диэтиловым эфиром. Объединенные эфирные вытяжки взбалтывают с 0,5 М раствором серной кислоты и полученный кислый водный реэкстракт используют для обнаружения производных фенотиазина.

Оценка метода. По данным автора, метод позволяет достичь максимальной экстракции при изолировании и уменьшить потери исследуемых веществ как при изолировании, так и при экстракции.

Изолирование нейтральным ацетоном

Метод разработан В. А. Карташовым. В качестве экстрагента им предложен амфифильный растворитель ацетон, который способен смешиваться как с водой, так и с липидами.

Схема метода

1-й этап. 5 г гомогенизированного биологического материала четырехкратно извлекают ацетоном последовательно 10,0; 5,0; 5,0 и 5,0 мл с помощью аппарата для встряхивания, каждый раз в течение 5 мин. Затем пробы центрифугируют при 2,5 тыс. об./мин в течение 5 мин. Ацетоноводный экстракт смешивают с 4 г высушенного карбоната калия. Ацетоновый слой отделяют, добавляют 20 мл 0,5 М раствора хлороводородной кислоты и 10 мл н-гексана, встряхивают. Органическую фазу, содержащую гидрофобные примеси, отбрасывают.

2-й этап. Водную фазу экстрагируют эфиром, эфир испаряют и анализируют на вещества кислотного характера. Оставшийся водный раствор подщелачивают 25% раствором аммиака до $pH=9-10$, добавляют 3 г хлорида натрия (для высаливающего эффекта) и экстрагируют диэтиловым эфиром. Эфир испаряют и остаток исследуют на вещества основного характера.

Оценка метода. Способ позволяет получать достаточно чистые экстракты. В процессе гомогенной экстракции анализируемые вещества практически не теряются. При реэкстракции потери веществ не превышают 5–6%

6.4.2. Изолирование подкисленной водой

Этот метод является одним из наиболее эффективных и доступных. Соли многих лекарственных и наркотических веществ лучше растворяются в подкисленной воде, чем в подкисленном спирте.

Вода, подкисленная щавелевой кислотой, была предложена в 1856 г. С. Макадамом для выделения алкалоидов из биологических объектов. Для очистки извлечений был использован активированный уголь.

В 1865 г. Г. Драгендорф для подкисления объекта при изолировании алкалоидов предложил использовать серную кислоту. Однако способы дальнейшей обработки извлечений были слишком громоздки, и поэтому эти методы не получили широкого распространения.

В 1942 г. А. В. Степанов и М. Д. Швайкова разработали метод экстракции алкалоидов подкисленной водой из растительных объектов (пищевых продуктов). Этот метод в 1947 г. был модифицирован и применен А. А. Васильевой для экстракции алкалоидов из свежих биологических объектов, после чего подкисленная вода стала широко использоваться в практике химико-токсикологического анализа при изолировании различных токсических веществ.

Эти методы получили дальнейшее развитие и совершенствование в работах многих ученых. В. Ф. Крамаренко и его учениками (В. И. Поповой, Б. В. Швыдким, З. С. Рокач

и др.) были изучены оптимальные условия экстракции алкалоидов из трупного материала и из водных растворов. Ими были установлены оптимальное значение pH для максимальной экстракции алкалоидов, условия разрушения комплекса алкалоидов с белками и изучены влияние электролитов и их оптимальной концентрации на изолирование ядовитых веществ, способы осаждения белков и удаления их из полученных водных вытяжек. Процесс фильтрования был заменен центрифугированием. Определена пригодность метода при анализе как свежего, так и загнившего трупного материала.

Разработка и детальное изучение оптимальных условий экстракции позволили внести изменения и в ранее предложенные методы изолирования лекарственных и наркотических веществ.

Метод Степанова–Швайковой

1-й этап. Навеску растительного объекта массой 5 г заливают водой очищенной (1:12), подкисляют щавелевой кислотой до pH=2–2,5 и настаивают 2 ч. Водную вытяжку центрифугируют в течение 30 мин при 3000 об./мин. Прозрачную жидкость отделяют от осадка.

2-й этап. Центрифугат экстрагируют последовательно хлороформом при pH=2, затем при pH=10 после подщелачивания 25% раствором аммиака.

Метод А.А.Васильевой

1-й этап. Навеску измельченного биологического объекта массой 100 г заливают водой очищенной (1:2), подкисляют щавелевой кислотой до pH=2–2,5 и настаивают 2 раза: 2 ч и 1 ч при периодическом взбалтывании. Водную вытяжку процеживают через двойной слой марли и центрифугируют. Надосадочную прозрачную жидкость отделяют.

2-й этап. Центрифугат экстрагируют последовательно хлороформом при значениях pH=2, затем при pH=10 после подщелачивания 25% раствором аммиака.

Оценка методов Методы Степанова–Швайковой и Васильевой уменьшают время на выполнение анализа по сравнению с методом Стаса–Отто в 3–4 раза и позволяют изолировать меньшие количества ряда алкалоидов. Они не требуют затраты этилового спирта, но не пригодны при анализе сильно загнивших объектов.

Метод В.Ф.Крамаренко

1-й этап. Навеску измельченного объекта массой 100 г заливают 0,02 М раствором серной кислоты (pH=2,5) и настаивают 2 раза: 2 ч и 1 ч. Водные вытяжки центрифугируют, отделяют от осадка, насыщают сульфатом аммония и вновь центрифугируют. Центрифугат (pH=2,5) экстрагируют диэтиловым эфиром с целью очистки.

Таблица 4

Сравнительная оценка методов изолирования алкалоидов
(по данным В.Ф.Крамаренко)

Алкалоид	Процент изолирования по методу		
	Стаса–Отто	Васильевой	Крамаренко
Морфин	18–21	21–24	47–51
Кодени	24–26	33–40	59–63
Кокаи	17–19	25–32	53–56
Хинин	14–18	23–41	63–69
Пахикарпин	19–22	54–58	66–70
Стрихнин	22–26	30–34	50–56
Скополамин	11–16	35–39	61–66
Бруцин	29–32	27–33	51–55
Атропин	22–27	31–37	59–64
Время анализа	7–8 дней	4–6 ч	4–6 ч

2-й этап. Водную фазу после подщелачивания до $\text{pH}=8,5-9$ раствором гидроксида натрия экстрагируют 4 раза хлороформом.

Оценка метода. В методе максимально учтены химические свойства алкалоидов и органических оснований. Поэтому условия изолирования и последующей экстракции оптимальны для определения алкалоидов.

Сравнение приведенных методов (см. табл. 4) позволяет провести выбор условий изолирования в зависимости от конкретных условий.

Метод В.И.Половой

1-й этап. Измельченный объект массой 100 г заливают 80 мл 0,02 М раствора серной кислоты ($\text{pH}=2-3$) и настаивают 3 раза: 2 ч, 1 ч и 1 ч. Водную вытяжку процеживают через тройной слой марли и центрифугируют в течение 25–30 мин при скорости 3000 об/мин. Надосадочную жидкость отделяют и очищают с помощью гель-хроматографии. С этой целью предложен гель сефадекс G-25. Барбитураты с колонки элюируют с помощью 0,02 М раствора серной кислоты.

2-й этап. Элюат подвергают концентрационному экстрагированию путем повторной экстракции хлороформом или диэтиловым эфиром.

Оценка метода. Метод обеспечивает хорошую очистку извлечений. Он применим при исследовании объектов, подвергшихся гнилостным изменениям, однако может использоваться для изолирования ограниченного числа веществ, в частности барбитуратов.

6.4.3. Изолирование подщелоченной водой

Впервые экстракцию подщелоченной водой предложил П.Валов в 1946 г. Для осаждения белков он применил вольфрамат натрия. Метод может быть пригоден при исследовании объекта на наличие некоторых веществ кислотного характера (салициловая и бензойная кислота, фенолы, нитрофенолы). Первоначально П.Валов этот метод использовал для изолирования барбитуратов из крови. В настоящее время известно несколько модификаций метода П.Валова. Мы приводим модификацию метода, предложенную М.Д.Швайковой и ее сотрудниками.

Метод П.Валова

1-й этап. Измельченный объект массой 100 г заливают 180 мл подщелоченной воды ($\text{pH}=10$) и настаивают в течение 30 мин. Щелочную вытяжку центрифугируют. Надосадочную жидкость (центрифугат) подкисляют серной кислотой до $\text{pH}=2$. В полученном растворе с помощью вольфрамата натрия при нагревании осаждают белки и смесь вновь центрифугируют.

2-й этап. Барбитураты из центрифугата экстрагируют диэтиловым эфиром при значении $\text{pH}=2$. Эфирный слой отделяют и проводят реэкстракцию водным раствором гидроксида натрия. Щелочной водный экстракт подкисляют серной кислотой до $\text{pH}=2$ и барбитураты извлекают равным объемом диэтилового эфира. Такая повторная экстракция позволяет получить чистые извлечения.

Оценка метода. Метод эффективен, позволяет выделить 50–90% барбитуратов и получить достаточно чистые извлечения. Недостатком метода является сорбция некоторых барбитуратов белками.

6.4.4. Изолирование наркотических и одурманивающих веществ из мочи твердофазной экстракцией

Этот метод является альтернативой жидкостной экстракции. Он основан на сорбции токсических веществ на синтетических смолах, модифицированных силикагелях, активированном угле и др. Авторами метода являются Т.И.Бурькина и Б.Н.Изотов. В качестве сорбента ими предложен полисорб-1 (сополимер стирола и дивинилбензола). Метод раз-

работан для выделения, очистки и концентрирования наркотических и одурманивающих веществ из мочи. Ядовитые вещества сорбируются на полисорбе, а затем элюируются соответствующим элюентом.

Схема метода

Для изолирования веществ кислотного характера мочу (50 мл) подкисляют до $\text{pH}=2$ хлороводородной кислотой и смесь пропускают через колонку с сорбентом со скоростью 1,5–2 мл/мин. Для изолирования веществ основного характера к 50 мл мочи добавляют раствор аммиака до $\text{pH}=8-9$ и также пропускают через колонку с сорбентом.

Вещества с кислотными и нейтральными свойствами, которые удерживаются гидрофобными группами сорбента, элюируют растворителями средней полярности. Оптимальными элюентами являются этилацетат или смесь ацетона и этилацетата. Вещества основного характера, удерживаемые катионообменными группами сорбента в протонированной форме, элюируются смесью хлороформа и изопропанола (9:1 или 4:1). Органические растворители (элюенты) удаляют при 40°C под током азота. Сухой остаток анализируют. Чувствительность метода находится в пределах 0,06–0,4 мкг вещества в 1 мл мочи.

Оценка метода. Метод сорбции (твердофазной экстракции) позволяет упростить методику подготовки объекта к анализу, обрабатывать до 5 и более проб мочи одновременно, повысить чувствительность обнаружения токсических веществ, получить более чистые извлечения, практически исключить присутствие в элюатах веществ, определяющих запах мочи.

В 50 мл мочи методом сорбции можно определить: морфина 20 мкг, кодеина 2–5 мкг, аминазина, дипразина, промедола, пиперазина 4–5 мкг, наркотина 10 мкг, амитриптилина 8–10 мкг, диазепама 5–10 мкг.

6.4.5. Экстракция органическими растворителями

Большую группу ядов составляют органические ядохимикаты, применяемые в сельском хозяйстве (пестициды). Наиболее часто в химико-токсикологической практике встречаются следующие пестициды:

- *фосфорсодержащие пестициды* – производные фосфорной, тиофосфорной, дитиофосфорной и фосфоновой кислот: тиофос, трихлорметафос-3, карбофос, хлорофос;
- *хлорорганические производные* – гексахлорциклогексан, гептахлор;
- *производные карбаминевой кислоты* – севин;
- *органические соединения ртути* – алкилртутные соли;
- *синтетические пиретроиды.*

В настоящее время не существует единого, универсального метода изолирования ядохимикатов из различных объектов, нет и общей схемы очистки полученных экстрактов. Даже среди определенной группы отдельные соединения могут изолироваться из объекта различными методами, хотя для большинства веществ этой группы общим свойством является растворимость в органических растворителях. Чаще всего рекомендуются индивидуальные методы изолирования пестицида для каждого объекта (воздух, пищевые продукты растительного происхождения, почва, кровь, моча, внутренние органы, масла и др.). Методы очистки пестицидов, выделенных из биологических объектов, также разнообразны. Среди них перегонка с водяным паром, реэкстракция, кристаллизация, хроматография в тонком слое сорбента, ионообменная хроматография и др.

Изолирование фосфорсодержащих пестицидов (тиофос, трихлорметафос-3, карбофос, хлорофос)

При изолировании первых трех пестицидов биологический объект смешивают с водой до кашицеобразной массы и настаивают с хлороформом или бензолом 3 раза по 4 и 2 ч. Экстракты объединяют, фильтруют, выпаривают досуха. Сухой остаток растворяют в небольшом объеме органического растворителя и исследуют.

При изолировании хлорофоса схема метода включает 2 этапа:

1-й этап. Биологический объект заливают водой, подкисленной серной кислотой, до $pH=2-2,5$ и настаивают 3 раза по 2 и 1 ч. Водные вытяжки центрифугируют, надосадочную жидкость отделяют.

2-й этап. Центрифугат экстрагируют хлороформом 30 мл 4 раза, растворитель упаривают и в остатке проводят обнаружение и количественное определение хлорофоса и его основного метаболита – дихлоруксусного альдегида.

Изолирование хлорорганических производных

Для изолирования гексахлорциклогексана навеску биологического объекта смешивают с водой до кашицеобразной массы, подкисляют раствором щавелевой кислоты до $pH=2$ и подвергают перегонке с водяным паром. Холодильник промывают диэтиловым эфиром, дистиллят экстрагируют диэтиловым эфиром. Объединенные эфирные вытяжки промывают водой, испаряют и остаток анализируют.

При отравлении гептахлором объектами исследования являются печень и почки. Навеску объекта смешивают с водой до кашицеобразной массы и настаивают с гексаном или эфиром 3 раза по 30 мин. Объединенные гексановые экстракты взбалтывают с насыщенный раствором сульфата натрия в 20% серной кислоте до получения бесцветной водной фазы (очистка) или обрабатывают безводным сульфатом натрия. Очищенные гексановые вытяжки анализируют.

Для выделения гептахлора из биологических жидкостей навеску крови или мочи экстрагируют диэтиловым эфиром или гексаном трижды. Экстракты объединяют и смешивают с безводным сульфатом натрия, органический растворитель испаряют и остаток исследуют на гептахлор.

Изолирование производных карбаминовой кислоты (севина)

Навеску объекта смешивают с водой до кашицеобразной массы и настаивают с бензолом 3 раза по 4 и 2 ч. Бензольные вытяжки объединяют и выпаривают досуха. Сухой остаток растворяют в спирте и анализируют на севин и его основной метаболит α -нафтол.

Изолирование синтетических пиретроидов

При отравлении синтетическими пиретроидами объектами исследования могут быть кровь, моча, почки, селезенка, желудок, тонкий кишечник. При направленном анализе изолирование включает два этапа:

1-й этап. Пиретроиды экстрагируют из объекта гексаном, петролейным эфиром или смесью гексана и ацетона 9:1 или 7:3 путем взбалтывания в течение 10 мин. Экстракт очищают от примесей ледяной смесью ацетон–вода (2:1). Водный раствор фильтруют.

2-й этап. Экстракцию пиретроидов из полученного фильтрата проводят с помощью н-гексана.

При ненаправленном анализе изолирование включает также два этапа:

1-й этап. Настаивают объект с водой, подкисленной хлороводородной кислотой, до $pH=2-3$, центрифугируют и отделяют надосадочную жидкость.

2-й этап. Центрифугат экстрагируют органическим растворителем (диэтиловым эфиром, хлороформом).

Изолирование органических соединений ртути

Объектами исследования при отравлениях могут быть печень, почки, моча и кровь. Изолирование соединений ртути включает следующие этапы.

1-й этап. Навеску объекта настаивают с 3 М раствором хлороводородной кислоты 2 раза по 30–60 мин, затем смесь центрифугируют.

2-й этап. Надосадочную жидкость экстрагируют хлороформом

Для изолирования соединений ртути из мочи вначале к объекту добавляют концентрированную хлороводородную кислоту и настаивают 30 мин. Затем проводят трехкратно экстракцию хлороформом.

Для изолирования органических соединений ртути из крови к объекту добавляют раствор гидроксида натрия. Смесь нагревают на водяной бане 5–10 мин. Полученную однородную жидкость смешивают с концентрированной хлороводородной кислотой и настаивают 10–15 мин, затем центрифугируют. Из надосадочной жидкости соединения ртути экстрагируют хлороформом.

6.4.6. Экстракция водой в сочетании с диализом

С помощью этого метода изолируют:

- *минеральные кислоты*: серная, азотная, хлороводородная;
- *щелочи*. гидроксиды натрия, калия, аммиак и др.;
- *ядовитые соли*: нитраты, нитриты.

Такие исследования проводят в том случае, если предварительные испытания дают для этого основание или материалы дела указывают на возможность отравления указанными веществами.

Если в трупном материале минеральные кислоты или едкие щелочи после отравления образовали соответствующие соли, их обнаружение не проводится, так как некоторые соли в определенных количествах всегда содержатся в органах и тканях людей и животных.

Для изолирования объекты измельчают и добавляют очищенную воду до получения кашицеобразной массы, которую оставляют на 1–2 ч, а затем фильтруют. Для очистки полученных вытяжек применяют метод диализа.

Диализ – освобождение водных вытяжек, содержащих ядовитые вещества, от высокомолекулярных соединений при помощи полупроницаемой мембраны. Для проведения диализа между вытяжкой и водой очищенной помещают пористую перегородку – мембрану, поры которой проницаемы для ионов и молекул низкомолекулярных веществ, но не пропускают белки и макромолекулы. Распределение (концентрация) ионов ядовитых веществ по обе стороны мембраны определяется мембранным равновесием, которое было описано и теоретически объяснено Ф. Доннаном. Впервые метод диализа был применен Т. Грэмом в середине XIX в.

В качестве мембран для диализа используют перегородки из животного пузыря, пергаментной бумаги, пленки из нитро- или ацетилцеллюлозы (коллодий, целлофан). В настоящее время полупроницаемые мембраны можно изготовить с любой степенью проницаемости, т.е. с любым диаметром пор. Применяются также пористые металлические перегородки.

Недостатком метода является возможность прилипания белковых молекул (частиц) к стенкам пор и их коагуляции при соприкосновении с поверхностью мембраны. Поэтому при выборе мембраны учитываются свойства и характер примесей в вытяжках из объектов

Ускорения процесса диффузии ионов при диализе можно достичь наложением электрического поля (электродиализ). Полученные диализаты подвергают основному исследованию на наличие кислот, щелочей, ядовитых солей.

6.5. Методы минерализации

Обнаружение и определение «металлических» ядов в биологических объектах возможно после разрушения органических веществ. Необходимость полной минерализации объекта связана с тем, что соли металлов в организме вступают во взаимодействие с белками и образуют иногда очень прочные соединения. В этом случае металлы почти не извлекаются из объектов обычными методами (настаиванием с различными извлекающими жидкостями) и не могут быть обнаружены с помощью известных реакций. Минерализация создает возможность получения соединений металлов, легко переводимых в ионное состояние. Известны два метода минерализации: «мокрая минерализация» и «сухое озоление».

6.5.1. Методы «мокрой минерализации»

Все методы мокрой минерализации сводятся к разрушению органических веществ с помощью окислителей в кислой среде. Окислителями при мокрой минерализации могут быть серная кислота и ее смеси с азотной, хлорной кислотами или концентрированным раствором пероксида водорода. Следует подчеркнуть, что все реактивы, применяемые для мокрого озоления, особо опасны. Они могут вызвать сильные ожоги, являться взрывоопасными (хлорная кислота, пероксид водорода), а в смесях с органическими веществами – пожароопасными.

Различают несколько модификаций метода «мокрого озоления»:

- минерализация серной и азотной кислотами;
- минерализация серной, азотной и хлорной кислотами;
- минерализация для обнаружения ртути в объекте (частный метод).

Минерализация серной и азотной кислотами

Минерализацию проводят в колбе Кьельдаля (рис. 4), в которую помещают 100 г измельченного объекта и 75 мл смеси равных объемов азотной, серной кислот и воды. Колбу Кьельдаля укрепляют на 2 см выше асбестовой сетки. Над колбой закрепляют делительную воронку с азотной кислотой, разбавленной водой очищенной в соотношении 1:1.

На первой стадии (деструкция) проводят медленное нагревание, не допуская обугливания. При этом разрушаются структурные элементы тканей и органические соединения, за исключением жиров. Окисление происходит с помощью азотной кислоты:



Побочными реакциями на первой стадии могут быть реакции сульфирования и нитрования. Продукты этих реакций труднее минерализуются, поэтому для предотвращения их образования в начале минерализации рекомендуется добавлять воду.

По окончании первой стадии минерализации получается прозрачная жидкость желтоватого или буроватого цвета.

Для разрушения жиров (вторая стадия) колбу Кьельдаля опускают на асбестовую сетку, нагревание усиливают и начинают по каплям добавлять азотную кислоту из делительной воронки. На этой стадии окислительные свойства проявляет наряду с азотной кислотой и серная кислота, так как ее концентрация достигает 70% за счет испарения воды из колбы:



Если первая стадия заканчивается за 15–40 мин, то вторая стадия длится 3–4 ч. Окончанием этой стадии считается момент, когда не наблюдается обугливания минерализата при 30-минутном нагревании без добавления азотной кислоты. Минерализат при этом должен быть бесцветным, а при наличии меди или хрома может быть голубоватым или зеленоватым.

Для денитрации (удаление оксидов азота, азотной, азотистой кислот) к минерализату добавляют 10–15 мл воды очищенной, нагревают до 110–130°C и по каплям

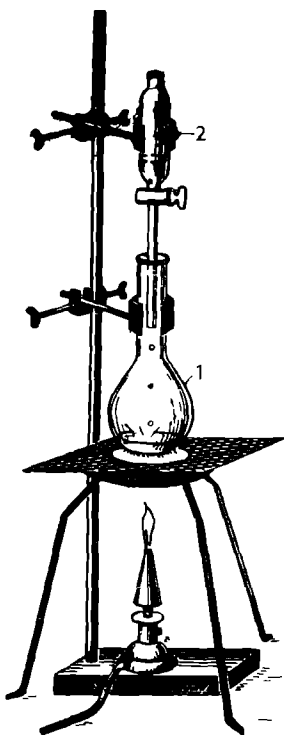
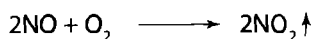
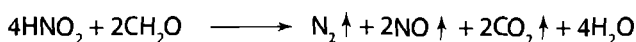
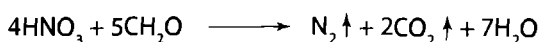
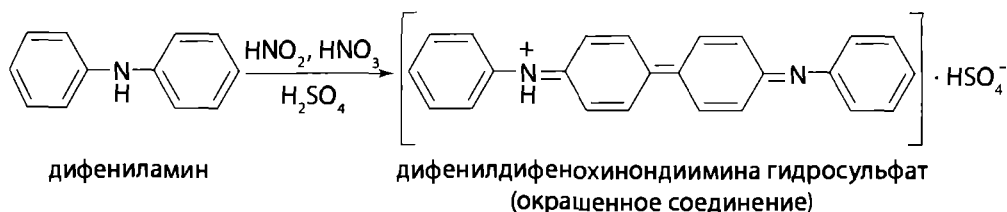


Рис. 4. Прибор для минерализации биологического объекта методом мокрого озоления. 1 – колба Кьельдаля с объектом, 2 – делительная воронка с раствором азотной кислоты

в смесь вносят формалин. При этом происходят реакция восстановления азотной и азотистой кислот и окисление формальдегида по следующим уравнениям:



Реакция заканчивается за 1–2 мин. Возможные остатки формальдегида удаляются при нагревании жидкости в течение 5–10 мин. Проверку окончания денитрации проводят с помощью дифениламина в серной кислоте. Отсутствие синего окрашивания свидетельствует о полном удалении из минерализата соединений азота.

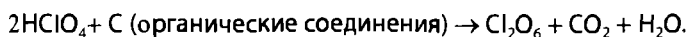


После завершения денитрации минерализат разбавляют водой очищенной до 180 мл. Если образуется осадок, жидкость нагревают до кипения для укрупнения осадка и охлаждают. Осадок отфильтровывают и промывают 1% раствором серной кислоты. Осадок анализируют на содержание ионов бария и свинца. Фильтрат разбавляют в мерной колбе водой очищенной до 200 мл и исследуют на катионы марганца, хрома, серебра, меди, висмута, цинка, галлия, сурьмы, мышьяка, кадмия и др.

Оценка метода Метод позволяет быстро достичь полноты разрушения органических веществ. В результате получается малый объем минерализата, что увеличивает возможность обнаружения ядов с помощью известных реакций и методов. Недостатком метода является частичная или полная потеря ртути в процессе минерализации.

Минерализация серной, азотной и хлорной кислотами

Добавление хлорной кислоты в минерализующую смесь ускоряет процесс окисления. В нашей стране метод применяется сравнительно редко и используется для минерализации особо стойких органических объектов. В разрушении органических веществ принимают участие все три кислоты: азотная, серная (по ранее приведенным схемам) и хлорная.



По технике исполнения метод аналогичен предыдущему. Минерализацию проводят в колбе Кьельдаля или в аппарате Бетге. Аппарат Бетге (см. рис. 5) используется при необходимости улавливания летучих продуктов окисления при минерализации. К измельченному объекту добавляют через воронку по 25 мл концентрированных серной и азотной кислот и 35 мл 37–42% хлорной кислоты

Нагревание усиливают постепенно, добавляя при обугливании по каплям концентрированную азотную кислоту. Когда минерализат станет прозрачным, его разбавляют водой

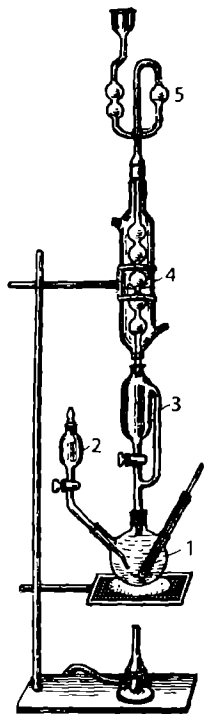


Рис. 5. Прибор Бетте для разрушения биологического объекта с помощью серной, азотной и хлорной кислот: 1 – колба для окисления объекта; 2 – воронка для введения кислот в процессе минерализации; 3 – коллектор; 4 – холодильник шариковый; 5 – улавливающая насадка.

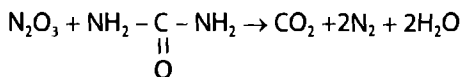
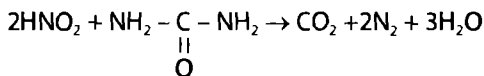
очищенной (1:1) и проверяют полноту разрушения путем прибавления 25% раствора аммиака. При отсутствии оранжевого окрашивания (реакция на трудноокисляемые аминокислоты: триптофан, тирозин, фенилаланин) считают окисление объекта законченным.

Оценка метода. Основным достоинством метода является более полное и быстрое окисление. Время минерализации сокращается в 2–3 раза по сравнению с методом разрушения серной и азотной кислотами. Потери ртути меньше, чем в предыдущем методе, так как разрушение происходит в замкнутой системе.

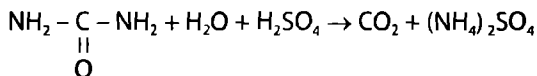
6.5.2. Метод минерализации для обнаружения ртути в объекте

При использовании общепринятых методов минерализации ртуть практически полностью теряется, так как ее соединения летучи. Поэтому делались многочисленные попытки усовершенствовать стадии минерализации объекта. В настоящее время в химико-токсикологическом анализе используется частичная (деструктивная) минерализация в модификации А.Н.Крыловой.

К объекту массой 20 г (печень или почки отдельно) добавляют 5 мл воды очищенной, 1 мл этилового спирта и 10 мл концентрированной азотной кислоты. Затем по каплям добавляют 10 мл концентрированной серной кислоты. Такой процесс позволяет контролировать скорость разложения азотной кислоты. Этому способствует и наличие этилового спирта, который способен связывать некоторое количество азотной кислоты непрочной эфирной связью. По окончании добавления серной кислоты колбу оставляют на 15 мин при комнатной температуре до прекращения выделения оксидов азота, а затем нагревают на водяной бане 10–20 мин. Если при нагревании реакция протекает слишком бурно с выделением бурых паров, то добавляют 30–50 мл горячей воды. Горячий деструктат фильтруют в колбу с 20 мл насыщенного раствора мочевины, который добавляют для проведения денитрации. В данном случае не требуется более сильных восстановителей, так как наличие этанола и условия проведения деструкции приводят в итоге к образованию азотной кислоты и оксидов азота низшей степени окисления.



Избыток мочевины удаляют нагреванием в присутствии серной кислоты.



Деструктат разбавляют водой до определенного объема и далее проводят необходимые испытания.

Данный метод позволяет разрушить основные структурные элементы тканей (неразрушенными остаются жиры и трудноокисляемые аминокислоты). Связь ртути с белками разрушается.

Оценка метода. Метод позволяет достаточно быстро и полно разрушить связь ртути с белками. Потери ртути составляют не более 10% при ее содержании от 0,5 до 1,0 мг в 100 г объекта.

6.5.3. Методы «сухого озоления»

В химико-токсикологическом анализе из способов «сухого озоления» в ряде случаев применяют метод сплавления с карбонатом и нитратом натрия и метод простого сжигания. Их используют при небольших количествах объекта исследования, при отсутствии необходимости анализа на наличие соединений ртути и др.

Метод сплавления с карбонатом и нитратом натрия применяется и как дополнительный способ разрушения при специальных исследованиях на наличие в объекте мышьяка, сурьмы или для разделения свинца, бария, серебра. Особенно он удобен при анализе органических красителей, остатков мочи, волос, ногтей и т.п.

Метод простого сжигания используется при исследовании объекта на наличие солей меди, марганца, висмута, цинка, фторидов и кремнефторидов.

Метод простого сжигания при определении соединений меди, марганца, висмута и цинка

На исследование из объекта берут небольшие навески массой 1–10 г (пищевые продукты, биологический материал). Измельченные объекты высушивают на песчаной бане, затем обугливают, усиливая нагрев до 300–400°C. После охлаждения обугленный объект смачивают насыщенным раствором нитрата аммония и нагревают на слабом огне до образования белой золы. Остаток обрабатывают хлороводородной или азотной кислотами. Полученный раствор фильтруют, выпаривают досуха, остаток растворяют в воде и используют для исследования.

Метод простого сжигания при определении соединений фтора и кремнефторидов

К соединениям фтора, имеющим токсикологическое значение, относятся соли фтористоводородной кислоты (NaF , NaHF_2 , CaF_2) и кремнефториды (Na_2SiF_6).

Для изолирования фторидов измельченные органы трупа, содержимое желудка, пищевые продукты и др. в количестве 25 г подщелачивают избытком гашеной извести или гидроксидом натрия, смачивают раствором нитрата аммония или концентрированной азотной кислоты, высушивают и прокалывают при температуре не выше 500°C до полного сжигания. Полученная зола подвергается анализу. При подозрении на возможность присутствия фторидов в реактивах и посуде необходимо провести в тех же условиях слепой опыт.

Метод сплавления с карбонатом и нитратом натрия

Навеску объекта массой 1–2 г растирают со смесью карбоната и нитрата натрия (2:1). В тигель помещают 5–6 г нитрата натрия, расплавляют его путем нагревания, а затем малыми порциями вносят подготовленную растертую массу объекта с карбонатом и нитратом натрия. Смесью нагревают на асбестовой тарелке, не допуская образования вспышек пламени в объекте. Сжигание считают законченным, когда исчезла черная окраска после добавления последней порции смеси. Остаток, представляющий собой белый сплав, обрабатывают горячей водой (выщелачивают). В водном растворе сплава определяют наличие ионов металлов.

При таком методе минерализации исключается обнаружение ртути, так как она способна улетучиваться не только в свободном состоянии, но и в виде некоторых солей.

6.6. Методы изолирования «летучих» ядов

Одним из методов изолирования ядовитых веществ является *перегонка с водяным паром*. С помощью этого метода из биологического материала изолируются следующие группы веществ:

- *алифатические спирты (алканолаы)*: метиловый спирт, этиловый спирт, пропанол, бутанол, пентанол;
- *диолы*: этиленгликоль;
- *алкилгалогениды*: хлороформ, хлоралгидрат, четыреххлористый углерод, дихлорэтан;
- *альдегиды*: формальдегид;
- *кетоны*: ацетон;
- *одноатомные фенолы и их производные*: фенол, крезолы;
- *карбоновые кислоты*. уксусная кислота;
- *синильная кислота*;
- *некоторые алкалоиды*: никотин, анабазин, пахикарпин.

Перегонке с водяным паром могут подвергаться вещества независимо от их способности смешиваться с водой или других физических и химических свойств. Это видно из приведенных характеристик веществ:

- *кристаллические*: фенол, о-крезол, п-крезол, хлоралгидрат;
- *газообразные*: формальдегид, синильная кислота (выше температуры 26,5°C);
- *жидкости, хорошо смешивающиеся с водой*: синильная кислота, метиловый спирт, этиловый спирт, этиленгликоль, ацетон;
- *жидкости, плохо смешивающиеся с водой и имеющие плотность >1*: дихлорэтан, четыреххлористый углерод, хлороформ; *имеющие плотность <1*: изоамиловый, бутиловый, пропиловый спирты;
- *вещества, мало растворимые в воде*: о-крезол, п-крезол, фенол, хлороформ, дихлорэтан, четыреххлористый углерод;
- *вещества, хорошо растворимые в воде*: хлоралгидрат.

6.6.1. Метод перегонки с водяным паром

Перегонка с водяным паром в химико-токсикологическом анализе используется для выделения ядовитых веществ из различных объектов (рвотные массы, пищевые продукты, внутренние органы). Этот метод может использоваться для изолирования веществ как с низкой, так и с высокой температурой кипения.

В этом методе необходимо рассмотреть два случая: перегонка с водяным паром веществ, не смешивающихся с водой, и перегонка веществ, смешивающихся с водой.

В первом случае общее давление насыщенных паров равно сумме парциальных давлений каждого компонента:

$$P_0 = P_1 + P_2.$$

Парциальные давления воды и второго компонента не зависят друг от друга. Когда общее давление паров превышает атмосферное, начинается кипение смеси и интенсивное испарение обеих жидкостей. Температура кипения такой смеси ниже, чем температура кипения каждого компонента. Это является положительным моментом при перегонке веществ с высокой температурой кипения. В качестве примеров таких веществ можно назвать бензол, толуол, нитробензол, дихлорэтан, бутанол и др.

С помощью перегонки с водяным паром удастся избежать слишком высоких температур, при которых некоторые вещества могут разлагаться. Например, тетраэтилсвинец разлагается при температуре выше 100°C. Его температура кипения равна 200°C, при которой он практически весь разлагается. При перегонке с водяным паром удастся изолировать неразложившийся тетраэтилсвинец.

Перегонка с водяным паром используется для выделения из биологического материала жидкостей, которые с водой образуют растворы. Температура кипения таких смесей зависит от их состава. Чем больше жидкости с более низкой температурой кипения, тем ниже температура кипения смеси. Температура кипения смеси не может быть ниже той, при которой кипит более низкокипящая жидкость. Это наблюдается во всех случаях, когда две жидкости не образуют азеотропных смесей. Однако известно около 10 000 систем, которые образуют азеотропные смеси. Это примерно половина всех изученных смесей. На кривых зависимости температуры кипения смеси от состава наблюдается максимум или минимум в точке, соответствующей азеотропной смеси. Среди двойных систем с азеотропными смесями примерно 93% приходится на системы с минимумом на кривой зависимости температуры от состава. Температура кипения азеотропной смеси ниже, чем любого компонента в отдельности.

В качестве примеров можно привести следующие смеси. Азеотропная смесь анилина (t° кипения $184,25^\circ\text{C}$) и воды (t° кипения 100°C) в соотношении 19,2% и 81,8% кипит при температуре $75,0^\circ\text{C}$. Азеотропная смесь толуола (t° кипения $110,7^\circ\text{C}$) и воды (t° кипения 100°C) в соотношении 81,4% и 19,6% кипит при температуре $84,1^\circ\text{C}$.

Однако встречаются азеотропные смеси, температура кипения которых выше, чем температура кипения каждого компонента. Примером такой азеотропной смеси является раствор хлороводородной кислоты. Раствор, содержащий 20,24% хлористого водорода (t° кипения -85°C) и 79,76% воды (t° кипения 100°C), кипит при температуре $108,5^\circ\text{C}$.

Иногда, для улучшения перегонки с водяным паром некоторых веществ, добавляется третий компонент, который в токсикологической химии принято называть «селективным переносчиком». Сущность такого приема заключается в том, что третий компонент повышает общую упругость паров в системе и этим самым позволяет снизить температуру кипения в системе. Третий компонент может образовывать с одним из компонентов азеотропную смесь с пониженной температурой кипения. Так, при изолировании перегонкой с водяным паром этиленгликоля (t° кипения 197°C) в качестве «селективного переносчика» используют бензол. При этом температура перегонки снижается до 118°C . При перегонке уксусной кислоты (t° кипения 118°C) в присутствии гептана температура перегонки снижается до 80°C .

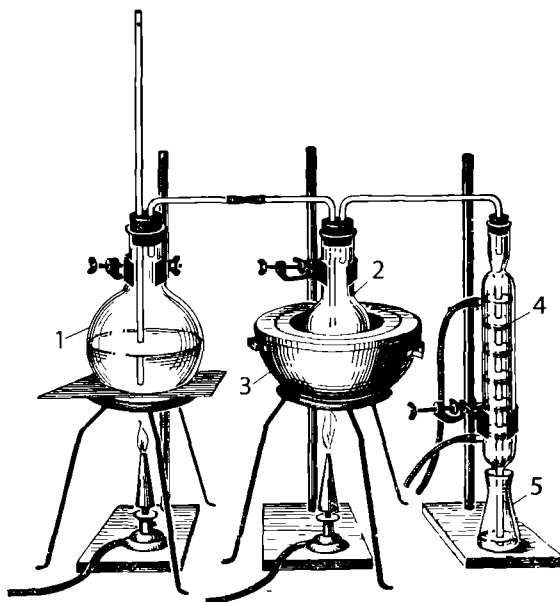


Рис. 6. Прибор для перегонки «летучих» ядов с водяным паром 1 – паробразователь, 2 – колба с исследуемым объектом; 3 – водяная баня, 4 – шариковый холодильник; 5 – приемник для сбора дистиллята.

Таким образом, в токсикологической химии используются такие условия, при которых «летучие» яды изолируются в процессе перегонки при более низких значениях температуры, чем температура кипения каждого индивидуального вещества. Это особенно важно, так как при высокой температуре исследуемый объект может подгорать, что иногда приводит к образованию некоторых ядовитых соединений (например, синильной кислоты) и к ложно-положительным результатам анализа.

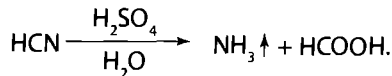
Перегонку с водяным паром проводят в специальном приборе, состоящем из нескольких частей (см. рис. 6)

Парообразователь (1) представляет собой колбу, в которую вставлена пароотводная трубка и трубка-пеносгаситель. Колба для объекта исследования (2) помещается в нагретую водяную баню (3) для предотвращения конденсации горячего пара. В шариковый холодильник (4) противотоком подается холодная вода. Колба (5) служит приемником для дистиллята. Обычно используют несколько приемников поочередно для сбора веществ разной степени летучести.

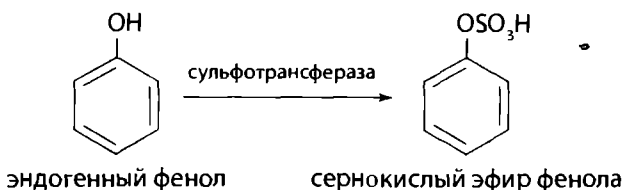
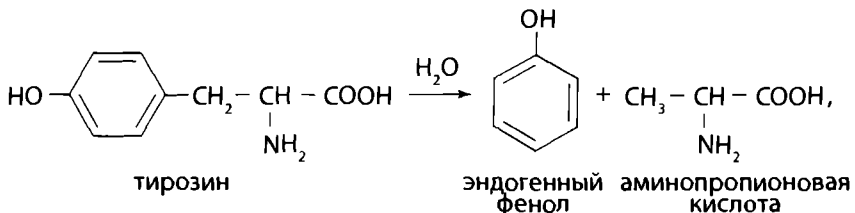
Методика проведения перегонки с водяным паром

Навеску объекта тщательно измельчают, смешивают с водой до густоты кашицы и помещают в колбу для перегонки. Соединяют колбу с приемником через холодильник. Конец холодильника опускают в жидкость, которая находится в приемнике при сборе первой порции дистиллята. С другой стороны присоединяют к колбе парообразователь. Парообразующую трубку погружают в кашицеобразную массу объекта в колбе почти до дна. Все соединения должны быть герметичны. Парообразователь с водой предварительно нагревают для выделения «сухого» пара.

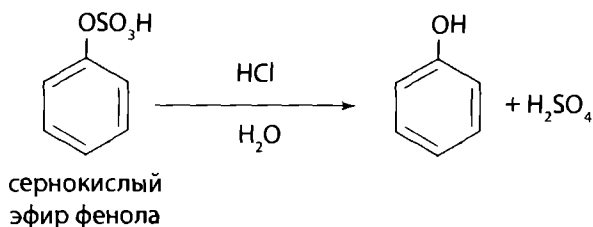
Объект подкисляется до $\text{pH}=2-2,5$ раствором щавелевой кислоты. Подкисление необходимо, так как вещества кислотного характера перегоняются из кислой среды (например, фенол, синильная кислота). Применение для подкисления объекта минеральных кислот нежелательно, так как под влиянием минеральных кислот синильная кислота и ее соли разлагаются:



Кроме того, при подкислении объекта минеральными кислотами фенол, поступивший в организм извне и вызвавший отравление, а также фенол, образовавшийся в кишечнике при разложении белковых молекул, будут одновременно перегоняться с водяным паром:



при подкислении минеральной кислотой:

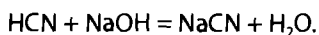


Если объект подкислен щавелевой кислотой, сернокислый эфир не гидролизуеться и перегоняться будет только экзогенный фенол, который вызвал отравление.

При специальном исследовании объекта на уксусную кислоту подкисление проводят фосфорной или серной кислотами.

Сбор дистиллята

1-ю порцию дистиллята в количестве 3 мл собирают в 2 мл 5% раствора гидроксида натрия. Исследованиями И.В. Герасимова показано, что для сбора 1-й порции дистиллята лучше использовать в качестве поглощающего раствора смесь 2% растворов карбоната и гидрокарбоната натрия (1:1). При этом синильная кислота переходит в ее соль, и, таким образом, предотвращается ее потеря за счет высокой летучести:



Весь объем первой порции дистиллята исследуют только на синильную кислоту.

2-ю порцию дистиллята отгоняют в объеме 25–50 мл. Она содержит вещества средней степени летучести (спирты, ацетон, алкилгалогениды и др.).

3-ю порцию дистиллята также собирают в объеме 25–50 мл. В ней содержатся труднолетучие вещества (формальдегид, этиленгликоль и др.).

В процессе изолирования по внешнему виду дистиллята, его запаху можно предположить присутствие некоторых веществ, особенно, если их количество в дистилляте более 1 г (редко встречается в практике химико-токсикологического анализа). Так, можно обнаружить маслянистые капли на поверхности дистиллята и ощутить характерный раздражающий запах сивушного масла (амиловые спирты), можно обнаружить тяжелые капли на дне дистиллята и ощутить характерный сладковатый запах при отравлении хлороформом, дихлорэтаном, четыреххлористым углеродом. Присутствие в дистилляте фенола придает ему характерный запах карболовой кислоты, молочновидное помутнение, и могут появиться розоватые капли на дне приемника за счет продуктов окисления фенола.

Поскольку некоторые «летучие» яды малорастворимы в воде, их после дистилляции извлекают органическим растворителем – диэтиловым эфиром или хлороформом. Так, перед обнаружением амиловых спиртов дистиллят экстрагируют диэтиловым эфиром и после его испарения с остатком проводят реакции на амиловые спирты. Для извлечения фенола из дистиллята вначале добавляют гидрокарбонат натрия, который связывает летучие кислоты, а затем экстрагируют диэтиловым эфиром непрореагировавший с гидрокарбонатом фенол.

Выделение некоторых алкалоидов перегонкой с водяным паром

Метод используется для изолирования в виде оснований жидких алкалоидов – анабазина, никотина, пахикарпина. Измельченный и смешанный до кашицеобразной массы с водой объект подщелачивают 20% раствором карбоната натрия и подвергают перегонке с водяным паром. Дистиллят собирают в 5% раствор хлороводородной кислоты, который по окончании перегонки подщелачивают раствором аммиака до pH=9–10 и алкалоиды-основания экстрагируют органическим растворителем (хлороформом).

6.6.2. Методы «микрперегонки» и микродиффузии

Метод «микрперегонки» состоит в образовании парогазовой фазы без дальнейшей ее конденсации. В герметически закрытый флакон помещают 1–5 г биологического объекта, добавляют сильный электролит и подогревают. Через некоторое время равновесная парогазовая фаза отбирается микрошприцем и используется для анализа с помощью газожидкостной хроматографии. Метод не позволяет получить полноту отгонки вещества. Он предложен для определения легколетучих спиртов, которые обнаруживаются этим методом за счет их низкой температуры испарения.

Метод микродиффузии используется при целенаправленном анализе. С помощью этого метода можно обнаружить «летучие» яды, содержащиеся в небольших количествах в исследуемом объекте. Для ускорения перехода отдельных веществ из объекта в пространство прибора используют электролиты. Например, прибавление насыщенного раствора карбоната калия к крови, моче, гомогенату тканей, содержащих этиловый спирт, ускоряет его переход в пространство прибора, для других соединений добавляют кислоты, щелочи и др.

Прибор для микродиффузии (рис. 7) состоит из круглого тонкостенного сосуда (1), внутри которого расположен второй сосуд меньшего диаметра (2). Большой сосуд закрывается герметично пришлифованной крышкой (5). Исследуемый объект в количестве до 1 г (1 мл) вносят в круглый тонкостенный сосуд большего диаметра (1), а поглощающую жидкость – в сосуд меньшего размера (2). К объекту добавляют электролит, сосуд плотно закрывают крышкой и оставляют на определенное время, необходимое для диффузии вещества. Летучие вещества из объекта переходят в пространство прибора, а затем в поглотительный раствор сосуда меньшего диаметра. В качестве поглощающей жидкости используют соответствующий растворитель или раствор реактивов, способных реагировать с обнаруживаемым веществом. Время диффузии при анализе биологических жидкостей (крови, мочи) составляет 3–4 ч, гомогената тканей – 5–12 ч.

Для формальдегида, ацетона, альдегида уксусной кислоты в качестве поглотительных растворов используют 0,15 М раствор гидросульфита или сульфита натрия; для метилового спирта – 10% раствор серной кислоты; для этилового спирта – раствор дихромата калия в серной кислоте; для сульфидов, уксусной кислоты, фенола и цианидов – 0,1 М раствор гидроксида натрия; для оксида углерода(II) – 0,1% раствор хлорида палладия в 0,1 М растворе хлороводородной кислоты.

По окончании времени, необходимого для проведения анализа, с полученной поглощающей жидкостью из сосуда с меньшим диаметром проводят соответствующие реакции. Формальдегид обнаруживают по образованию розового или фиолетового окрашивания с хромотроповой кислотой; ацетон – по реакции с салициловым альдегидом (красное окрашивание); сульфиды – по реакции с солями висмута (осадок коричневого цвета); цианиды – по реакции образования полиметинового красителя; оксид углерода(II) – по образованию серебристой пленки металлического палладия и т. п.

Оценка метода. Метод дистилляции отличается простотой и экономичностью. При дистилляции получают чистые извлечения-дистилляты. Метод микрперегонки используется только для обнаружения веществ. Метод микродиффузии является предварительным, ему можно придать судебно-химическое значение при отрицательном результате.

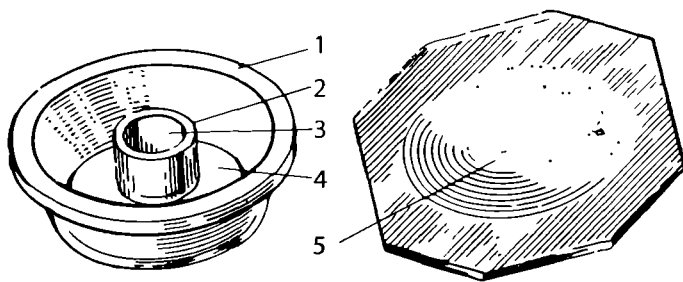


Рис. 7. Прибор для проведения микродиффузии 1 – наружный сосуд, 2 – внутренний сосуд; 3 – внутренняя круговая камера; 4 – наружная кольцевая камера; 5 – крышка к прибору с пришлифованной поверхностью

Глава 7. МЕТОДЫ ОБНАРУЖЕНИЯ ЯДОВИТЫХ ВЕЩЕСТВ В ИЗВЛЕЧЕНИЯХ ИЗ ОБЪЕКТОВ

Обнаружение ядовитых, сильнодействующих и наркотических веществ после их изолирования из биологических объектов является следующим этапом химико-токсикологического исследования.

Несмотря на большое число реакций и методов качественного анализа, используемых в аналитической и фармацевтической химии, требуются некоторые особые подходы для их использования в токсикологической химии. Это объясняется особенностями объектов исследования, возможными примесями и требованиями к достоверности результатов.

Химик-токсиколог для обнаружения в объекте какой-либо группы веществ или определенного вещества обязан использовать только те реакции и методы, которые апробированы на биологических объектах, рекомендованы для целей химико-токсикологического анализа с учетом всех факторов, влияющих на получаемые результаты. Только в этом случае полученные данные могут быть объективными и застрахованными от возможных ошибок, среди которых могут быть ошибки, связанные с получением ложноположительных или ложноотрицательных результатов.

Ложноположительный результат – это заключение о наличии токсических, экзогенных веществ при анализе по определенной методике при фактическом их отсутствии. Это свидетельствует об использовании высокочувствительной, недостаточно специфичной методики и возможном отсутствии ее апробации на биологических объектах, особенно находящихся в стадии гнилостного разложения.

Если какое-либо вещество или его метаболит присутствуют в объекте в концентрации ниже предела их обнаружения, то возможно получение *ложноотрицательных результатов*. Причиной этого чаще всего выступает фактор времени, т.е. интервал времени между контактом ядовитого вещества с организмом человека или животного и временем взятия и направления объекта на анализ. В этом случае даже правильно выбранная методика с высокой чувствительностью может дать отрицательный результат.

Для обнаружения токсических соединений в биологических объектах в настоящее время применяются различные химические реакции, физические, физико-химические, биологические (фармакологические) и другие методы. *Среди них выделяют методы и реакции предварительного анализа и методы и реакции подтверждающего исследования.*

Использование предварительного анализа или предварительных химических реакций преследует цель обнаружить или исключить из анализа группу веществ или какое-либо индивидуальное вещество. Таким реакциям или методам придают «судебно-химическое значение при отрицательном результате». Это означает, что если при использовании данного метода или реакции вещество или группа веществ не обнаружены, дальнейший анализ на эти соединения не проводят и в заключении указывают, что данное вещество или группа веществ в исследуемом объекте не найдены.

Предварительные реакции и методы должны быть чувствительными, но обязательно специфичными. Среди них – скрининговые методы (ТСХ, ГЖХ – скрининг, иммунохимические методы) и реакции, которые оцениваются как имеющие значение при

отрицательном результате: групповые реакции осаждения, хромогенные реакции и др. Эти способы и реакции должны быть обязательно подтверждены химическими и физико-химическими методами.

Предварительные реакции и методы, как правило, не позволяют определить индивидуальные вещества. Это требует проведения дополнительных исследований. В токсикологической химии такие исследования называют подтверждающим анализом, подтверждающими (частными) реакциями или частным внутригрупповым скринингом. Среди них методы ВЭЖХ, ГЖХ, ТСХ, УФ- и ИК-спектрометрия, спектрофотометрия в УФ области спектра, масс-спектрометрия, хроматомасс-спектрометрия, люминесцентный анализ, аналитические реакции разных типов (кислотно-основные, окислительно-восстановительные, комплексобразования), микрорентгоскопический метод, фармакогностический анализ, фармакологические пробы, а также процессы осаждения, экстракции и др.

Подтверждающие методы по чувствительности обычно выше или равны предварительным методам исследования. Это позволяет снизить возможность получения ложноотрицательных результатов. По специфичности подтверждающие методы обычно превосходят предварительные, что снижает количество ложноположительных результатов.

При проведении химико-токсикологического анализа с использованием химического метода необходимо учитывать следующие обстоятельства.

Любое чужеродное вещество в организме частично или полностью подвергается метаболизму, и поэтому его можно не обнаружить известными реакциями.

В процессе изолирования ядовитые вещества извлекаются не полностью и могут быть частично потеряны, поэтому используемые реакции должны отличаться высокой чувствительностью.

Объекты, присылаемые на анализ, могут находиться в состоянии гнилостного разложения. Продукты разложения (птомаины) обычно извлекаются из объекта вместе с исследуемым веществом и могут исказить результаты анализа. Поэтому при анализе таких объектов использование химических реакций возможно после тщательной очистки извлечений.

При комбинированных отравлениях (например, этиловым спиртом и его суррогатами) применение характерных реакций затруднено присутствием близких по химическим свойствам соединений. В этих случаях предусмотрено строгое соблюдение условий воспроизведения реакций (окисления, температурного режима и т.д.), чтобы предотвратить обнаружение одних соединений (более ядовитых) вместо других. Например, при несоблюдении условий проведения реакции окисления можно переоткрыть метиловый спирт за счет этилового спирта.

Каждая используемая химическая реакция должна быть рекомендована в определенной модификации применительно к исследуемому объекту. Это особенно важно в тех случаях, когда проводят исследование объекта на «металлические» яды, поскольку многие из них являются микроэлементами и могут быть обнаружены в извлечениях. В таблице 5 даны пределы содержания токсикологически важных элементов в печени и почках – объектах, которые рекомендуются для анализа при подозрении на отравление «металлическими» ядами и содержат наибольшее количество микроэлементов.

В связи с варьированием содержания элементов в тканях, для количественного определения металлов в минерализате для каждого катиона предложены не менее двух методов, которые позволяют определять их в широких пределах концентраций.

По схеме дробного метода анализа предусматривается разбавление минерализата до концентраций, когда естественно содержащийся микроэлемент не может быть обнаружен, а концентрация попавшего в организм элемента останется достаточной для его обнаружения. При проведении реакций к минерализату добавляют определенный объем воды очищенной, а затем вносят соответствующие реактивы. Приведенные в таблице 6 разведения позволяют исключить обнаружение микроэлементов и одновременно снизить кислотность минерализата.

Таблица 5

**Пределы содержания некоторых элементов в тканях организма человека
(по данным А.Н.Крыловой)**

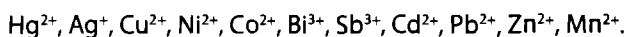
Название элемента	Границы естественного содержания, мг на 100 г органа	
	Печень	Почки
Ртуть	0–0,01	0–0,04
Свинец	0,13	0,027
Марганец	0,13–0,40	0,06–0,28
Хром	0,001–0,013	0,028–0,029
Серебро	0,005	—
Медь	0,56–1,12	0,26–0,40
Мышьяк	0,01–0,07	0,01–0,08
Кадмий	0,64–6,68	1,32–8,48
Цинк	2,73–6,71	1,76–6,16
Барий	Незначительные количества	
Висмут	Следы	
Сурьма	Не обнаружена	
Таллий	Не обнаружен	
Железо	До 200	
Кальций	До 100	
Натрий	Значительные количества	
Калий	Значительные количества	
Фосфаты	Значительные количества	
Хлориды	Небольшие количества	

Таблица 6

Разбавление минерализата при анализе его на «металлические» яды

Название элемента	Объем минерализата, мл	Объем воды очищенной, мл	Граница обнаружения, мг/100 г
Марганец	1,0	1,0	0,04
Хром	6,0	1,0	0,10
Серебро	5,0	—	0,05
Медь	10,0	—	0,40
Кадмий	10,0	—	2,00
Сурьма	1,0	10	0,10
Висмут	10,0	10	0,10
Цинк	0,5	10	5,00
Мышьяк	2,0	20	0,01

При анализе минерализата на «металлические» яды применяется избирательная экстракция в виде диэтилдитиокарбаматов с целью выделения меди, висмута, цинка и кадмия в органическую фазу, свободную от мешающих ионов. Специфичность экстракционных методик выделения этих катионов достигнута за счет использования правила ряда диэтилдитиокарбаматов металлов:



Согласно этому ряду каждый предыдущий металл вытесняет последующий из его соли с диэтилдитиокарбаминовой кислотой.

Таблица 7

Маскировка некоторых мешающих ионов в химических реакциях на исследуемые металлы

Используемые ионы	Комплексное соединение
Цианиды	$[\text{Me}^n(\text{CN})_m]^{(m-n)}$ Co ²⁺ , Zn ²⁺ , Fe ³⁺ , Cd ²⁺ , Fe ²⁺ , Hg ²⁺ , Ag ⁺
Фториды	$[\text{FeF}_6]^{-1}$
Фосфаты	$[\text{Fe}(\text{PO}_4)_2]^{-1}$
Тиосульфаты	$[\text{Me}^n(\text{S}_2\text{O}_3)_m]^{-(2m-n)}$ Ag ⁺ , Pb ²⁺ , Fe ²⁺ , Bi ³⁺ , Fe ³⁺ , Sb ³⁺ , Cd ²⁺ , Hg ²⁺
Тиомочевина	$[\text{Me}^n(\text{S}=\text{C}(\text{NH}_2)_2)_m]^{n-}$ Bi ³⁺ , Fe ³⁺ , Sb ³⁺ , Cd ²⁺ , Hg ²⁺ , Ag ⁺ и др

Селективная экстракция с дитизином используется для обнаружения ионов свинца, серебра, таллия, цинка, которые при определенном значении pH среды образуют окрашенные дитизонаты.

Для исключения влияния других ионов на результаты реакций при анализе минерализата используют прием маскировки мешающих ионов (табл. 7). С этой целью используют цианиды, фториды, фосфаты, тиосульфаты, тиомочевину, гидроксилламин, аскорбиновую кислоту, комплексон III (трилон Б) и др. Мешающие ионы образуют с этими веществами комплексные соединения и не влияют на результаты реакций, проводимых на исследуемые элементы.

Абсолютно специфичных реакций очень мало. По правилам проведения химикотоксикологического анализа для заключения об обнаружении в извлечении из объекта ядовитого соединения необходимо провести не менее 3–4 характерных для данного вещества реакций. Например, чтобы сделать вывод об обнаружении в дистилляте этилового спирта, необходимо, чтобы три реакции дали положительный результат: образование йодоформа, окисление спирта до уксусного альдегида и образование эфира с уксусной кислотой (этилацетата).

Результаты некоторых химических реакций оцениваются как «реакции *Corpus delicti*». Это реакции, продукты взаимодействия которых можно представить вместе с заключением об отравлении как неоспоримое доказательство обнаружения в объекте данного вещества. К числу таких реакций относятся: реакция образования берлинской лазури, результат обнаружения мышьяка в аппарате Марша, реакция образования «серебряного зеркала» и др. Полученный синий осадок берлинской лазури запаивают в небольшую пробирку или ампулу и представляют судебно-следственным органам для обоснованности заключения об обнаружении в объекте синильной кислоты. Восстановительная трубка аппарата Марша и микрофотографии налета на ней, имеющего характерную форму кристаллов в виде октаэдров, – убедительное доказательство обнаружения мышьяка в исследуемом объекте.

Для увеличения избирательности некоторых реакций и повышения их чувствительности иногда рекомендуется предварительное выделение ядовитого вещества из исследуемого раствора с использованием экстракции и реэкстракции. Например, чтобы отделить изоамиловый спирт от других «летучих» ядов и воды, его из дистиллята извлекают диэтиловым эфиром, эфир испаряют и в остатке обнаруживают изоамиловый спирт соответствующими реакциями. Фенол выделяют из дистиллята, подщелоченного гидрокарбонатом натрия, также путем экстракции диэтиловым эфиром, что позволяет повысить избирательность и чувствительность реакций на него.

При химическом анализе на любое чужеродное соединение эксперт должен руководствоваться специально изданными и утвержденными методиками и соответствующими методическими указаниями.

Комплексное использование различных методов предварительного и подтверждающего анализов позволяет надежно диагностировать причину отравления или болезненного состояния организма.

Обнаружение ядовитых веществ и их метаболитов в процессе предварительного и подтверждающего химико-токсикологического анализа не дает однозначного ответа о количестве яда, попавшего в организм, времени его приема, фазах распределения. Результаты количественного определения найденного токсического соединения позволяют выбрать способ детоксикации и лечения пострадавшего при остром и хроническом отравлении.

Выбор метода количественного определения ядовитого вещества в извлечении из объекта зависит:

- от предполагаемой концентрации токсического вещества по результатам предварительного и основного (подтверждающего) исследования;
- от степени «свежести» объекта и наличия в извлечении продуктов разложения белковых молекул;
- от времени, прошедшего от момента попадания яда в организм и до начала анализа;
- от степени «чистоты» извлечения и наличия фона эндогенных соединений;
- от способности токсического вещества и его метаболитов накапливаться в определенных органах и тканях;
- от последствий отравления. В случае смертельного исхода чувствительность методик должна быть 10^{-3} – 10^{-7} г/мл. При наркотическом опьянении, затяжном отравлении или после проведенных детоксикационных мероприятий – 10^{-8} – 10^{-13} г/мл.

7.1. Методы предварительного анализа

7.1.1. Понятие об аналитическом скрининге в химико-токсикологическом анализе

Многообразие лекарственных, наркотических, ядовитых веществ, которые могут быть причиной отравлений, требует проведения предварительного отсеивающего исследования. В токсикологической химии такие исследования принято называть аналитическим скринингом. Скрининг (screening) в переводе с английского означает «просеивание», «отбор», «сортировка».

Аналитический скрининг – это система методических приемов, позволяющих в ходе исследовательских операций исключить («отсеять») или определить группы веществ (индивидуальные соединения) на этапе предварительного исследования.

Это позволяет построить дальнейший анализ в нужном направлении.

Аналитический скрининг является эффективным при его соответствии определенным требованиям:

- специфичность (чаще групповая);
- высокая чувствительность;
- экспрессность;
- точность и воспроизводимость;
- возможность сочетания с другими методами анализа.

Скрининг используется при анализе многокомпонентных смесей, а в случае ненаправленного анализа – при исследовании извлечения из биологического объекта на неизвестное токсическое вещество.

В настоящее время понятие скрининга в токсикологической химии значительно шире.

Скрининг – это поэтапное движение к выявлению индивидуального вещества путем последовательного исключения групп ядовитых веществ, а затем отсеивания веществ в обнаруженной группе до выявления конкретного соединения.

Из современных скрининговых методов в практике химико-токсикологического анализа нашла широкое применение хроматография в тонких слоях сорбента (ТСХ) в нормально-фазовом и обращенно-фазовом вариантах. Этот метод доступен, прост в вы-

полнении, отличается высокой чувствительностью, эффективностью, экспрессностью и достаточной специфичностью (избирательностью).

ГЖХ-скрининг используется, в основном, при анализе летучих, лекарственных и наркотических веществ.

Не потерял своего значения аналитический скрининг с использованием различных химических реакций.

Имеются разработки по использованию в качестве скрининговых методов высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), абсорбционной спектроскопии, иммунохимических методов, спектроскопии ядерного магнитного резонанса.

При использовании этих методов необходима тщательная очистка извлечений от эндогенных соединений, способных исказить результаты анализа и засорить колонки хроматографов.

7.1.2. ТСХ-скрининг в нормально-фазовом варианте

Метод используется в химико-токсикологическом анализе при исследовании веществ, изолируемых из объекта экстракцией и сорбцией (лекарственные, наркотические вещества, пестициды).

Неподвижной фазой в ТСХ служит тонкий слой сорбента (0,1–0,5 мм), содержащий небольшое количество воды и нанесенный на пластинку (из стекла, фольги или полимера).

Сорбентом чаще всего является силикагель или оксид алюминия, которые закрепляются на пластинке добавлением связующего компонента – гипса, крахмала и др.

В качестве подвижной фазы (элюента, системы растворителей) предложены индивидуальные растворители или их смеси в определенных соотношениях. При движении элюента за счет капиллярных сил вверх по пластинке происходит разделение смеси веществ. Эффективность разделения зависит от сродства вещества к сорбенту и определяется коэффициентом распределения его между обеими фазами – подвижной и неподвижной.

Чтобы обнаружить вещество на пластинке, используют различные способы детектирования:

- визуальный, если само вещество окрашено;
- облучение пластинки УФ-лучами, при этом вещество может флуоресцировать или давать темные пятна;
- обработка пластинки соответствующими реагентами-проявителями, которые способны образовать с веществом окрашенные соединения.

Для идентификации вещества используют величину R_f – отношение длины пробега анализируемого вещества к длине пробега растворителя (рис. 8). После хроматографирования измеряют расстояние от центра пятна до стартовой линии (отрезок АБ) и от линии фронта жидкости до стартовой точки (отрезок АВ). Отношение отрезков АБ к АВ обозначают величиной R_f :

$$R_f = \frac{АБ}{АВ}$$

Величина R_f характерна для данного соединения на данном сорбенте в данной системе растворителей. Она зависит от качества и активности сорбента, толщины слоя, природы растворителей и их соотношения, а поэтому не всегда воспроизводима.

Более надежной оценкой хроматографической подвижности вещества является величина R_s . Для ее определения находят величину R_f исследуемого вещества и R_f вещества, принятого за стандарт. Их отношение малочувствительно к влиянию случайных отклонений в условиях эксперимента:

$$R_s = \frac{R_f \text{ вещества}}{R_f \text{ стандарта}}$$

Поэтому R_s – более воспроизводимая и относительно постоянная величина.

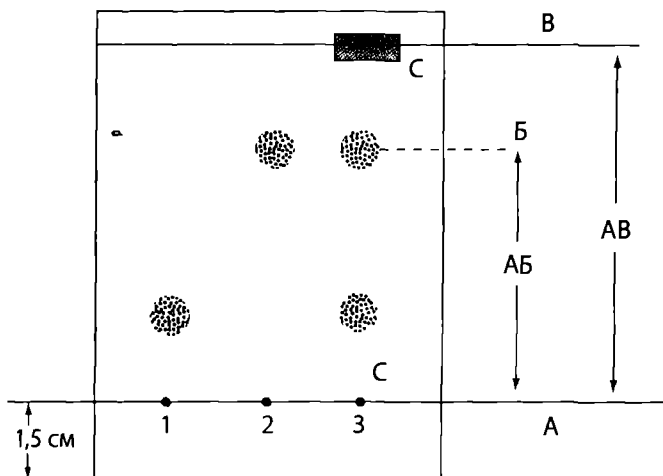


Рис. 8. Схема разделения смеси веществ с помощью ТСХ. А – линия старта, Б – центр пятна; В – линия фронта растворителя; 1, 2 – места нанесения стандартных растворов; 3 – место нанесения объекта; извлечения из биологического объекта, С – места расположения примеси эндогенных соединений.

Общий ТСХ-скрининг в нормально-фазовом варианте был разработан на кафедре токсикологической химии ММА им. И.М.Сеченова для систематического судебно-химического анализа биологических объектов на лекарственные и наркотические вещества, включенные по Приказу МЗ СССР №1021 в обязательный круг исследования эксперта в случае ненаправленного анализа. Этот метод применим для веществ кислотного, нейтрального, слабоосновного и основного характера. ТСХ-скрининг предполагает разделение веществ в общих системах растворителей на хроматографические зоны с последующим исследованием каждой зоны, в которой были обнаружены те или иные соединения с использованием частных систем растворителей.

Как мы уже отмечали ранее, лекарственные и наркотические вещества из биологических объектов изолируются путем настаивания с подкисленным спиртом (методы Стаса-Отто, Саломатина), нейтральным ацетоном (метод Карташова), подкисленной водой (методы Васильевой, Степанова-Швайковой, Поповой, Крамаренко), подщелоченной водой (метод Валова). Из полученных извлечений (вытяжек) вещества кислотного, нейтрального и слабоосновного характера экстрагируются диэтиловым эфиром или хлороформом при $\text{pH}=2-2,5$, а вещества основного характера – при $\text{pH}=8-10$. Хлороформные (эфирные) экстракты упаривают до небольшого объема и исследуют.

Применительно к веществам, включенным в учебную программу по токсикологической химии, схему ТСХ-скрининга в общих системах растворителей можно представить следующим образом (по Б.Н.Изотову).

ТСХ-скрининг веществ кислотного, нейтрального и слабоосновного характера

Цель: выявить наличие токсикологически важных лекарственных веществ в извлечении и определить их принадлежность к определенной группе соединений.

Условия анализа: сорбент – закрепленный слой силикагеля. Система растворителей: хлороформ – ацетон (9:1). Время насыщения камеры парами системы – 15–20 мин. Длина пробега системы растворителей по пластинке – 10 см. На стартовую линию хроматографической пластинки наносят (см. рис. 9):

- полоса А – растворы стандартов (например, барбитала, антипирина);
- полоса Б – 1/25 часть эфирного экстракта, полученного из водного извлечения при $\text{pH}=2$;
- полоса В – стандарт (раствор циклобарбитала);
- полоса Г – 1/10 часть эфирного экстракта, полученного из водного извлечения при $\text{pH}=2$.

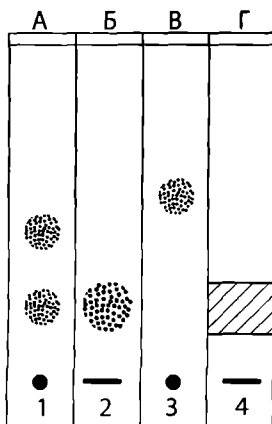


Рис. 9. ТСХ-скрининг веществ кислотного, нейтрального и слабо основного характера 1 – место нанесения стандартных растворов антипирина и барбитала; 2 – место нанесения 1/25 части эфирного экстракта из кислого раствора, 3 – место нанесения стандарта – раствора циклобарбитала, 4 – место нанесения 1/10 части эфирного экстракта

Реагенты-проявители для обнаружения веществ на пластинке:

- слой сорбента полос А, Б и В обрабатывают 5% раствором сульфата ртути(II) и 0,1% раствором дифенилкарбазона в хлороформе. Производные барбитуровой кислоты проявляются в виде фиолетовых пятен. Пластинку нагревают горячим феном (~50°C). Пятна обесцвечиваются;
- затем эти же полосы на пластинке обрабатывают 10% раствором хлорида железа(III). При этом проявляются производные пиразола, салициловой и бензойной кислот;
- при последующей обработке этих полос модифицированным реактивом Драгендорфа и 10% раствором серной кислоты обнаруживаются вещества основного характера, такие как кофеин, производные 1,4-бензодиазепина и др. Обработка пластинки раствором серной кислоты повышает чувствительность реактива Драгендорфа.

Все вещества кислотного, нейтрального и слабоосновного характера делятся на 3 хроматографические зоны в зависимости от значения величины R_f в указанной общей системе растворителей.

Зона 1 включает 2 вещества, имеющие значение R_f 0–0,25. В этой зоне обнаруживаются антипирин (R_f 0,19) и кофеин (R_f 0,25).

Зона 2 включает 7 веществ, имеющих значение R_f 0,31–0,41. В этой зоне обнаруживаются фенобарбитал (R_f 0,31), барбитал (R_f 0,32), нитразепам (R_f 0,35), барбитал (R_f 0,37), этаминал-натрий (R_f 0,37), бутобарбитал (R_f 0,41), циклобарбитал (R_f 0,41).

Зона 3 включает вещества, имеющие значение R_f 0,41–0,64. В этой зоне обнаруживается диазепам (R_f 0,62).

Полоса Г на пластинке используется для соскабливания сорбента (заштрихованная часть), элюирования веществ подходящим растворителем (1 зона – метанолом; 2 и 3 зоны – ацетоном) и последующего хроматографического исследования в частных системах растворителей, в которых все вещества обнаруженной группы соединений хорошо разделяются между собой.

ТСХ-скрининг в анализе веществ основного характера

Цель: выявить наличие в извлечении из объекта веществ, являющихся соединениями основного характера.

Условия анализа: сорбент – закрепленный слой силикагеля. Система растворителей: хлороформ – диоксан – ацетон – 25% раствор аммиака (45:47,5:5:2,5), время насыщения камеры парами системы – 15 мин. Пробег растворителя по пластинке – 10 см.

На стартовую линию хроматографической пластинки наносят (рис. 10):

- полоса А – растворы стандартов (например, атропина и новокаина);
- полоса Б – 1/25 часть хлороформного экстракта, полученного из водного извлечения при рН=8–10;

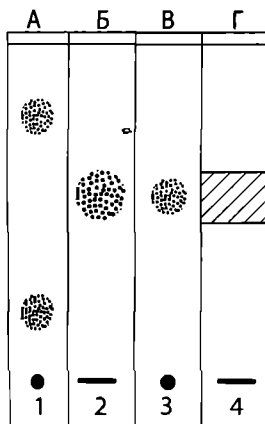


Рис. 10. ТСХ-скрининг веществ основного характера: 1 – место нанесения стандартных растворов, например, атропина и новокаина; 2 – место нанесения 1/25 части хлороформного экстракта из щелочного раствора; 3 – место нанесения стандартного раствора этаперазина; 4 – место нанесения 1/10 части хлороформного экстракта из щелочного раствора.

- полоса В – раствор стандарта этаперазина;
- полоса Г – 1/10 часть хлороформного экстракта, полученного из водного извлечения при $\text{pH}=8-10$.

Реагенты-проявители: слой сорбента полос А, Б, В (при закрытой полосе Г) последовательно обрабатывают:

- 10% раствором хлорида железа(III). Возможно обнаружение производных фенотиазина и пиразола;
- 5% раствором нитрита натрия, содержащим 3% хлорной кислоты. Обнаруживают ярко выраженные окрашенные пятна производных фенотиазина;
- 10% раствором серной кислоты и просматривают в УФ-лучах. Возможно обнаружение хинина по голубой флуоресценции;
- модифицированным реактивом Драгендорфа. Вещества основного характера проявляются в виде оранжевых пятен на бледно-желтом фоне.

Соединения основного характера делятся на пластинке на 4 хроматографические зоны, в зависимости от значения R_f .

Зона 1 включает 8 веществ со значением R_f 0,12–0,36. В этой зоне обнаруживаются пахикарпин (R_f 0,12), морфин (R_f 0,14), атропин (R_f 0,15), эфедрин (R_f 0,18), хинин (R_f 0,25), стрихнин (R_f 0,25), кодеин (R_f 0,28), этилморфин (R_f 0,31).

Зона 2 включает 3 вещества со значением R_f 0,5–0,58. В этой зоне обнаруживаются этаперазин (R_f 0,51), антипирин (R_f 0,54), кофеин (R_f 0,56).

Зона 3 включает 7 веществ со значением R_f 0,63–0,83. В этой зоне обнаруживаются хлордиазепоксид (R_f 0,63), дипразин (R_f 0,66), новокаин (R_f 0,7), тиоридазин (R_f 0,72), аминазин (R_f 0,75), промедол (R_f 0,76), нитразепам (R_f 0,77).

Зона 4 включает 4 вещества со значением R_f 0,87–0,98. В этой зоне обнаруживаются левомепромазин (R_f 0,87), папаверин (R_f 0,91), diaзепам (R_f 0,95), кокаин (R_f 0,98).

Полосу Г (заштрихованная часть) соскабливают, элюируют соответствующим растворителем, для хроматографической зоны 1 применяют метанол – диэтиламин (9:1), для 2, 3, 4 хроматографических зон – метанол – 25% раствор аммиака (9:1). Затем проводят исследование полученных элюатов в частных системах растворителей, в которых вещества данной зоны хорошо разделяются.

Если ни в одной из зон ни с одним из реактивов пятна на пластинках не обнаружены, делают заключение о ненахождении в объекте исследуемых веществ. При обнаружении пятна в какой-либо из зон проводят основное исследование с использованием подтверждающих реакций и методов.

При экспресс-анализе острых отравлений наркотическими и психотропными веществами ТСХ-скрининг проводят на двух пластинках в двух системах растворителей:

1) толуол – ацетон – этанол – 25% раствор аммиака в соотношении компонентов 45:45:7,5:2,5;

2) диоксан – хлороформ – ацетон – 25% раствор аммиака в соотношении компонентов 47,5:45:5:2,5.

На обе пластинки «Силуфол УФ-254» наносят аликвоты извлечений из объекта и стандартные растворы морфина, кокаина, кодеина, аминазина, димедрола, амитриптилина и помещают в указанные системы растворителей. Когда системы растворителей достигают высоты 10 см, пластинки вынимают и, после высушивания, просматривают в УФ-свете. Отмечают пятна стандартных веществ и на том же уровне пятна, полученные из вытяжки (извлечения из объекта). Дополнительно на эти зоны наносят капельно реактивы на предполагаемые вещества.

Например:

- смесь серной кислоты и этанола (1:9) для производных фенотиазина;
- реактив Марки для опиатов;
- концентрированную серную кислоту для димедрола и т.д.

Хроматографирование в двух системах растворителей разной полярности позволяет достаточно надежно провести групповое, а в ряде случаев индивидуальное обнаружение наркотических и психотропных веществ.

ТСХ-скрининг токсических веществ кислотного и основного характера по методу В.А.Карташова

Исследование проводят на специально приготовленных хроматографических пластинках по следующей методике. К 3 г силикагеля марки КСК добавляют 0,2 г гипса и 7,5 мл воды для веществ кислотного характера или 0,025 М раствора гидроксида калия для веществ основного характера. Смесь перемешивают в ступке до однородной массы, наносят на обезжиренную стеклянную пластинку размером 9×12 см, подсушивают и активируют при 120°C 30 мин.

Вещества кислотного характера

Сухой остаток, полученный при изолировании по методу В.А.Карташова и содержащий вещества кислотного характера, растворяют в небольшом объеме хлороформа и количественно наносят на стартовую линию хроматографической пластинки (рис. 11). По краям стартовой линии наносят хлороформные растворы «стандартов» (дифенин и тиопентал).

Условия анализа. Система растворителей: ацетон – н-гексан – диэтиламин (10:10:1). После высушивания пластинку обрабатывают раствором сульфата ртути. Вещества кислотного характера проявляются в виде полосы, а «стандарты» – в виде пятен белого цвета.

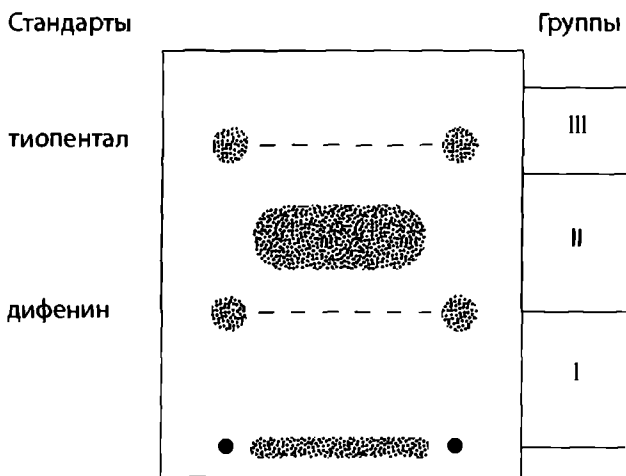


Рис. 11. ТСХ-скрининг при анализе веществ кислотного характера

Таблица 8

Хроматографические группы веществ кислотного характера

1 группа	2 группа	3 группа
Ацетилсалициловая кислота Салициловая кислота Бензойная кислота Фенобарбитал	Барбитал Барбитал Этаминал-натрий Дифенин	Ноксирон Тиопентал Мепробамат

Таблица 9

Распределение веществ по хроматографическим группам

1 группа 22 вещества	2 группа 16 веществ	3 группа 7 веществ	4 группа 18 веществ	5 группа 12 веществ	6 группа 5 веществ
Анабазин Морфин Атропин Пахикарпин Бруцин Стрихнин Кониин Хинин и др.	Аминазин Новокаинамид Промедол Димедрол Тиоридазин Дипразин Кодеин Этилморфин и др.	Дикаин Скополамин и др.	Феназон Новокаин Тизерцин Кокаин Элениум и др.	Папаверин Феназепам Мезапам Нитразепам Оксазепам и др.	Эфедрин Седуксен Резерпин и др.

По полученным данным вещество относят к одной из трех хроматографических групп (табл. 8).

Зону силикагеля, содержащую исследуемое вещество, соскабливают, элюируют хлороформом, который далее исследуют с помощью частных реакций и физико-химических методов.

Вещества основного характера

К экстракту из щелочного раствора, полученного при изолировании по методу В.А.Карташова, добавляют 2 капли 10% спиртового раствора хлороводородной кислоты и выпаривают при 40°C досуха. Остаток растворяют в небольшом объеме хлороформа, насыщенного аммиаком, и наносят в виде полосы на стартовую линию хроматографической пластинки (рис. 12). Справа и слева в две точки на линию старта наносят смесь из 5 «стандартов»: кодеина, дикаина, новокаина, амидопирин и седуксена.

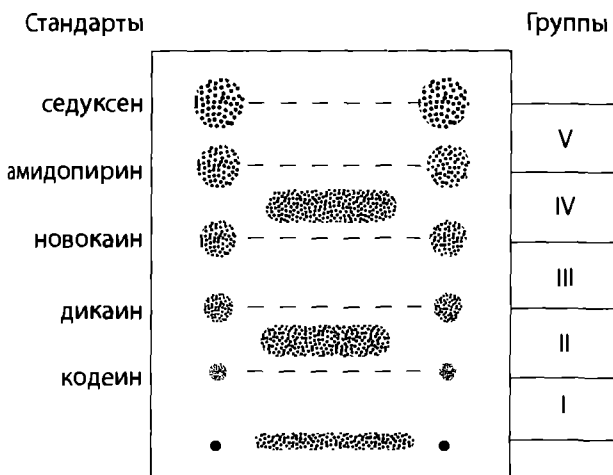


Рис. 12. ТСХ-скрининг при анализе веществ основного характера.

Условия анализа. Подвижная фаза – ацетон. После высушивания пластинку рассматривают в УФ-лучах (светофильтры 254 и 360 нм), отмечают флуоресцирующие зоны, затем обрабатывают реактивом Драгендорфа. «Стандарты» образуют на пластинке пятна оранжевого цвета, и пластинка делится на 6 зон. Исследуемое вещество, проявляющееся на пластинке в виде окрашенной полосы, попадает в одну из шести хроматографических групп (см. табл. 9).

Если ни в одной из зон не обнаруживаются полосы оранжевого цвета, делают заключение, что в исследуемом объекте вещества основного характера отсутствуют. Если обнаружено пятно, окрашенную зону снимают с пластинки, добавляют гидроксид натрия и экстрагируют диэтиловым эфиром. Эфир испаряют и проводят основное исследование на вещества, относящиеся к определенной группе, используя частные химические реакции и различные физико-химические методы.

7.1.3. ТСХ-скрининг в варианте «Toxi-Lab AB»

В этом варианте модифицирован классический метод тонкослойной хроматографии. Это специально разработанная аналитическая система, которая предназначена для исследования одной пробы объекта (мочи) на наличие наркотических средств, психотропных и сильнодействующих веществ. Эта система обеспечивает стадию пробоподготовки, экстракцию, концентрирование, разделение веществ и их обнаружение.

Эта система представлена тремя наборами экстракционных пробирок с органическим растворителем определенного состава, набором ТСХ-пластин, концентрированных дисков и сосудами для обнаружения веществ:

- «Toxi-Lab A» используется для обнаружения веществ основного, нейтрального характера (опиаты, метадон, амфетамины и др.);
- «Toxi-Lab B» используется для обнаружения веществ кислотного и нейтрального характера (барбитураты, органические кислоты и др.);
- «Toxi-Lab Cannabinoid» используется для обнаружения тетрагидроканнабинола и его производных.

Методика использования системы включает несколько стадий:

- экстрагирование из мочи в специальных экстракционных пробирках экстрагентом определенного состава при pH=4,5 веществ кислотного и нейтрального характера (барбитураты и др.), при pH=9 веществ основного и нейтрального характера (опиаты, амфетамины, метадон и др.);
- концентрирование полученных экстрактов на сорбирующем материале, представленном в системе в виде микродисков (диаметром 2,5 мм) под струей теплого воздуха.
- хроматографирование с использованием специальных пластин, имеющих углубления на линии старта, в которые вставляются диски с сорбированными веществами (рис. 13). Пластины изготовлены из микроволоконной стеклобумаги, пропитанной кремниевой кислотой и раствором соли ванадия («Toxi-Lab A») и без раствора соли ванадия («Toxi-Lab B»). Системы растворителей для «Toxi-Lab A»: этилацетат – метанол – вода очищенная (29:10:5), для «Toxi-Lab B»: этилацетат – дихлорметан (40:60). К обеим системам добавляют 25% раствор аммиака в отношении 1:4 или 1:5 (зависит от условий лаборатории).
- обнаружение веществ на пластинках проводится путем последовательного погружения их в сосуды, заполненные специальными хромогенными составами (реактив Марки-Манделина, модифицированный реактив Драгендорфа и др.); также облучение пластинок УФ-светом при 366 или 254 нм.

На рисунке 13 представлены пластины из каталога системы «Toxi-Lab A» для веществ основного и нейтрального характера. Пластины I, II и III детектированы с помощью реактивов Марки-Манделина. Сначала пластинки выдерживали в парах 37% формальдегида и затем погружали в концентрированную серную кислоту, содержащую 0,1% ванадата

25% раствор аммиака (6:5,5:0,5). Для обнаружения токсических веществ на хроматографических пластинках в качестве реактивов рекомендуются:

- для веществ кислотного характера – растворы хлорида железа(III), растворы сульфата ртути и дифенилкарбазона (в хлороформе);
- для веществ нейтрального характера – фурфурол, подкисленный йодплатинат;
- для веществ основного характера – раствор нингидрина, раствор серной кислоты в этаноле, реактивы Драгендорфа, Марки, Манделина и др.

Предел обнаружения веществ на пластинках при обращенно-фазовом варианте в 2–3 раза меньше по сравнению с нормально-фазовым вариантом ТСХ. Идентифицируют вещества на пластинках по величине R_f или по величине R_s при хроматографировании в присутствии вещества-«стандарта».

7.1.5. Внутригрупповой ТСХ-скрининг в частных системах растворителей

Любой вариант ТСХ может быть использован для определения индивидуальных веществ в извлечениях из биологического материала. Для этого необходимо использовать условия, разработанные для узкого круга ядовитых веществ. В качестве «стандартов» берут вещества из этой же группы. Как пример приводим определение индивидуального барбитурата, если на предварительном этапе выявлено наличие барбитуратов в извлечении (методика описана Б.Н.Изотовым).

На пластинку со слоем силикагеля, как показано на рисунке 14, наносят растворы стандартов: барбитала, фенобарбитала, барбамила, этаминала, бутобарбитала (по 2 капли 1% растворов), а рядом – извлечение из объекта или часть элюата, полученного с пластинки (полоса Г на рис. 10).

Для обнаружения места расположения пятен используют специальные реактивы, которыми опрыскивают с помощью пульверизатора пластинку после ее проявления в системе растворителей и высушивания.

Система растворителей (частная для барбитуратов): хлороформ – н-бутанол – 25% раствор аммиака (70:40:5). Сорбент – силикагель КСК, забуференный 0,1 М раствором борной кислоты.

Для производных барбитуровой кислоты пластинку обрабатывают в начале раствором сульфата ртути(II), а затем раствором дифенилкарбазона в хлороформе.

Барбитураты проявляются в виде сине-фиолетовых или красно-фиолетовых пятен и имеют следующие значения R_f : барбитал – 0,55; фенобарбитал – 0,40; барбамил – 0,90; этаминал – 0,95; бутобарбитал – 0,65.

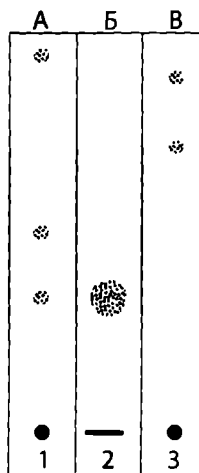


Рис. 14. Исследование экстракта из кислого раствора в частной системе растворителей с помощью ТСХ: 1 – место нанесения стандартных растворов фенобарбитала, барбитала, этаминала, 2 – место нанесения элюата с пластинки после ТСХ-скрининга или части экстракта из кислого раствора, 3 – место нанесения стандартных растворов барбамила и бутобарбитала.

Пятно стандарта и пятно анализируемого вещества должны иметь одинаковую окраску и одинаковое значение R_f .

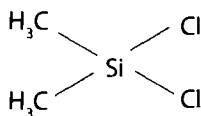
Можно привести такие же примеры по определению индивидуальных веществ из других групп токсикологически важных веществ (морфинана, хинолина, фенилалкиламина и др.).

7.1.6. Газожидкостная хроматография

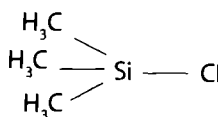
Газожидкостная хроматография является одним из эффективных методов при проведении скрининга. Основным условием использования этого метода является летучесть соединений при температуре испарителя. Во многих методиках рекомендуется переводить исследуемые вещества в легколетучие соединения путем их дериватизации. В таких случаях метод ГЖХ является универсальным способом для проведения скрининга.

Газожидкостная хроматография – это один из видов распределительной хроматографии. Разделение веществ происходит в специальных колонках, заполненных твердым носителем, представляющим собой пористый материал природного или синтетического происхождения (пемза, кизельгур, полисорб, целит и др.). Зернистый носитель набивается в колонку – трубку малого диаметра длиной от нескольких сантиметров до нескольких метров. Колонки изготавливают из нержавеющей стали, меди, алюминия, стекла и других материалов. Твердый носитель имеет тонкий слой неподвижной фазы.

Неподвижная жидкая фаза может быть *неполярной* – аписзоны (L, M, N, SE-30, OV-1, OV-101). Это углеводороды и полимеры, в основном, диметил- и триметилсилана:



диметилдихлорсилан



триметилхлорсилан

Неподвижная фаза может быть полярной и чаще всего представлена полиэтиленгликолем с массой 20 000 – карбовакс-20М, фенилметилсиланом OV-17, цианоэтилсиланом ХЕ-60 и др. Подвижной фазой является инертный газ, чаще всего азот или гелий. Принцип устройства газожидкостного хроматографа приведен на рисунке 15. Исследуемый объект вносят в дозатор (3) в количестве нескольких микролитров с помощью микрошприца. Вещества переносятся газом-носителем (1) в колонку (5). На колонке происходит

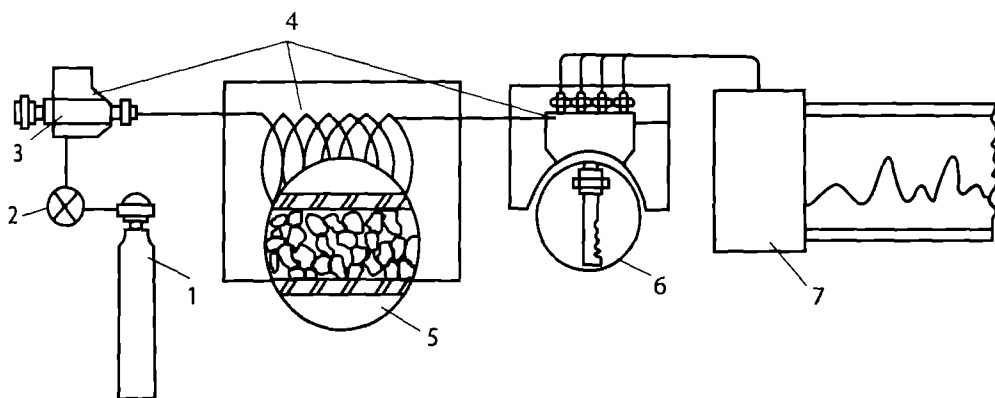


Рис. 15. Схема устройства газожидкостного хроматографа: 1 – баллон с газом-носителем; 2 – регулятор расхода газа-носителя; 3 – дозатор; 4 – термостаты для дозатора, колонки и детектора; 5 – колонка; 6 – детектор; 7 – самописец.

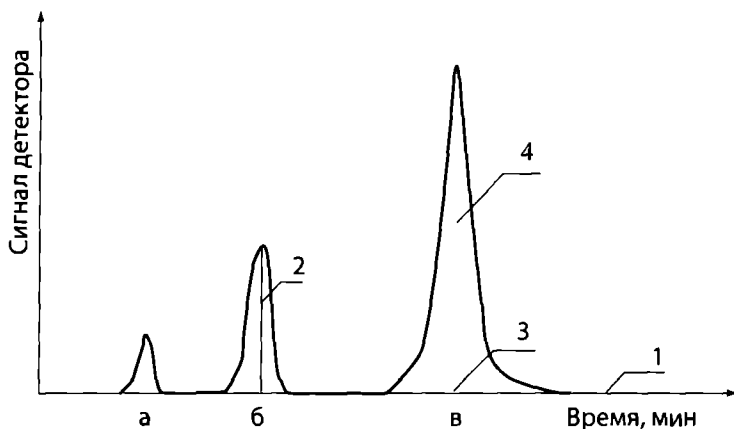


Рис. 16. Хроматограмма двух растворенных веществ – б и в, а – инертный газ

разделение компонентов смеси. Разделение смеси зависит от величины коэффициентов распределения веществ между подвижной и неподвижной фазами и от эффективности колонки. Эффективность колонки выражается числом *теоретических тарелок*. Под «теоретическими тарелками» понимают количество теоретических ступеней, на которых устанавливается равновесие между подвижной и неподвижной фазами. Чем больше таких ступеней на единицу длины колонки, тем лучше происходит разделение веществ.

Из колонки разделенные вещества поступают в детектор (6). Детектор – часть прибора, которая регистрирует интенсивность определенных свойств бинарных смесей (компонент + газ-носитель). Изменение интенсивности сигнала детектора свидетельствует об изменении состава газовой смеси. Детекторы могут быть настроены на измерение интенсивности различных физико-химических свойств системы (плотности, теплопроводности, теплоты сгорания, ионизации и т.д.), которые преобразуются в электрический сигнал детектора, регистрируемый самописцем (7).

В практике химико-токсикологического анализа используют *катарометр* – детектор теплопроводности. Катарометром измеряют разность теплопроводностей чистого газаносителя и смеси газаносителя с анализируемым веществом. Чувствительность определения токсических веществ с помощью катарометра находится в пределах 10^{-3} – 10^{-5} г.

Пламенно-ионизационный детектор (ПИД). Принцип действия основан на измерении тока, возникающего при ионизации молекул органических веществ в пламени водорода. При горении чистого водорода ионы почти не образуются, поэтому электропроводность водородного пламени очень низка. Органические вещества, сгорающие в пламени водорода, образуют ионы или радикалы. Появление заряженных частиц обуславливает электропроводность пламени. Увеличение электропроводности повышает силу ионного тока, которая отображается на хроматограмме в виде пика. Чувствительность ПИД – 10^{-9} – 10^{-12} г. Хроматограмму двух растворенных веществ можно представить следующим образом (рис. 16).

На кривой разделения каждому пику свойственны следующие параметры. *Высота пика* (2) – это расстояние от вершины пика до его основания (3). *Площадь пика* (4) – площадь, заключенная между контуром пика и его основанием. *Основание пика* (3) – отрезок нулевой линии (1) между крайними точками пика.

Качественной характеристикой в газожидкостной хроматографии считаются:

- *Время удерживания вещества*. Это время от момента введения смеси веществ в дозатор до момента вычерчивания максимума пика самописцем. При постоянных условиях анализа характерно для данного вещества.
- *Относительное время удерживания*. Это отношение времени удерживания исследуемого вещества к времени удерживания стандарта.

- **Объем удерживания.** Эту величину получают путем умножения времени удерживания на объемную скорость газа-носителя. Это общий объем подвижной фазы, необходимый для удаления данного вещества из колонки.
- **Относительный объем удерживания.** Его определяют в присутствии стандартного вещества путем деления найденного времени удерживания компонентов на время удерживания стандартного вещества после вычитания времени удерживания инертного газа-носителя из обоих значений времени удерживания.
- **Удельный удерживаемый объем.** Это объем удерживания на 1 г неподвижной жидкой фазы. Эта величина является константой, подобной точке кипения, и более надежна для идентификации.
- **Индекс удерживания (I).** Индекс удерживания предложен Ковачем в 1958 г. Он основан на логарифмической шкале, в которой нормальные парафины имеют значения индексов удерживания, в 100 раз превышающие число атомов углерода в их молекуле. Например, 200, 300, 400 для этана, пропана, н-бутана соответственно. Поэтому величины I/100 рассматривают как число атомов углерода в н-парафине, который определялся бы с интересующим нас веществом. Индекс удерживания – более воспроизводимая характеристика для вещества, чем относительный объем удерживания. Он пропорционален логарифму удельного объема удерживания.

В основе идентификации веществ с помощью ГЖХ – сравнение индекса удерживания неизвестного вещества с индексом удерживания известного соединения.

7.1.6.1. ГЖХ-скрининг в анализе лекарственных и наркотических веществ в извлечениях из мочи

Исследуемые вещества выделяют из мочи путем экстракции или сорбции. Для ГЖХ-скрининга достаточно использовать часть извлечения из объекта, которая соответствует по объему 10 мл мочи (представлено по методикам, описанным С.К.Ереминым).

Условия хроматографического анализа: прибор ЛХМ-80, детектор термоаэрозольный (ТАД), термоионный или беспламенный азотно-фосфорный (NPD), колонка стеклянная, силанизированная, длиной 1 м, внутренний диаметр – 2–3 мм, сорбент – 3% SE-30 на хромосорбе W (HP) – 80–100 меш., скорость газа-носителя (азота) для ТАД 45 мл/мин и для NPD – 40 мл/мин (гелия), эффективность колонки 1200 т.т. (ТАД) и 1300 (NPD), температура детектора – 300°C, температура испарителя 250°C, температура испарителя по линейной программе от 130 до 290°C, объем пробы – 2,5 мкл.

Для идентификации хроматографических пиков определяют индекс удерживания (I_x). С этой целью используют в качестве стандартов смесь н-алканов C_nH_{2n+2} с числом атомов углерода от 10 до 32, которым присвоены значения индексов, равные $100n$ (n – число атомов углерода в алкане). Расчет проводят по формуле:

$$I_x = 100n + (I_{n+1} - I_n) \cdot \frac{\lg t_x - \lg t_n}{\lg t_{n+1} - \lg t_n}$$

где I_x – индекс удерживания анализируемого вещества; t_x , t_n , t_{n+1} – исправленное время удерживания неизвестного вещества (t_x) и ближайших к нему реперных н-алканов с числом атомов углерода n (t_n) и $n+1$ (t_{n+1}); I_{n+1} и I_n – индексы удерживания н-алканов.

Вместо исправленного времени удерживания иногда используют в расчетах истинные удерживаемые объемы.

При работе с другими детекторами вместо н-алканов используют в качестве стандартов смесь азотсодержащих веществ, индексы удерживания которых также предварительно определены по н-алканам при тех же условиях (см. табл. 10). Стандартное отклонение измеренных индексов удерживания находится в пределах 15–20 единиц. При скрининге

Смесь анализируемых веществ для расчета индексов удерживания

Вещество	Индекс удерживания по n-алканам
Амитриптилин	2193
Барбитал	1490
Кодеин	2382
Метиламфетамин	1220
Новокаин	2022
Папавери	2848
Промедол	1838
Стрихнин	3110

«поисковое окно» должно находиться в пределах $\pm 50-60$ единиц I , если сравнивается I неизвестного соединения с I известных веществ.

Индексы удерживания зависят от концентрации исследуемого соединения в растворе. Многие лекарственные вещества, которые не относятся к списку наркотических и одурманивающих, имеют индексы удерживания, близкие к анализируемым соединениям, и могут влиять на результаты идентификации. Поэтому ГЖХ-скрининг используют для отсева отрицательных проб и предварительного обнаружения веществ различных фармакологических групп. Все пробы, давшие положительный результат, подтверждаются другими надежными методами.

7.1.6.2. ГЖХ-скрининг в анализе «летучих» ядов

Методика газожидкостной хроматографии «летучих» ядов основана на исследовании не самой биологической жидкости (крови, мочи), а газовой фазы, находящейся над ней. Этот способ назван **парофазным анализом (ПФА)** или **анализом равновесного пара**. В его основе – один из законов Д.П. Коновалова, выражающий зависимость состава пара от состава раствора: *«повышение относительного содержания компонента в жидкой фазе всегда вызывает увеличение относительного содержания его и в парах»*. ПФА основан на технике и принципе газовой экстракции. Простейший вариант ПФА: в герметично закрывающийся флакон объемом V помещают исследуемый объект объемом V_1 , содержащий определенный «летучий» яд с концентрацией C_1 . Объем газовой фазы над объектом V_g равен $V - V_1$. Систему выдерживают при постоянной температуре до установления термодинамического равновесия (равновесного распределения «летучего» яда между жидкостью и газом). Газовую фазу вводят в хроматограф. Измеряют абсолютное значение равновесной концентрации яда C_g . Поскольку в процессе установления фазового равновесия некоторая часть «летучего» яда переходит в газовую фазу, его концентрация в конденсируемой фазе будет меньше исходной C_1 . Количество вещества, перешедшего в газовую фазу из раствора, зависит от соотношения объемов фаз $R = V_g/V_1$ и коэффициента распределения $K = C_1/C_g$. Если пренебречь изменением объема жидкости за счет испарения раствора в процессе установления равновесия, концентрацию вещества в исходном растворе можно вычислить по его содержанию в равновесной газовой фазе по уравнению $C_1 = C_g(K + R)$. Эта формула лежит в основе парофазного анализа.

Метод применяют для определения летучих органических веществ в питьевой воде, природных и сточных водах, пищевых продуктах, крови, моче, фармацевтических и косметических препаратах, а также в криминалистике, микробиологии, медицинской диагностике и др. В настоящее время имеются специальные автоматические анализаторы и приставки к газовым хроматографам, позволяющие проводить парофазный анализ.

В анализе летучих соединений *Международный совет по систематическому химико-токсикологическому анализу* рекомендует следующие условия проведения ГЖХ-скрининга.

Материал-колонки: хромсорб W, фр. (80–100 меш.); покрытие (неподвижная фаза) – 15% карбовакс 1500, температура: изотермический режим (60–100°C); тестовая смесь (1 г/л): метанол, ацетон, этанол, изопропанол, используемые с целью проверки качества колонки, чувствительности детектора и эффективности разделения; детектор: пламенно-ионизационный (ПИД).

Методика исследования биологических объектов с помощью парофазного анализа при проведении ненаправленного анализа сводится к следующему.

Внутренние органы и ткани. Навеску измельченного объекта массой 5 г помещают в соответствующую емкость объемом 15 мл, добавляют 0,5 мл 0,5% раствора фосфорновольфрамовой кислоты. Емкость плотно закрывают резиновой пробкой, обкатывают алюминиевым колпачком и нагревают на кипящей водяной бане не менее 15 мин.

Кровь, моча. Исследуемый объект объемом 0,5 мл помещают в емкость объемом 15 мл, закрывают резиновой пробкой, обкатывают алюминиевым колпачком и оставляют при комнатной температуре на 5–10 мин. В системе устанавливается термодинамическое равновесие между жидкой и паровой фазами.

Затем в емкостях прокалывают иглой медицинского шприца резиновую пробку, отбирают 2 мл парогазовой фазы и вводят в испаритель газового хроматографа.

Для обнаружения и определения этанола и других летучих спиртов применяется утвержденный экспрессный этилнитритный метод, который позволяет обнаружить и определить алифатические спирты C_1-C_5 в виде алкилнитритов (метод описан в разделе 9.1).

Остальные «летучие» яды в связи с плохим разделением определяют, используя две параллельные колонки с селективными неподвижными фазами различной полярности. Селективность метода повышается модификацией твердого носителя слоем металлического серебра.

Условия анализа: прибор ЛХМ-80 или «Цвет», детектор ПИД, скорость потока водорода 27–30 мл/мин, воздуха – 200–360 мл/мин, газ-носитель – гелий (24 мл/мин) или азот (30 мл/мин), колонки металлические ($L=1-2$ м, $d_m=0,3$ см), температура колонки – 80–85°C, испарителя – 100–110°C, твердый носитель – целит С-22 (фракция 60–80 меш.), модифицированный слоем металлического серебра, или хроматон AW DMCS (0,20–0,25 мм), неподвижные жидкие фазы: 1,2,3-трис(2-цианоэтокси)пропан или карбовакс 15% 20 М (1-я колонка) и тритон X-100 или 10% дионилфталат (2-я колонка).

Методика. В два пенициллиновых флакона емкостью 10 мл вносят по 1 мл 10% раствора фосфорновольфрамовой кислоты и по 1 мл исследуемой пробы. Содержимое флаконов перемешивают и вносят в каждый флакон по 2,5 г безводного сульфата натрия. Флаконы закрывают резиновыми пробками и обкатывают алюминиевыми колпачками. Один флакон помещают на 5 мин в кипящую водяную баню, взбалтывая сразу и затем через 3 минуты. Из этого флакона медицинским шприцем отбирают 0,5 мл парогазовой фазы и вводят ее в 1-ю колонку. Через 5 мин второй флакон помещают в водяную баню и 0,5 мл парогазовой фазы вводят во 2-ю колонку.

По полученным пикам на первой колонке рассчитывают индексы удерживания или $t_{отн}$ и сравнивают с табличными данными. Выбирают вещества, у которых индексы удерживания ($t_{отн}$) совпадают или отличаются в пределах «поискового окна». Отобранные вещества включают в круг предполагаемых соединений. Остальные вещества исключаются из дальнейших исследований, что сужает круг поиска.

На второй колонке происходит разделение отобранных веществ. Порядок их выхода из колонки также изменяется. Далее рассчитывают индексы удерживания ($t_{отн}$) и сравнивают их с индексами удерживания ($t_{отн}$) стандартных веществ из числа предполагаемых ядовитых соединений. Анализируя данные, полученные на 2 колонках с неподвижными

фазами разной полярности, делают вывод о присутствии тех или иных «летучих» ядов в исследуемом объекте

Результаты подтверждаются химическим методом. Если при проведении газохроматографического скрининга получен отрицательный результат, т.е. на хроматограмме не обнаружено пиков, характеризующих присутствие какого-либо ядовитого вещества, делают вывод о ненахождении группы «летучих» ядов в объекте.

7.1.7. Иммунохимические методы скрининга лекарственных и наркотических веществ

Этот раздел представлен с использованием разработок С.К. Еремина.

Иммунохимические методы (скрининг-тесты), используемые для анализа наркотических, психотропных и одурманивающих веществ в биологических жидкостях (кровь, моча, слюна) являются высокочувствительными. Они позволяют за минимальное время из достаточно большого круга исследуемых соединений выявить одно или несколько веществ. Скрининг-тесты не отличаются высокой специфичностью и часто вообще неспецифичны. Особенность этих методов в том, что при их использовании нет необходимости проводить изолирование веществ из объекта и применять специальные приемы по их очистке. В основе иммунохимических методов – взаимодействие специфических белковых антител (антисывороток) с анализируемым веществом, выступающим в роли антигена (гаптена). Чем больше концентрация в объекте вещества-антигена, тем больше образуется комплекса антиген–антитело. Чтобы детектировать получаемый результат, один из компонентов реакции – гаптен или антитело – метят специальной меткой.

В основу классификации иммунохимических методов положены тип применяемой метки и способ ее детектирования (табл. 11).

Все методы иммунохимического исследования включают 4 этапа.

1 этап. Нанесение метки на препарат или его аналог.

2 этап. Добавление антисыворотки с антителами и образование комплекса антитело-меченый препарат.

3 этап. Добавление исследуемой крови (сыворотки) или мочи. Происходит вытеснение анализируемым веществом меченого препарата из комплекса и образование нового комплекса: анализируемое вещество–антитело.

4 этап. Измерение радиоактивности, интенсивности флуоресценции, активности фермента и т.д.

В токсикологической химии для проведения скрининга применяются иммуноферментный анализ, радиоиммунный и поляризационный флуороиммуноанализ.

Используют два вида иммунохимических методов анализа:

- анализ гомогенный, в котором все компоненты находятся в растворе;
- анализ гетерогенный, в котором реагирующие компоненты разделяют путем включения стадии «отмывки» или центрифугирования.

Гомогенный иммуноферментный анализ (ИФА)

В гомогенном ИФА в качестве метки используют оксидазы. Среди них чаще всего применяют лизоцим, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназу, малатдегидрогеназу. Эти ферменты

Таблица 11

Классификация иммунохимических методов анализа

Название метода	Способ детектирования
Радиоиммунный анализ (РИА)	Радиоактивность
Иммуоферментный анализ (ИФА)	Ферментная активность
Поляризационный флуороиммуноанализ (ПФИА)	Интенсивность флуоресцентной поляризации
Люминесцентный иммуноанализ (ЛИА)	Интенсивность люминесценции

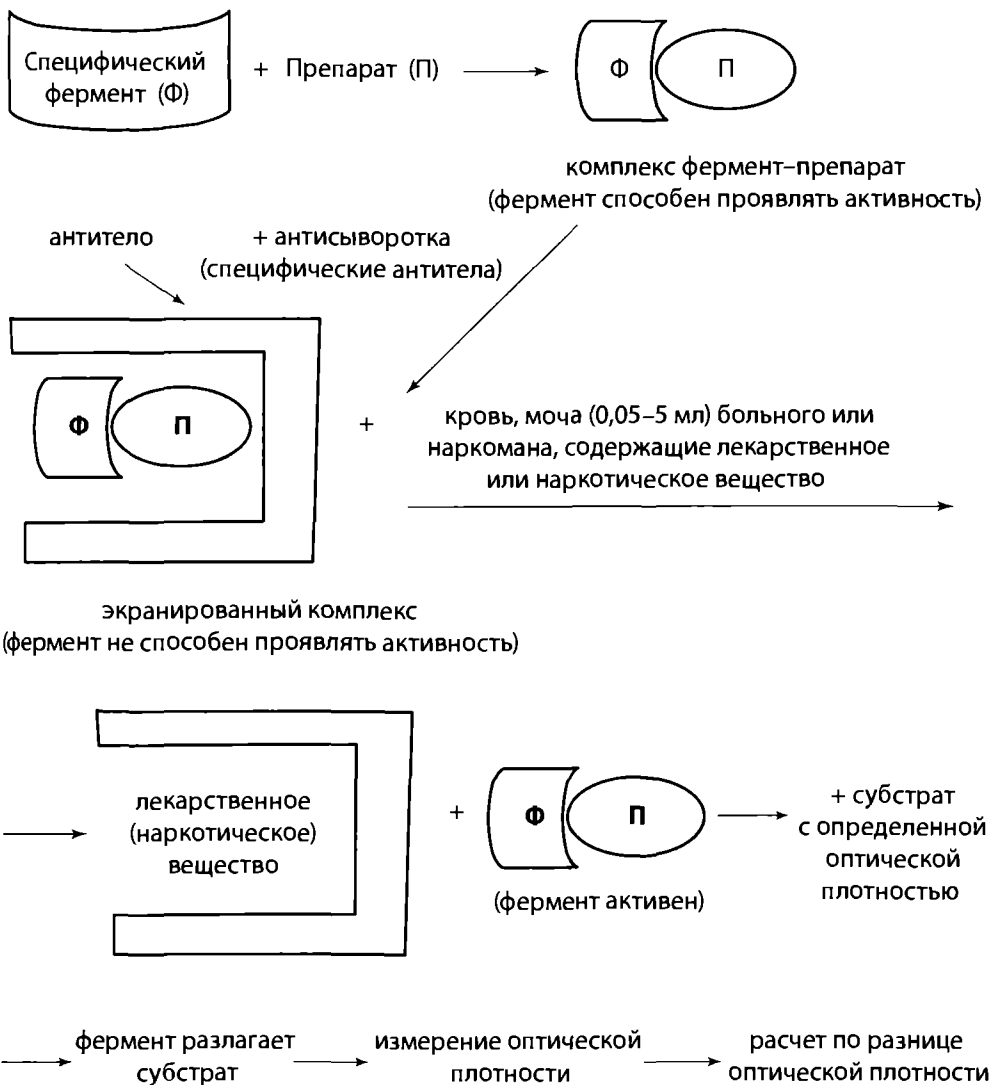
способны окислять хромогенный субстрат (специальное химическое вещество, например хлорнафтол) с образованием окрашенного соединения

Если в исследуемой биологической жидкости присутствует наркотическое, психотропное или одурманивающее вещество, анализ пройдет по нижеприведенной схеме

При отсутствии в биологической жидкости подозреваемого вещества окраски раствора наблюдаться не будет, так как комплекс фермент–препарат останется связанным с антителом и не проявит окислительных свойств. Гомогенный анализ экспрессный, время его проведения 1–30 мин (с учетом времени на обработку результатов). Предел обнаружения исследуемых веществ 10^{-4} – 10^{-6} г/мл

ИФА используется для предварительного установления факта употребления одурманивающих средств. Используются в анализе антитела – это иммуноглобулины, продуцируемые лимфоцитами животных (мелкого и крупного рогатого скота) при введении им инородных веществ.

Иммуноферментный метод анализа (ИФА) лекарственных и наркотических веществ можно представить следующей схемой



Полученные антитела будут игнорировать многие соединения, которые не похожи на антигены (гаптены). Однако если в исследуемой пробе будут содержаться структурно-родственные соединения, антитела их также будут связывать. Связывание структурно-родственных соединений называется перекрестной реакцией или перекрестной реактивностью. Среди них некоторые продукты распада белковых молекул (тирамин, фенилпропаноламин), метаболиты ядовитых соединений, лекарственные вещества. Наличие перекрестных реакций с другими лекарственными соединениями может стать причиной ложноположительных реакций.

ИФА всегда используется в комбинации с другими подтверждающими способами и реакциями. При отрицательном результате ИФА не требуется проведения дополнительных исследований и дается заключение о необнаружении предполагаемых веществ.

ИФА в экспресс-диагностике объектов на наркотические и одурманивающие вещества

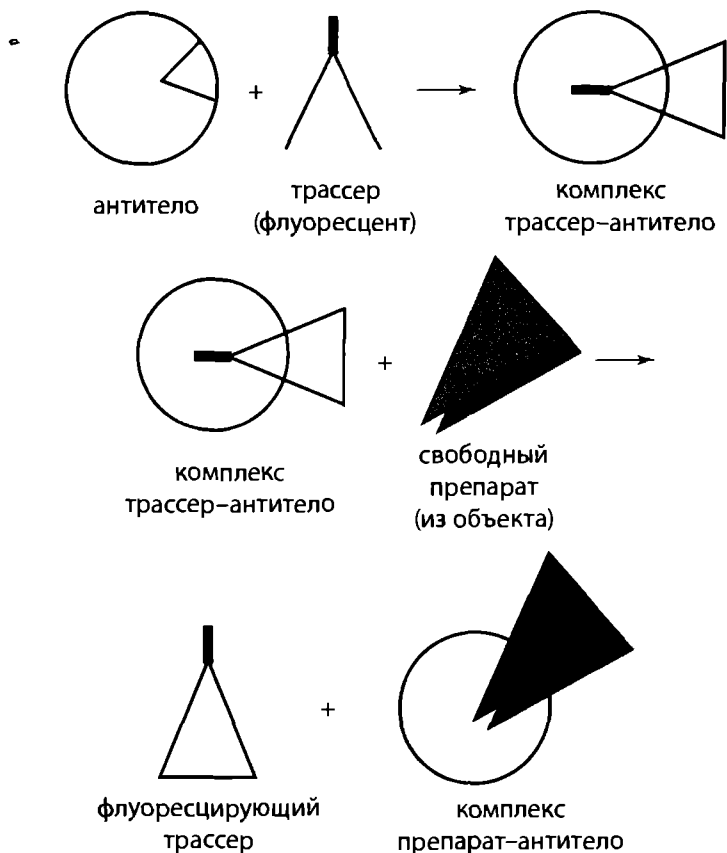
Этот вариант анализа может проводиться в нелабораторных («полевых») условиях. Используются индикаторные полоски из целлюлозной хроматографической бумаги. Антитела и фермент глюкозооксидазу ковалентно связывают с поверхностью индикаторной полоски. При погружении индикаторной полоски в исследуемый образец содержащееся в нем наркотическое вещество связывает определенную часть активных центров антител, находящихся на индикаторной полоске. Затем эту полоску переносят в раствор смеси, состоящий из определяемого наркотика, пероксидазы, глюкозы и хромогенного субстрата. Определяемое наркотическое вещество на индикаторной полоске связывает активные вакантные центры антител. Глюкоза образует пероксид водорода при взаимодействии с иммобилизированной на индикаторной полоске глюкозооксидазой. Пероксид водорода окисляет хромогенный субстрат с образованием окрашенного и нерастворимого продукта. Концентрация определяемого вещества (антигена) обратно пропорциональна интенсивности образующейся окраски. Чем ярче окраска, тем меньше количество вещества в анализируемом растворе. Этот вариант ИФА прост в выполнении и используется в отделениях милиции, спецприемниках, наркологических диспансерах и т.д.

Поляризационный флуороиммуноанализ (ПФИА)

Этот метод используется при анализе уровня лекарственных и наркотических веществ в биологических жидкостях. В качестве меченого препарата применяют молекулу подозреваемого вещества с присоединенной к ней группой, придающей меченой молекуле способность флуоресцировать. В качестве метки используют флуоресцеин. Метод основан на сдвиге угла испускаемого луча света флуоресцирующим образцом при облучении его монохроматическим поляризованным светом. Сдвиг угла испускаемого света при этом сильно зависит от структуры лекарственного или наркотического вещества. Это позволяет определять долю меченых молекул, вытесненных немеченым препаратом, содержащимся в анализируемой пробе (крови, моче). Проведя калибровку системы, можно найти концентрацию препарата в исследуемой пробе.

Этот метод предложен для работы фирмой Эббот (торговая марка ТДХ-анализаторов). Эта фирма выпускает наборы необходимых реагентов для анализа основных противосудорожных, антиаритмических, наркотических и других препаратов из групп опиатов, барбитуратов, производных 1,4-бензодиазепина, каннабиноидов, амфетаминов, кокаина, эфедрина и др. Используемая методика выполняется в автоматическом режиме, отличается высокой чувствительностью и относительной специфичностью.

Поляризационно-флуоресцентный иммуноанализ можно представить следующей схемой



Гетерогенный иммуноанализ

В качестве метки в этом варианте иммунохимического метода используют ферменты пероксидазу, β -галактозидазу, фосфатазу и др. Метод отличается высокой чувствительностью и позволяет определять вещества в концентрации 10^{-6} – 10^{-8} г/л. Время анализа составляет 2–4 ч. Выпускаются диагностикумы для обнаружения алкалоидов группы опиума, производных барбитуровой кислоты, эфедрона, каннабиноидов и др.

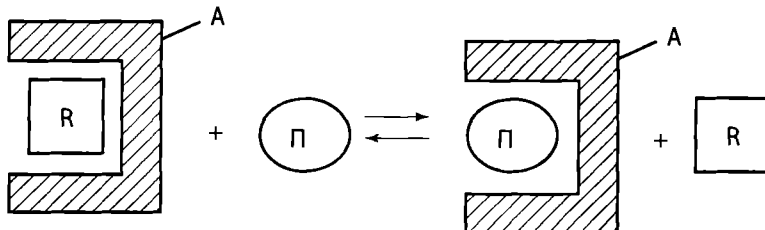
Метод заключается в том, что препарат (антиген) реагирует с избытком фермент-меченых антител. После образования комплекса антиген-антитело избыток антител связывают добавлением специфического твердофазного иммуносорбента и удаляют отмыванием или центрифугированием. Затем добавляют хромогенный субстрат. Он взаимодействует с фермент-меткой, связанной с антителом, закрепленным на твердом носителе, и образует соответствующую окраску. Если концентрация определяемого вещества в пробе будет значительно превышать концентрацию гаптена, меченого ферментом, то после удаления последнего из реакционной смеси (при отмывании или центрифугировании) хромогенный субстрат не образует окраски (положительный результат анализа). При возникновении окраски результат анализа отрицательный.

Радиоиммунный метод

Этот метод относится к числу гетерогенных методов, так как для анализа степени вытеснения меченого антигена из комплекса антиген-антитело необходимо отделить этот

комплекс от раствора. В данном методе используют препарат (или его близкую модификацию), меченый радиоактивным изотопом. С этой целью применяют йод-125 (^{125}I) и радиоактивный изотоп водорода – тритий (^3H), иногда селен. К специфическому анти телу (А) добавляют препарат, меченый радиоактивной меткой (R), а затем исследуемый раствор (мочу, плазму крови), содержащий исследуемое вещество (П), которое вытесняет меченый препарат из комплекса.

Определение веществ идет по схеме:



R – препарат, меченый радионуклидом, А – антитело, П – анализируемый препарат (в крови, моче).

Освободившийся меченый препарат отделяют от раствора и с помощью специальных приборов определяют степень радиоактивности. После определения радиоактивности можно рассчитать концентрацию препарата в растворе. Метод рекомендуется для обнаружения и определения многих лекарственных и ядовитых веществ в крови и моче (психотропных, гормональных, сердечно-сосудистых, производных барбитуровой кислоты, производных 1,4-бензодиазепина, антидепрессантов, наркотических анальгетиков морфинанового ряда, многих наркотических средств и др.). Этим методом возможно определение веществ в концентрации в 5–15 раз ниже терапевтического уровня. Метод обладает достаточной специфичностью. Однако она не полная, так как присутствие в биологической жидкости метаболитов препарата или других лекарств, близких по структуре к анализируемому веществу, может привести к ложноположительным результатам и завьисит получаемые данные. Методу придается значение при отрицательном результате. Если анализ дает положительный результат, данные подтверждаются другими методами и реакциями.

7.1.8. Аналитический скрининг с помощью химических реакций

На первой стадии анализа необходимо выбрать реакции, позволяющие установить или исключить наличие отдельных групп химических соединений или индивидуальных веществ. Поэтому этот анализ носит также характер скрининга. На этой стадии химикотоксикологического анализа используют наиболее чувствительные реакции. Как правило, эти реакции неспецифичны для отдельных веществ. При отсутствии аналитического эффекта вся группа или конкретное вещество исключается из анализа.

Примеры:

При исследовании извлечений из объекта на вещества основного характера рекомендуется использовать *осадительные (общекаталитические) реактивы*. В анализе применяют не менее 4–5 реактивов, отличающихся наибольшей чувствительностью по отношению к большинству алкалоидов и органических оснований:

- фосфорно-вольфрамовая кислота – $\text{H}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{WO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$;
- фосфорно-молибденовая кислота – $\text{H}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{MoO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$;
- реактив Драгендорфа – раствор йодида висмута в растворе йодида калия;
- реактив Бушарда – раствор йода в растворе йодида калия;
- реактив Майера – раствор йодида ртути в растворе йодида калия.

Для проведения реакций определенную часть хлороформного экстракта испаряют, добавляют хлороводородную кислоту для перевода токсических веществ в соли и прибавляют 1–2 капли соответствующего реактива.

Если ни с одним из реактивов ни мути, ни осадка не образуется, делают заключение о необнаружении алкалоидов и веществ основного характера. Если хотя бы с одним из реактивов образуется муть или осадок – проводят дальнейшее исследование с использованием подтверждающих методов и реакций.

При анализе извлечений из биологических объектов на группу опийных алкалоидов рекомендованы *реакции со специальными реактивами*. Для предварительной идентификации опийных алкалоидов и промедола чаще всего используют:

- реактив Марки – раствор формальдегида в концентрированной серной кислоте;
- реактив Фреде – раствор молибдата аммония в концентрированной серной кислоте;
- реактив Эрдмана – смесь концентрированных серной и азотной кислот;
- реактив Манделина – раствор ванадата аммония в концентрированной серной кислоте.

Для проведения реакций на фарфоровых чашках испаряют извлечение из объекта (хлороформный экстракт, полученный из раствора с $\text{pH}=8-10$) и на сухие остатки наносят соответствующие реактивы. При отсутствии окрашивания делают заключение о необнаружении алкалоидов опия и промедола.

Исследование эфирных экстрактов из объектов на производные барбитуровой кислоты проводят, используя реакцию с аммиачным раствором ацетата кобальта. При отсутствии окрашивания дают заключение о необнаружении в исследуемом объекте барбитуратов.

При анализе дистиллята на ядовитые алкилгалогениды используют предварительные реакции отщепления органически связанного хлора и образования изонитрила. При получении отрицательного результата обеих реакций дают заключение о необнаружении в исследуемом объекте хлороформа, хлоралгидрата и четыреххлористого углерода

Анализ дистиллята на присутствие фенола проводят по реакции с бромной водой, и при отсутствии осадка дается заключение о необнаружении в объекте фенола и крезолов.

Определение этилового спирта проводят по реакции образования йодоформа. При отсутствии запаха йодоформа и осадка с характерной формой кристаллов дают заключение о необнаружении в объекте этилового спирта

При проведении холинэстеразной пробы в извлечении из объекта на фосфорсодержащие ядохимикаты и получении отрицательного результата дают заключение о необнаружении всей группы фосфорорганических соединений в объекте исследования и т.д.

Скрининговые методы и аналитические реакции предварительного анализа позволяют значительно сократить время, затрачиваемое на исследование биологического объекта на различные группы ядовитых веществ.

7.2. Методы подтверждающего анализа

7.2.1. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ)

Высокоэффективная жидкостная хроматография является вариантом колоночной хроматографии. Ее отличие от классической колоночной хроматографии заключается в использовании сорбентов с размером зерен 10–30 мкм, поверхностно- и объемно-пористых сорбентов с размером зерен 5–10 мкм, нагнетательных насосов и высокочувствительных детекторов. Быстрый массоперенос при высокой эффективности разделения позволяет использовать ВЭЖХ для разделения и определения веществ в молекулярном или ионном виде. В ВЭЖХ сорбент в колонке пропитан неподвижной фазой (НФ). Подвижной фазой (ПФ) является элюент, который подается в колонку насосом. Элюент движется под давлением 200 и более атмосфер. На рисунке 17 представлен общий вид хроматографа «Милихром-4».

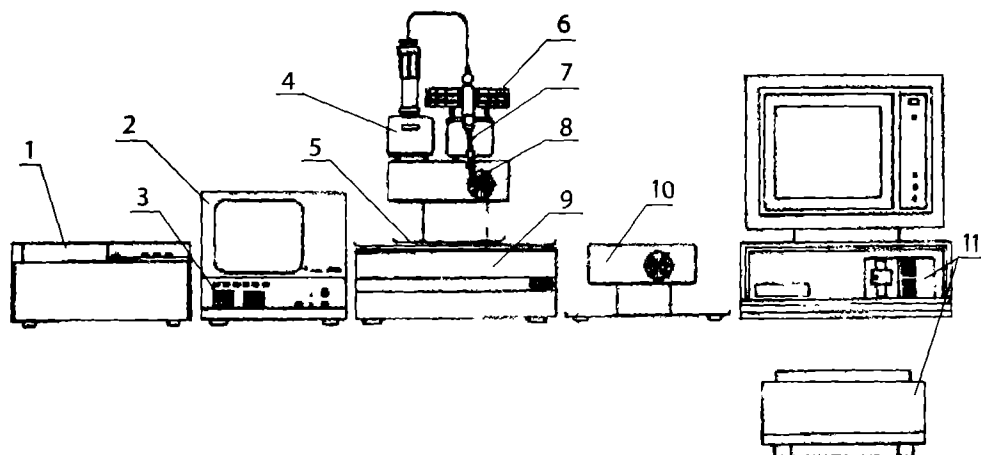


Рис. 17. Общий вид хроматографа «Милихром-4-ВУФЭ»: 1 – регистратор; 2 – монитор; 3 – клавиатура; 4 – насос высокого давления; 5 – поддон; 6 – устройство для ввода пробы автоматическое; 7 – колонка аналитическая хроматографическая; 8 – спектрофотометрический детектор на УФ-область спектра; 9 – блок управления микропроцессором; 10 – спектрофотометрический детектор на видимую область спектра; 11 – комплект автоматической системы обработки хроматографической информации.

Разделение основано на различной скорости распределения веществ между неподвижной и подвижной фазами. Подвижная фаза подбирается так, чтобы обеспечить хорошее разделение веществ при сравнительно небольшом времени удерживания.

Если состав подвижной фазы в процессе анализа не меняется, этот режим называют *изократическим*, если соотношение компонентов меняется – *градиентным*.

В химико-токсикологическом анализе чаще всего используют *вариант обращенно-фазовой хроматографии*, когда подвижная фаза более полярна, чем неподвижная фаза. Применяются колонки с привитыми фазами. В качестве подвижных фаз рекомендуются смеси вода – метанол, вода – ацетонитрил или буферные растворы, кислоты, основания. В качестве неподвижной фазы чаще всего применяют гидрофобные вещества, привитые на силикагель (например, «Сепарон-18»).

Колонку в приборе ВЭЖХ изготавливают из стали или стекла диаметром 0,3–0,8 см, длиной 6–25 см. Она помещается в термостат, в котором поддерживается определенная температура.

Детектор в ВЭЖХ обычно спектрофотометрический. Он регистрирует оптическую плотность раствора исследуемого вещества при заданной длине волны. Возможно детектирование при нескольких длинах волн.

Идентификация веществ в извлечениях из биологических проб проводится следующим образом:

- сопоставляют время (объем) удерживания определяемого вещества и образца сравнения;
- сравнивают и сопоставляют светопоглощение предполагаемого компонента и образца сравнения при двух или нескольких длинах волн и оценивают их спектральные отношения;
- оценивают совпадение значений времени удерживания определяемого компонента и образца сравнения при добавлении его к экстракту из объекта.

Метод ВЭЖХ нашел широкое применение в настоящее время в практике судебно-химического, клинического анализа при определении и обнаружении в биологических объектах токсических веществ кислотного и основного характера.

Метод ВЭЖХ для общего скрининга не применяется. Это связано с тем, что для каждой группы веществ необходимы специфические условия разделения. Этот метод является оптимальным при частном скрининге, когда круг предполагаемых веществ ограничен (например, при экспертизе наркотического, токсикоманического опьянения).

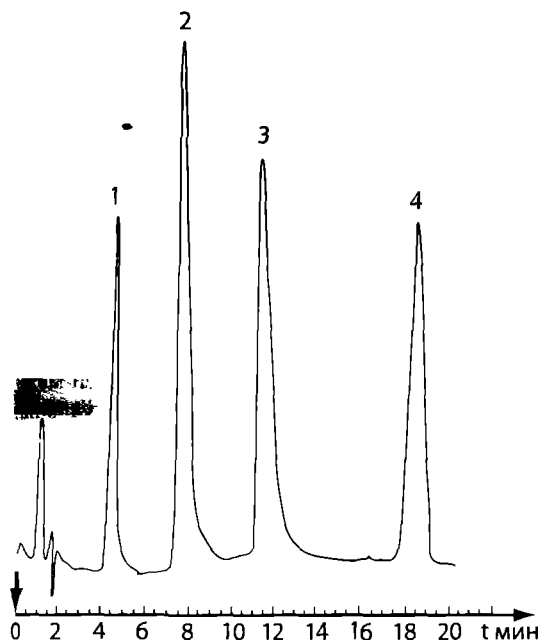


Рис. 18. Разделение алкалоидов с помощью ВЭЖХ: 1 – морфин (t уд.=4,2 мин); 2 – кодеин (t уд.=7,5 мин); 3 – этилморфин (t уд.=11,2 мин); 4 – папаверин (t уд.=18,3 мин).

Исследуемые вещества (барбитураты, алкалоиды опия и др.) экстрагируют из подготовленного объекта хлороформом, диэтиловым эфиром или смесью хлороформа и н-бутанола. Органический растворитель испаряют в токе теплого воздуха и растворяют в 100 мкл подвижной фазы, а затем анализируют в приборе, используя условия, рекомендуемые для данной группы соединений.

Для разделения опийных алкалоидов (по методике С.К.Еремина), выделенных из мочи после ее пробоподготовки с помощью кислотного гидролиза, рекомендуются следующие условия:

- жидкостный хроматограф «Миличром-2, -4 или -5»;
- хроматографическая колонка (64×2 мм), заполненная обращенно-фазовым сорбентом марки Сепарон-С₁₈, 5 мкм;
- подвижная фаза (элюент) – смесь 0,01 М водного раствора ацетата аммония (ЧДА, ГОСТ 3117–78) и ацетонитрила (для жидкостной хроматографии) 65:35.
- скорость потока элюента – 100 мкл/мин;
- детектирование проводится при длине волны 230 нм (рис. 18).

7.2.2. Методы ИК- и УФ-спектроскопии

Теоретические основы спектрометрии хорошо изложены в курсе аналитической химии. Эти методы основаны на поглощении электромагнитного излучения определяемым ве-

Таблица 12

Спектральные области поглощения

Область спектра	Ультрафиолетовая область	Видимая область	Инфракрасная область		
			ближняя	средняя	дальняя
Длина волны	185–380 нм	380–750 нм	750–2500 нм	2500–25 000 нм	—
Волновое число	—	—	13 300–4000 см ⁻¹	4000–400 см ⁻¹	400–10 см ⁻¹
Тип поглощения	Электронное		Вращательное, колебательное, деформационное		Молекулярное вращение

ществом Область спектра характеризуется определенным участком длин волн электромагнитного излучения (см табл 12)

Для обнаружения ядовитых веществ в токсикологической химии используют спектрометрию в ближней ультрафиолетовой области от 200 до 380 нм, в видимой области и средней инфракрасной области спектра Ультрафиолетовая область до 200 нм требует специальных (вакуумных) устройств Аппаратура для дальней инфракрасной области в нашей стране используется в научных целях и в широкой практике не применяется

Инфракрасная спектроскопия

Спектр поглощения в инфракрасной области представляет собой сложную кривую с большим числом максимумов и минимумов Спектральные характеристики (положение максимумов полос, их полуширина, интенсивность) индивидуальной молекулы зависят от масс составляющих ее атомов, геометрического строения, особенностей межатомных сил, распределения заряда и др Поэтому ИК-спектры строго индивидуальны, что особенно ценно для идентификации вещества В фармацевтическом и химико-токсикологическом анализе используется область электромагнитного спектра, которая охватывает интервал $4000\text{--}250\text{ см}^{-1}$ Совокупность всех полос поглощения, образующая ИК-спектр данного соединения, однозначно определяет его индивидуальность, используется для определения подлинности лекарственного (токсического) вещества и подтверждает его нахождение в извлечениях из объектов химико-токсикологического анализа

При оценке полученных спектров извлечений из объектов важно знать, какие групповые частоты связаны с наличием в молекуле исследуемого соединения определенных функциональных групп Такие частоты называются *характеристическими* Различные молекулы, содержащие одну и ту же атомную группировку, будут давать в ИК-спектре полосы поглощения в области одной и той же характеристической частоты Это является основой качественного анализа по ИК-спектрам Например, полосы в области $3000\text{--}3600\text{ см}^{-1}$ могут быть отнесены только О-Н- или N-Н-связям, и отсутствие полос в этой области спектра однозначно свидетельствует об отсутствии ОН- и NH-групп в анализируемом веществе Некоторые полосы приведены в таблице 13

ИК-спектроскопия используется для обнаружения многих органических соединений, имеющих токсикологическое значение Методика обнаружения веществ кислотного и основного характера сводится к следующему сухой остаток после испарения органического растворителя (экстракта из биологического объекта) растирают с сухим мелкоизмельченным бромидом калия в соотношении 1 200 или 1 300 (зависит от марки прибора) Часть смеси переносят в специальную матрицу и прессуют Полученный прозрачный диск помещают в прибор ИК-спектрофотометр и проводят измерения

Параллельно анализируют стандартный образец Совпадение полос поглощения в обоих спектрах свидетельствует об идентичности веществ (табл 14)

Если отсутствует стандартный образец, то пользуются сборниками спектров (атласами), в которых приводятся спектры веществ и точные условия приготовления пробы

Таблица 13

Полосы поглощения некоторых функциональных групп

Функциональная группа	Частота, см^{-1} , интенсивность
О Н	3650–3200 (переменная)
N Н	3500–2900 (средняя)
С Н	3300–2700 (сильная)
С С	~2500 (слабая)
С-N	~2200 (средняя)
С=О	1850–1650 (сильная)
С-С	~1650 (средняя)
С О	1300 1000 (сильная)

Таблица 14

Основные полосы поглощения некоторых токсических веществ

Анализируемое вещество	Основные пики в ИК-области, см ⁻¹
Барбамил	1716, 1689, 1745
Кофеин	1658, 1695, 745
Феназон	1660, 770, 1486
Морфин	805, 1243, 1448, 945, 1086, 833
Папаверин	1507, 1068, 1273
Атропин	1720, 1035, 1153
Стрхнин	1664, 764, 1392, 1480
Хинин	1235, 1510, 1030, 1619
Эфедрин	699, 754, 760, 994, 1049, 1242, 1400, 1480, 1605
Амнназин	1455, 747, 1240, 1402, 1561
Новокаин	1274, 1690, 1605

для анализа. К настоящему времени изучены и сведены в соответствующие таблицы и атласы инфракрасные спектры более 20 000 различных соединений, что значительно облегчает практическое использование этого метода.

Метод отличается универсальностью, избирательностью и весьма характерен. В иностранной литературе его часто называют *finger print*, т.е. отпечатки пальцев, что означает неповторимость инфракрасного спектра каждого соединения.

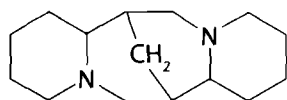
Надежная идентификация токсических веществ с помощью этого метода может быть проведена только после тщательной очистки извлечений из объекта.

Спектрофотометрия в УФ-области спектра

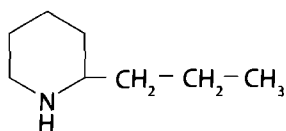
Спектрофотометрия – метод анализа, основанный на измерении спектров поглощения в оптической области электромагнитного излучения, обусловленного электронными переходами: $\sigma\text{-}\sigma^*$, $n\text{-}\sigma^*$, $\pi\text{-}\pi^*$, $n\text{-}\pi^*$ (переходы перечислены в порядке уменьшения энергии, необходимой для их осуществления).

Различные электронные переходы в молекулах веществ требуют неодинаковой энергии, а поэтому полосы поглощения располагаются при разных длинах волн.

Наибольшей энергии требует $\sigma\text{-}\sigma^*$ переход. Он связан с возбуждением внутренних электронов и соответствует поглощению в дальней УФ-области ($\lambda \leq 200$ нм). Такие переходы наблюдаются у метана, этана и других насыщенных углеводородов. Из числа токсикологически важных соединений такой переход $\sigma\text{-}\sigma^*$ характерен для соединений:



пахикарпин



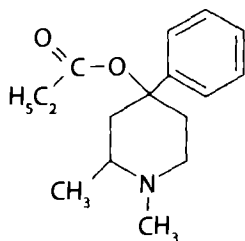
кониин

Эти переходы не регистрируются в рабочем диапазоне спектрофотометра.

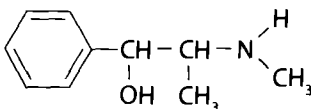
Переход $n\text{-}\sigma^*$ связан с меньшими затратами энергии и характерен для органических соединений, содержащих n -электроны, локализованные на орбиталях атомов O, N, Hal, S. Они имеют полосы поглощения при длине волны более 200 нм.

Полосы, соответствующие переходам $n\text{-}\pi^*$ и $\pi\text{-}\pi^*$, характерны для гетероциклических соединений с сопряженными связями, проявляются в области ~250–300 нм и имеют большую интенсивность. К этой группе можно отнести соединения, содержащие бензольное кольцо. Это поглощение характерно для многих лекарственных веществ, которые в молекуле имеют фенильный радикал, не связанный с аусохромными группами. Такие вещества трудно различить по характеру спектра поглощения.

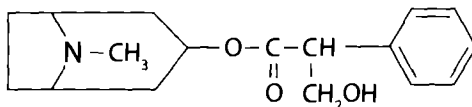
Например:



промедол



эфедрин

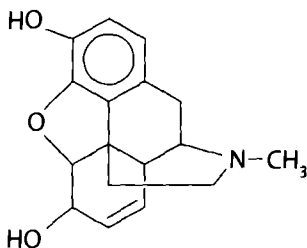


атропин

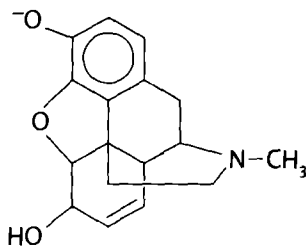
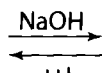
В растворе 0,1 М серной кислоты для них характерны три максимума светопоглощения: при длинах волн 250–252 нм, 256–258 нм, 262–264 нм.

Некоторые органические соединения содержат хромофорные группы, которые связаны с какой-либо ауксохромной группой. При введении в молекулу различных заместителей или при изменении условий измерения (рН среды, природы растворителя) происходит сдвиг полосы поглощения. Если полоса поглощения смещается в сторону более длинных волн, говорят о батохромном смещении. Если полоса сдвигается в сторону более коротких волн – о гипсохромном смещении.

Например:



морфин в водном растворе
и в 0,1 М растворе H_2SO_4
 $\lambda_{max} = 284-285$ нм



морфин в 0,1 М растворе NaOH
 $\lambda_{max} = 250$ и 296 нм

Использование УФ-спектрофотометрии в химико-токсикологическом анализе осложняется присутствием в извлечении примесей эндогенных соединений, что особенно проявляется при анализе трупного материала, подвергшегося гнилостным изменениям. Эндогенные соединения создают так называемое «фоновое поглощение», искажают характер спектра поглощения исследуемого соединения.

Для устранения влияния фонового поглощения в различных методиках используют индивидуальные способы очистки, как на первом этапе изолирования (при настаивании объекта с полярным растворителем), так и на втором этапе (после экстракции токсических веществ органическим растворителем из водной фазы). Если фоновое поглощение

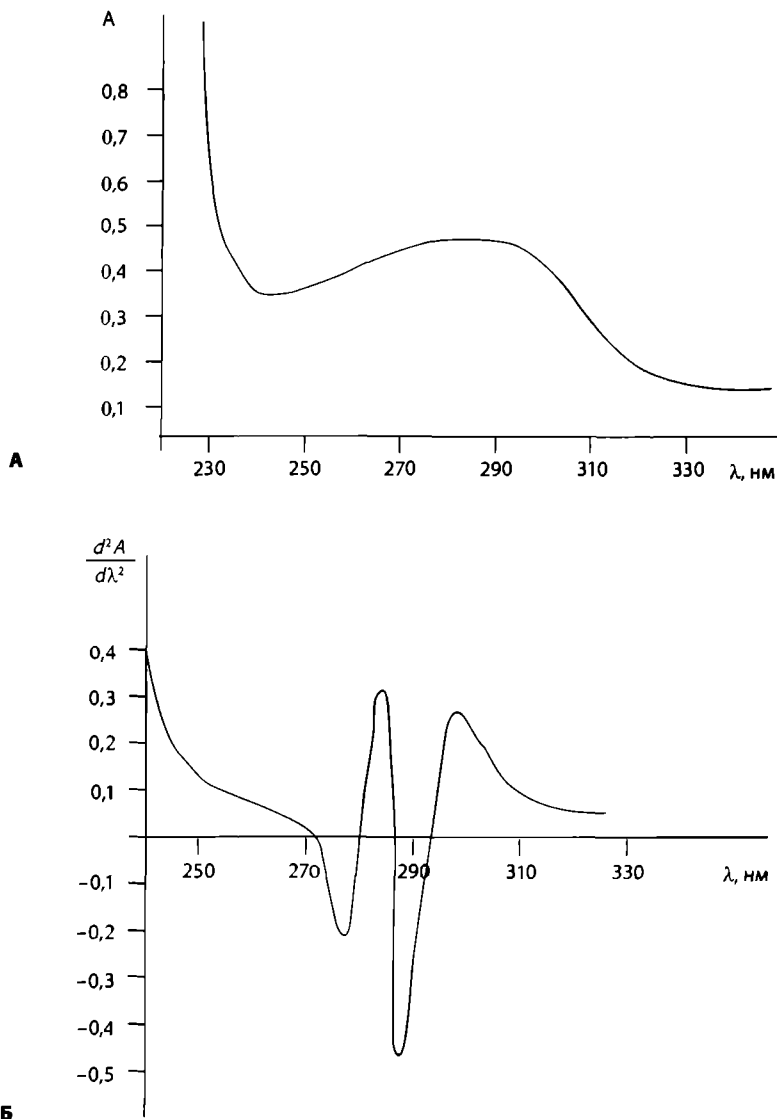


Рис. 19. Спектр поглощения (А) и график 2-й производной спектра поглощения (Б) 2-метил-4-хлороксиуксусной кислоты в извлечении из гнилостно-разложившихся органов

остается достаточно высоким, то по характеру спектра не всегда удается идентифицировать вещество.

На кафедре токсикологической химии Пятигорской государственной фармацевтической академии разработана методика, позволяющая значительно уменьшить это влияние при определении производных арилоксиалканкарбоновых кислот и некоторых алкалоидов в биологических объектах.

С этой целью регистрируют спектр поглощения извлечения из объекта в области длин волн 200–380 нм и рассчитывают его вторую производную, что позволяет исключить влияние линейного фона на результаты анализа. На графике производной спектра поглощения исследуемого объекта удается четко обнаружить минимумы, которые соответствуют максимумам поглощения исследуемого соединения. Установлено, что пред-

ложенный способ устранения влияния «фонового поглощения» применим при анализе объектов, подвергшихся гнилостному разложению.

В качестве примера приведен случай обнаружения гербицида 2-метил-4-хлорфеноксиксусной кислоты в гнилостно-разложившихся органах. После извлечения яда и очистки вытяжки спектр поглощения не имел характерных полос поглощения с максимумами при 278 и 289 нм (см рис. 19А).

На второй производной спектра минимумы при 278 и 289 нм соответствуют максимумам, характерным для указанного гербицида (см. рис. 19Б).

7.2.3. Хромато-масс-спектрометрия

Масс-спектрометрия, масс-спектральный анализ – метод анализа веществ путем определения массы (чаще отношения массы к заряду m/z) и относительного количества ионов, получаемых при ионизации исследуемых веществ или уже присутствующих в изучаемой смеси. Совокупность значений m/z и относительных величин токов этих ионов представляет собой график, который называют масс-спектром вещества.

С помощью масс-спектрометрии можно измерить точную молекулярную массу органического соединения, рассчитать элементный состав, установить химическое и пространственное строение, изотопный состав, провести качественный и количественный анализ сложной смеси.

При ионизации органической молекулы образуется ион, в котором далее происходят процессы гетеро- и гомолитического разрыва связей с образованием осколочных ионов, которые также подвергаются дальнейшему распаду. Направление распада – важная характеристика каждого класса соединений. Совокупность всех направлений распада составляет характерную для каждого органического соединения схему фрагментации. Если масс-спектр прост, схема фрагментации сводится к одному пути распада. Например, при распаде иона CH_3OH^+ последовательно образуются ионы $\text{CH}_2=\text{OH}^+$ и $\text{H}-\text{C}\equiv\text{O}^+$. В случае сложных масс-спектров схема фрагментации отвечает многим, часто перекрывающимся направлениям распада.

Полученный масс-спектр сравнивают со спектром из каталога. Это быстрый, простой способ структурного анализа и идентификации веществ. Он используется для определения загрязнений окружающей среды, контроля продуктов питания, при изучении процессов метаболизма, в криминалистике, а также при анализе биологических объектов на неизвестное ядовитое соединение.

В настоящее время используется сочетание хроматографического и масс-спектрометрического методов. Этот метод получил название хромато-масс-спектрометрии. С помощью хроматографии происходит разделение смеси на отдельные компоненты. С помощью масс-спектрометрии проводят обнаружение и количественное определение разделенных веществ смеси.

Хромато-масс-спектрометры выпускаются в двух вариантах – в комбинации с газовым или газожидкостным хроматографом (соответственно ГХ или ГЖХ) для анализа веществ, находящихся в газовой фазе или в комбинации с высокоэффективным жидкостным хроматографом для анализа труднолетучих, полярных и термолабильных веществ.

Если в лаборатории имеется только комплект ГХ – масс-спектрометр, то при анализе малолетучих (барбитураты и др.), полярных соединений и их метаболитов (опиаты и др.) для использования метода необходима *дериватизация* исследуемых веществ. Дериватизация позволяет исключить потери веществ из-за низкой летучести или сильной полярности. При анализе полярных соединений за счет дериватизации вещества превращаются в менее полярные и более летучие. Для дериватизации используют реакции различных типов. В основном это:

- ацетилирование: $\text{R}-\text{O}-\text{H} \rightarrow \text{R}-\text{O}-\text{CO}-\text{CH}_3$;
- ацилирование: $\text{R}-\text{OH} \rightarrow \text{R}-\text{O}-\text{CO}-\text{C}_2\text{F}_5$;
- силилирование: $\text{R}-\text{OH} \rightarrow \text{R}-\text{O}-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$.

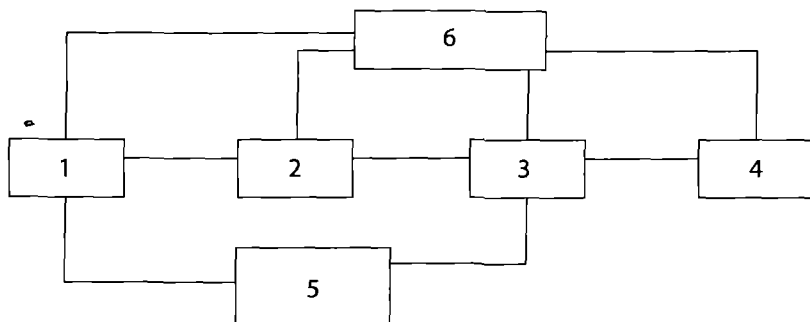


Рис. 20. Схема устройства хроматомасс-спектрометра 1 – ГЖХ или ВЭЖХ, 2 – ионный источник для ионизации введенных веществ, 3 – масс анализатор для деления анализируемых веществ по массам, 4 – система регистрации силы тока, 5 – откачное устройство для предотвращения рассеивания образующихся ионов (высокий вакуум), 6 – электронная аппаратура для усиления и измерения ионных токов и записи хроматограмм

Дериватизацию проводят в герметически закрытых сосудах, снабженных завинчивающимися крышками, или в сосудах с пробками, которые герметично запечатывают с помощью алюминиевых колпачков. В этих сосудах экстракт из мочи упаривают или в них переносят сухой остаток с помощью небольшого объема органического растворителя, который также упаривают досуха. К сухому остатку, содержащему исследуемые вещества, добавляют реагент, не допуская попадания воды, чтобы исключить гидролиз дериватов. Реакция проходит обычно в течение 5–60 мин при температуре менее 100°C. После охлаждения сосуды вскрывают и 1–2 мкл реакционной смеси вносят в инжектор хроматографа.

Наиболее устойчивыми являются ацетилированные производные (реагент: уксусный ангидрид – пиридин, 1:1). Они сохраняют стабильность в реакционной среде при комнатной температуре 48–72 ч. В результате дериватизации появляется возможность более точного определения площадей пиков, форма которых становится более симметричной, и повышается чувствительность определения.

Хроматомасс-спектрометр представляет собой сложный прибор, включающий ионо-оптическую, высоковакуумную системы, электронную аппаратуру для усиления и измерения ионных токов, а также хроматографический узел для разделения смеси. Блок-схема хроматомасс-спектрометра показана на рисунке 20.

Исследуемую пробу вводят в хроматограф, где происходит разделение смеси веществ. Поток разделенных веществ в газом-носителем проходит через специальный сепаратор, который отделяет газ-носитель от вещества. Затем исследуемое соединение попадает в ионизационную камеру масс-спектрометра. В этой камере частицы веществ ионизируются и поступают в масс-анализатор, где они делятся по массам. Относительные значения сил токов, возникающих за счет ионов с разной массой, измеряются системой регистрации. Масс-спектр смеси веществ представляет собой ряд последовательно расположенных пиков веществ. Деление веществ по массам в анализаторе осуществляется под действием магнитного поля (чаще однородного). При прохождении пучка ионов через магнитное поле ионный пучок фокусируется на щель приемника. В процессе фокусировки пучок ионов с массой m отделяется от ионов с массой $m + \Delta m$. Этот процесс происходит в плоскости щели приемника на расстоянии, которое определяется величиной дисперсии (или разделяющей способности) прибора.

Таким образом, *разрешающая сила хроматомасс-спектрометра – это мера его способности разделять два иона с определенной разницей их масс.*

Детектор (регистрирующее устройство) в приборе осуществляет регистрацию электрических сигналов в определенной последовательности. В современных приборах цифровая регистрация и обработка информации проводится с помощью ЭВМ. Прибор записывает полный спектр и проводит обработку нескольких десятков, а иногда и сотен масс-спектров с сотней пиков в каждом из них с одновременной расшифровкой самого

спектра. Непрерывная запись полного ионного тока в течение всего времени хроматографического разделения представляет собой хроматограмму смеси. В момент появления максимумов на хроматограмме масс-спектрометр быстро записывает полный масс-спектр каждого компонента с интервалом в 1–2 с. *Масс-спектр является качественной характеристикой разделяемой смеси и позволяет идентифицировать ее компоненты (предел обнаружения веществ 10^{-12} г/мл).*

Идентификация веществ, выделенных из биологического объекта, проводится по времени удерживания и соответствующему каждому пику на хроматограмме масс-спектру с определенной величиной отношения массы иона к его заряду. Например, в процессе анализа гашиша при определении каннабиноидов из масс-спектра были выделены характерные отношения масса/заряд 231, 314 и 299. В результате обнаружены 2 вещества, имеющие время удерживания 7,55 и 8,31 мин. Эти вещества были идентифицированы по атласу известных масс-спектров как каннабидиол и тетрагидроканнабинол соответственно (Еремин С. К.)

Хроматомасс-спектрометрия является универсальным методом, позволяющим работать с весьма сложными смесями, содержащими всего 10^{-10} – 10^{-14} г/мл определяемого компонента, что в миллиарды раз меньше требуемых количеств вещества для обычных масс-спектрометров. Это особенно ценно для определения следовых количеств ядовитых веществ в биологических жидкостях, волосах и в трупном материале.

7.2.4. Люминесцентный метод анализа

Этот метод основан на явлении люминесценции. Наибольшее распространение получил анализ, основанный на люминесценции, возбуждаемой УФ-излучением. Для этой цели применяют ртутно-кварцевую лампу типа ПРК и светофильтры УФС-3 и УФС-4, которые почти полностью поглощают видимый свет, но пропускают ультрафиолетовый.

По характеру люминесцентного свечения различают *фосфоресценцию* – свечение, продолжающееся более или менее длительное время после отключения источника возбуждения свечения и *флуоресценцию* – свечение, прекращающееся сразу после удаления источника возбуждения.

Интенсивность флуоресценции зависит от присутствия в растворе посторонних веществ. Некоторые вещества способны гасить ее, и в их присутствии интенсивность флуоресценции падает. Например, присутствие ионов хлора значительно ослабляет флуоресценцию хирина. Некоторые вещества вызывают усиление флуоресценции, например серная кислота. Способность некоторых ядовитых веществ флуоресцировать используется в химико-токсикологическом анализе с целью их обнаружения. Эта реакция отличается высокой чувствительностью.

Если органическое соединение обладает кислотными или основными свойствами, его люминесценция меняется в зависимости от pH среды. Например, в кислой среде в присутствии серной кислоты хинин имеет голубую флуоресценцию, в щелочной среде (pH=9) хинин флуоресцирует фиолетовым цветом. Продукты окисления хирина имеют желто-зеленую флуоресценцию.

Флуоресценция используется для обнаружения пахикарпина. Продукты его окисления флуоресцируют красно-оранжевым цветом. Для секуринина характерна желто-коричневая флуоресценция.

Способность ядовитых веществ флуоресцировать или поглощать УФ-лучи используется при определении в биологических объектах лекарственных и наркотических веществ с помощью хроматографии в тонком слое сорбента. При облучении пластинки УФ-излучателем возможно обнаружение некоторых ядовитых веществ. Флуоресцировать могут и трупные яды, выделяемые из объекта вместе с веществами кислотного и основного характера. Например, при облучении УФ-лучами норгарман дает темно-синюю флуоресценцию, триптамин – желто-зеленую. Поэтому использование люминесцентного анализа сочетается с применением других подтверждающих способов и реакций обнаружения

Люминесцентный метод широко используется также в иммунохимическом анализе для обнаружения и определения многих лекарственных и наркотических веществ

7.2.5. Микрорентгенографический метод

Этот метод основан на образовании характерных кристаллических осадков при действии небольших количеств реактивов на каплю анализируемого раствора на предметном стекле. Полученный осадок исследуют под микроскопом с увеличением в 60 и более раз. Определяют форму кристаллов, их цвет, размер. Кристаллы характерной формы образуются при медленной кристаллизации из разбавленных растворов. Если концентрация вещества большая или в растворе присутствуют примеси эндогенных соединений, форма кристаллов может искажаться, и идентификация вещества затрудняется. В химико-токсикологическом анализе рекомендуется использовать поляризационный микроскоп и определять кристаллографические и кристаллооптические характеристики кристаллов (углы между гранями, показатель преломления, угол погасания, знак удлинения, плеохроизм и др.) для более надежной идентификации веществ. В ряде случаев для характеристики внешней формы кристаллов в химико-токсикологическом анализе употребляют термины, которые не приняты в кристаллографии. Например: *«сростки кристаллов в виде летящих птиц»*, *«кристаллы, напоминающие дубовые листья»*, *«густые сростки кристаллов»*, *«чечевицеобразные кристаллы»* и т.д. Микрорентгенографический анализ используют обычно как подтверждающий на завершающем этапе исследования, когда исследуемое вещество в объекте уже установлено другими реакциями и методами. По образованию осадков и кристаллов характерной формы подтверждают обнаружение многих токсикологически важных соединений.

Например.

- **производные барбитуровой кислоты** идентифицируют и различают между собой по образованию характерных кристаллов с помощью следующих реакций:
 - выделение кислотной формы барбитурата;
 - с хлорцинкйодом;
 - с меднопиридиновым реактивом (реакция Цвиккера);
 - с железойодидной комплексной солью;
 - с медноййодидной комплексной солью;
 - с реактивом Г.Ф. Лозовой, содержащим растворы йодида калия, этиловый спирт и серную кислоту и др.;
- **некоторые алкалоиды и вещества основного характера** образуют характерные кристаллические осадки с реактивами:
 - Драгендорфа;
 - с солью Рейнеке $\text{NH}_4 [\text{Cr} (\text{NH}_3)_2 (\text{SCN})_4]$;
 - с пикриновой кислотой;
 - с реактивом Бушарда;
 - с хлоридом ртути(II);
 - ализариновым красным;
 - роданидом кобальта и др.;
- **некоторые «металлические» яды** образуют характерной формы кристаллы при проведении подтверждающих реакций:
 - перекристаллизации из серной кислоты;
 - образования тройной соли гексанитрита калия, свинца и меди;
 - с солями цезия и йодида калия;
 - с хлоридами золота и рублидия;
 - с бруцином и бромидом калия;
 - с тетрароданомеркуратом аммония;
 - образование оксида мышьяка и др.

7.2.6. Фармакологические (физиологические) пробы

Такие испытания проводятся на некоторые ядовитые вещества, которые при воздействии на организм животных вызывают характерные физиологические реакции. Если в ходе химико-токсикологического анализа в исследуемых объектах обнаружены такие алкалоиды, как атропин, кокаин, вератрин, никотин, стрихнин, то в качестве подтверждающего способа используют фармакологические пробы. С этой целью выделенные из объекта алкалоиды хорошо очищают с помощью соответствующих методов (о них мы говорили ранее) и испытывают на животных.

Атропин, кокаин при введении в глаз кошки вызывают расширение зрачка (рис. 21).

При нанесении очищенного экстракта из объекта, содержащего никотин, вератрин, на спинку лягушки она принимает характерную позу (рис. 22 и 23).

При нанесении на спинку лягушки экстракта из объекта, содержащего стрихнин, появляются тетанические судороги сначала от прикосновения к лапкам, затем при сотрясении или ударе. Наконец лягушка вытягивается и погибает в характерной позе (рис. 24).

Фармакологические испытания чаще всего поручаются соответствующему специалисту – фармакологу. *При совпадении результатов фармакологического испытания и химико-токсикологического анализа заключение об обнаружении в объекте атропина, кокаина, никотина, вератрина или стрихнина становится более достоверным.*



Рис. 21. Реакция глаза кошки при введении извлечения из объекта, содержащего атропин.



Рис. 22. Реакция лягушки при нанесении на спинку извлечения из исследуемого объекта, содержащего никотин (по М.Д.Швайковой).

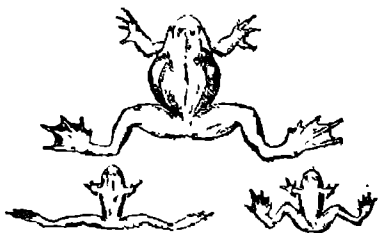


Рис. 23. Реакция лягушек при нанесении на их спинку извлечения из объекта, содержащего вератрин (по А.В.Степанову).

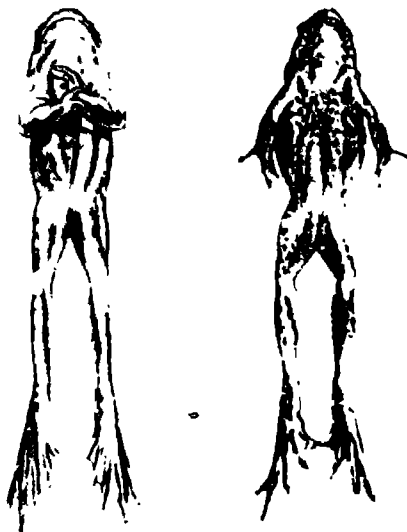


Рис. 24. Реакция лягушек при отравлении стрихнином и нанесении на их спинку извлечения из исследуемого объекта (по М.Д.Швайковой).

7.2.7. Фармакогностический анализ

В случае обнаружения в содержимом желудка, рвотных массах частей растений, грибов, семян, кусочков индийской конопли проводится фармакогностический анализ. После химического анализа биологического объекта или параллельно с ним проводится исследование инородных включений растительного происхождения с использованием приемов и методов фармакогностического анализа. В этом случае химик консультируется со специалистом (фармакогностом) или передает ему изъятые части растений для проведения микроскопического анализа. По характерным признакам (волоскам, железкам, друзам, пылинкам, особым клеткам и др.) делается заключение о принадлежности изъятых из объекта включений к определенным видам растений (рис 25–27).

В сочетании с данными химического анализа делается заключение, явились ли инородные включения причиной отравления или нет. Фармакогностический анализ особенно важен при определении принадлежности частей растений и кустарно изготовленных из них психотропных и сильнодействующих средств к наркосодержащим.

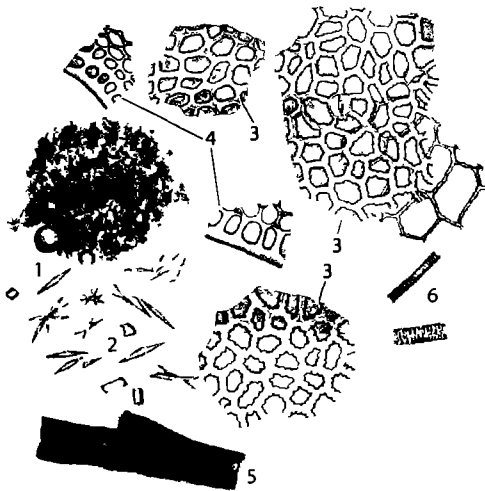


Рис. 25. Элементы порошка опия ($\times 280$) (по А А Долговой, Е Я Ладыгиной) 1 – сгустки млечного сока, 2 – кристаллы молочного сахара, 3 – обрывки эпидермиса плода, 4 – фрагмент плода в поперечном сечении, 5 – обрывок млечного сосуда, 6 – обрывки сосудов ксилемы

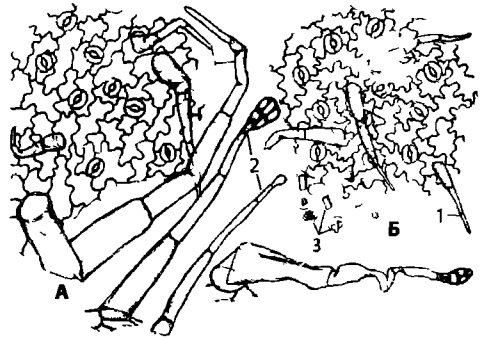


Рис. 26. Препарат листа белены с поверхности ($\times 280$) (по А А Долговой, Е Я Ладыгиной) А – эпидермис верхней стороны листа, Б – эпидермис нижней стороны листа, 1 – простые волоски, 2 – головчатые волоски, 3 – кристаллы оксалата кальция

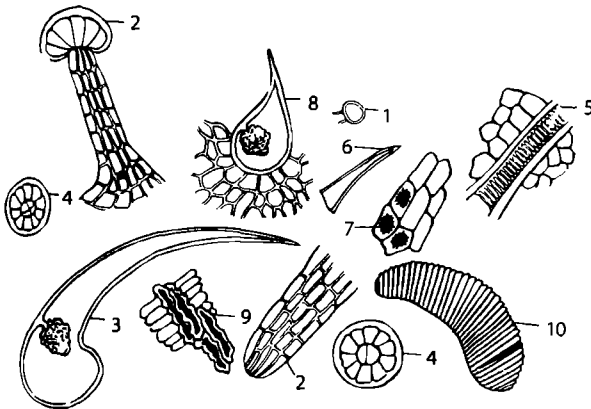
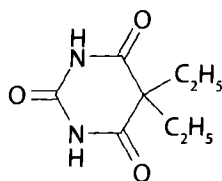
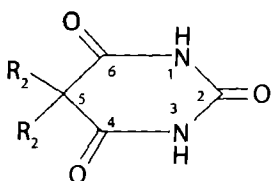


Рис. 27. Смола индийской конопли под микроскопом (по М Д Швайковой) 1 – железистые волоски с одноклеточной головкой, 2 – многоклеточные ножки, 3 – волоски со вздутым основанием, 4 – круглые сидячие железки, 5 – обрывок сосуда с млечниками, 6 – бородавчатые волоски эпидермиса стебля, 7 – обрывок мезофилла с друзами оксалата кальция, 8 – простые короткие волоски с вздутым основанием, 9 – обрывок механического слоя плода, 10 – пылинки

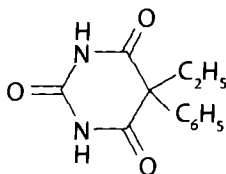
Глава 8. ОБНАРУЖЕНИЕ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ И НАРКОТИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

В результате скрининговых исследований химик приступает к выявлению и определению конкретного токсического вещества.

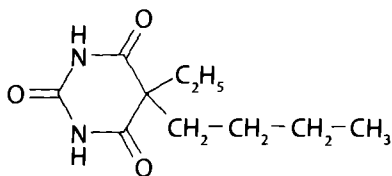
8.1. Производные пириимидин-2,4,6-триона (барбитураты)



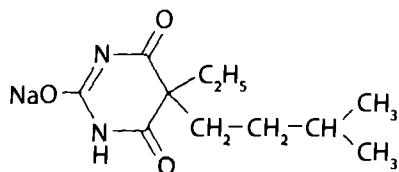
барбитал
5,5-диэтилбарбитуровая кислота



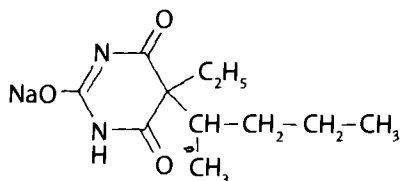
фенобарбитал
5-этил-5-фенилбарбитуровая кислота



бутобарбитал
5-этил-5-н-бутилбарбитуровая кислота



барбитал
(амобарбитал)
5-этил,5-изоамилбарбитурат натрия



этаминал-натрий
5-этил-5-метилбутилбарбитурат натрия

Токсикологическое значение. Впервые снотворное действие барбитуратов было обнаружено в начале XX в. Э.Фишером и Ф.Мерингом. В 1904 г. Э.Фишером был получен барбитал. В последующие годы было синтезировано большое число производных барбитуровой кислоты и изучена связь между химическим строением и действием на организм.

Важным действием барбитуратов на организм является угнетение центральной нервной системы. Этот процесс избирательно захватывает кору головного мозга и центры ствола мозга. С лечебной целью производные барбитуровой кислоты находят применение в медицинской практике в качестве снотворных и успокаивающих средств. По продолжительности сна, вызываемого барбитуратами, их делят на 3 группы: длительного действия (барбитал, фенобарбитал); средней продолжительности действия (бутобарбитал, барбамил, этаминал-натрий); короткого действия (тексенал).

В настоящее время в медицинской практике находят применение барбитал и фенобарбитал. Барбитал назначают внутрь перед сном по 0,25–0,5 г, фенобарбитал – по 0,1–0,2 г. Фенобарбитал в качестве снотворного средства применяется редко. Его чаще используют как противосудорожный препарат в дозе 0,01–0,03 г 2–3 раза в день. Фенобарбитал входит в состав некоторых готовых лекарственных форм «Пенталгин», «Андипал», «Беллатаминал», «Теофедрин», «Корвалол», «Валокордин», «Барбовал» и др.

Этаминал-натрий и барбамил исключены из Государственного реестра лекарственных средств РФ и перенесены в «Список наркотических и психотропных средств, оборот которых в РФ ограничен».

Бутобарбитал, барбитал и некоторые другие барбитураты используются как вспомогательные средства при общей анестезии и при судорожных состояниях. Бутобарбитал входит в состав сложной лекарственной формы «Беллоид».

Известно развитие пристрастия к барбитуратам и синергизма при приеме их с другими препаратами. Злоупотребление барбитуратами приводит к наркомании (особенно барбамила и этаминал-натрия). Картина опьянения напоминает по внешним признакам алкогольное опьянение: приятное ощущение состояния эйфории, общего благополучия. Позже наступает оглушенность, сонливость, вплоть до комы. Состояние барбитуровой абстиненции развивается на следующие сутки и характеризуется мрачным настроением, тревогой, кишечными коликами, атаксией, тремором рук, судорогами, психической опустошенностью. Резко меняется соматическое состояние, наступает одряхление, снижается давление. Характерны неврологические расстройства – дрожание, атаксическая походка, ослабление многих рефлексов. При барбитуровой наркомании возникают психозы, подобные алкогольным, с наплывом зрительных и слуховых галлюцинаций угрожающего характера. Длительность стадии – 2–3 сут. Возможны сумеречные расстройства сознания, связанные с абстиненцией, судорожные припадки, доходящие до эпилептического статуса при отнятии барбитуратов. Отравления барбитуратами встречаются относительно редко. Чаще эти препараты используются с целью самоубийства. Большинство острых отравлений барбитуратами имеют сходную клиническую картину и характеризуются незначительными морфологическими изменениями. Клиническое течение отравления связано с принятой дозой вещества и чувствительностью организма. Токсические дозы барбитуратов вызывают первоначально наркотическое опьянение, затем коматозное состояние, которое осложняется сердечно-сосудистой или дыхательной недостаточностью. Тяжелые отравления характеризуются глубокой комой, редким поверхностным дыханием, слабым пульсом, цианозом. Зрачки у пострадавшего узкие, не реагирующие на свет. В заключительной стадии отравления, вследствие поражения дыхательного центра, дыхание становится неравномерным, после чего наступает его остановка.

Токсическое действие барбитуратов усиливают наркотики, алкоголь, транквилизаторы. Токсическими дозами для барбитала считают 3–4 г, для барбамила – 1–3 г, для фенобарбитала – 0,6–1 г; смертельными – 6–10, 4–6 и 4–10 г соответственно (М.Д.Швайкова).

Патологоанатомическая картина при отравлении барбитуратами нехарактерна. При вскрытии в головном мозге обнаруживают точечные кровоизлияния, дегенеративные изменения и некрозы в подкорковых центрах. В ряде случаев на коже обнаруживают характерные пузырьки различной величины с резко очерченными границами, наполненные желтовато-коричневой жидкостью. Эти пузырьки появляются в течение 24 ч после приема яда, что связано с токсическим поражением капилляров кожи.

Данные о сохраняемости барбитуратов в трупe разноречивы. Часть авторов считают, что барбитал способен сохраняться в трупe около 1 мес., другие утверждают, что этот срок составляет 1–2 г. Н.А.Горбачева и А.Ф.Рубцов указывают, что барбитал способен сохраняться в трупном материале до 3 лет.

Обычно барбитураты принимают перорально в виде таблеток, порошков. Большинство барбитуратов всасываются в ЖКТ достаточно быстро, фенобарбитал всасывается относительно медленно, его биодоступность составляет 80%. Барбитураты способны кумулироваться в организме, и их длительное применение может привести к острым отравлениям, особенно при недостаточной функции почек.

В организме человека барбитураты подвергаются различным процессам метаболизма. Барбитал, бутобарбитал и фенобарбитал метаболизируют на 15%, этаминал и барбамил – на 90%. Остальная часть выводится почками в неизмененном виде.

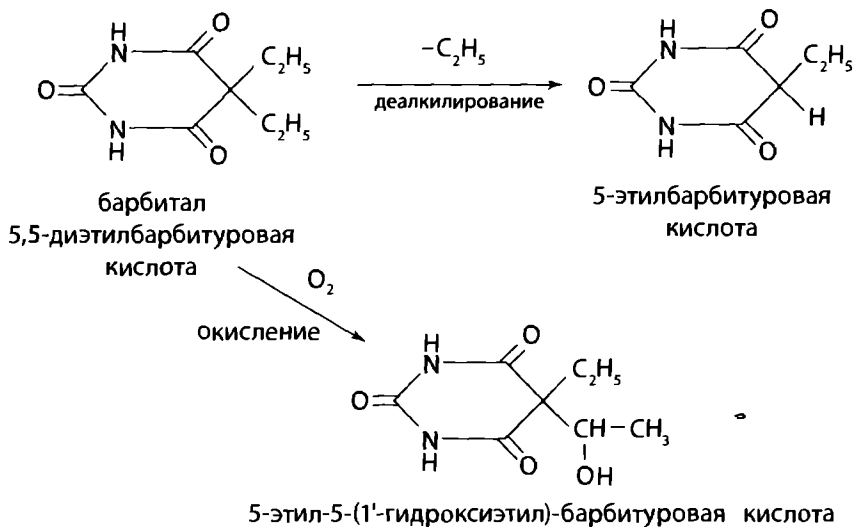
В I фазе метаболизма барбитал отщепляет этильный радикал и окисляется с образованием спиртового гидроксила у алкильного радикала в 5 положении. Фенобарбитал в I фазе метаболизма окисляется с образованием парагидроксипроизводного фенольного радикала. Этаминал-натрий, бутобарбитал и барбамил окисляются в I фазе метаболизма с образованием гидроксид- и карбоксипроизводных в алкильных радикалах в положении 5.

Во II фазе метаболизма образуются конъюгаты нативных барбитуратов и их окисленных производных с глюкуроновой кислотой.

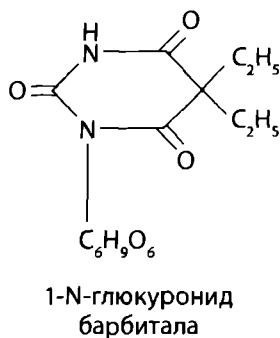
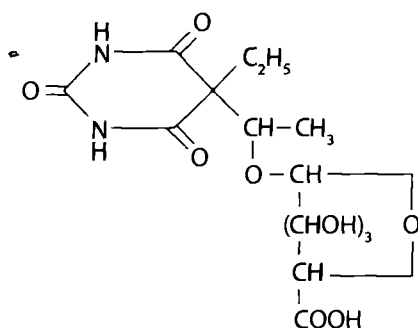
Пути метаболизма производных барбитуровой кислоты

Барбитал

I фаза



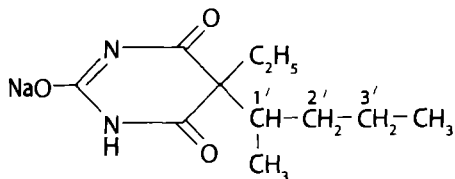
II фаза – образование глюкуронидов



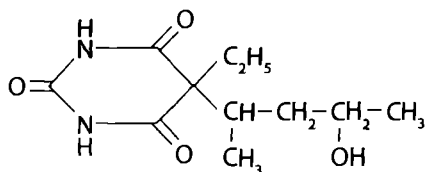
глюкуронид 5-этил-5-(1'-гидроксиэтил)-барбитуровой кислоты

Этаминал-натрий

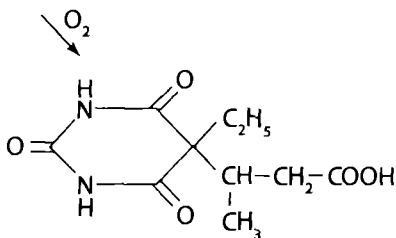
I фаза – окисление



5-этил-5-(1'-метил-бутил)-барбитурат натрия

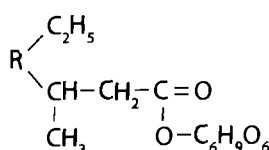
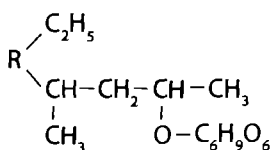


5-этил-5-(1'-метил-3'-гидроксибутил)-барбитуровая кислота



5-этил-5-(1'-метил-2'-карбоксиил)-барбитуровая кислота

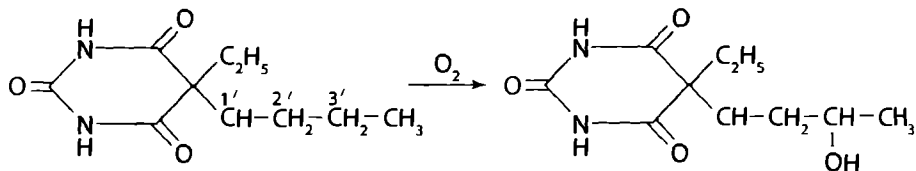
II фаза – образование глюкуронидов



O-глюкурониды производных этаминала

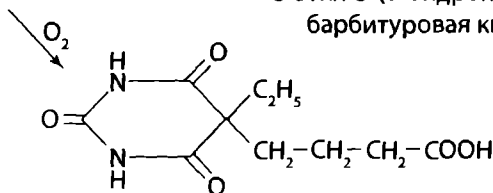
Бутобарбитал

I фаза – окисление



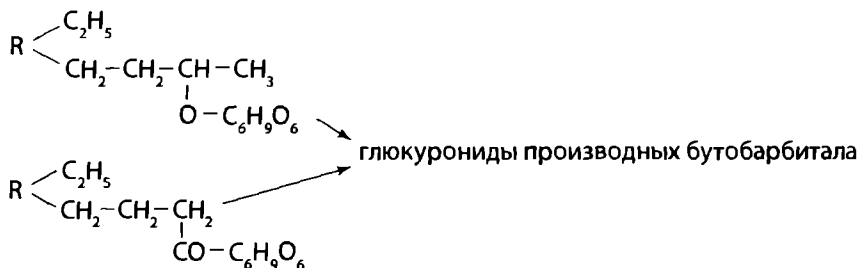
5-этил-5-н-бутилбарбитуровая кислота

5-этил-5-(3'-гидроксибутил)-барбитуровая кислота



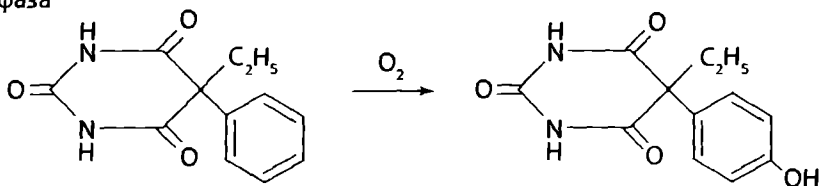
5-этил-5-(3'-карбоксипропил)-барбитуровая кислота

II фаза – образование глюкуронидов



Фенобарбитал

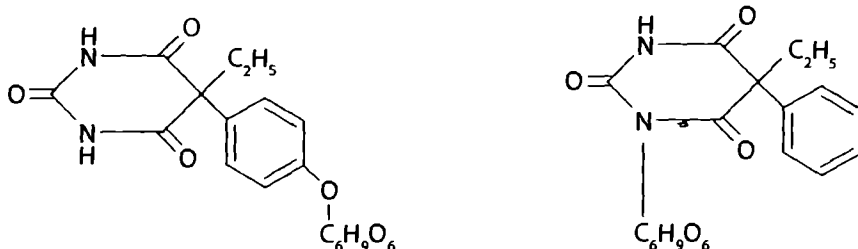
I фаза



5-этил-5-фенил-барбитуровая кислота

5-этил-5-парагидрокси-фенил-барбитуровая кислота

II фаза – образование глюкуронидов

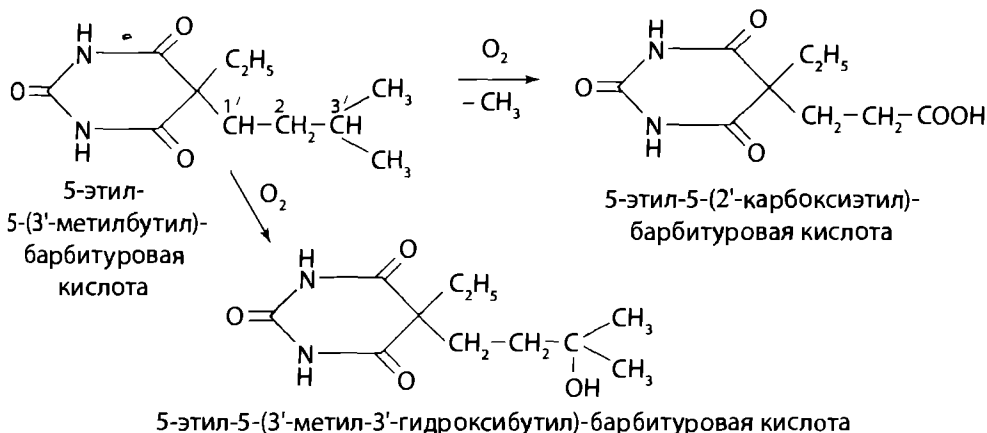


глюкуронид 5-этил-5-(4'-гидроксифенил)-барбитуровой кислоты

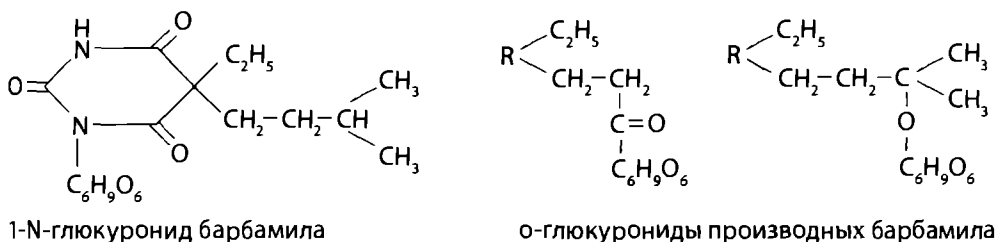
1-N-глюкуронид фенобарбитала

Барбитил

I фаза



II фаза – образование глюкуронидов

**Методы определения барбитуратов в биологических объектах****Объекты анализа:**

- трупный материал (внутренние органы),
- биологические жидкости (кровь, моча),
- лекарственные препараты

Свойства барбитуратов. Барбитураты – белые кристаллические вещества без запаха. Они практически нерастворимы или малорастворимы в воде, растворимы в этиловом спирте, диэтиловом эфире, этилацетате, в растворах щелочей, мало растворимы в хлороформе. Барбитураты обладают слабыми кислотными свойствами. Значения показателя константы ионизации представлены в таблице 15. Некоторые барбитураты выпускаются в виде натриевых солей, которые по растворимости отличаются от других барбитуратов, но условия извлечения из кислой или щелочной среды обычно уравнивают это свойство.

Таблица 15

Значения рКа для производных барбитуровой кислоты

Барбитурат	рКа
Барбитал	7,97
Барбитил*	7,96
Фенобарбитал	7,45
Этаминал*	8,20

* В виде кислотной формы

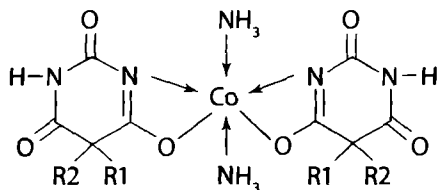
Характерным свойством барбитуратов является их способность возгоняться без разложения, что часто используется с целью очистки извлечений из биологических объектов (см. раздел 6.4).

Для анализа используют хлороформный (эфирный) экстракт, полученный из водной вытяжки из объекта при $\text{pH}=2$. Анализ на производные барбитуровой кислоты проводят, если при ТСХ-скрининге на пластинке получены пятна сине-фиолетового цвета при детектировании солями ртути(II) и раствором дифенилкарбазона в хлороформе (см. раздел 7.1.2).

Для обнаружения индивидуальных веществ используют тонкослойную хроматографию в частной системе растворителей, химический метод, высокоэффективную жидкостную хроматографию, УФ-спектрофотометрию, ИК-спектроскопию, газовую хроматографию и сочетание газовой хроматографии с масс-спектрометрией.

Химический метод основан на применении реакций комплексообразования и микрокристаллоскопических реакций.

Реакция с аммиачным раствором нитрата кобальта. К части остатка после испарения хлороформного (эфирного) экстракта, помещенного в фарфоровую чашку, добавляют с помощью стеклянной палочки смесь из 1% спиртового раствора ацетата кобальта и 25% раствора аммиака в соотношении 1:1. При наличии в остатке производных барбитуровой кислоты появляется красно-фиолетовое окрашивание.



Оценка. Реакция чувствительна. Имеет судебно-химическое значение при отрицательном результате.

Реакция обнаружения кислотной формы барбитуратов. На предметное стекло накладывают экстракт путем его последовательного испарения. Полученный сухой остаток растворяют в капле концентрированной серной кислоты. Рядом наносят 1 каплю воды очищенной, после чего обе капли осторожно соединяют с помощью тонкой стеклянной палочки. Через 10–20 мин (иногда через 60 мин и даже через 3 сут.) при хранении стекла во влажной камере наблюдают образование кристаллического осадка (под микроскопом) с характерной для каждого барбитурата формой кристаллов.

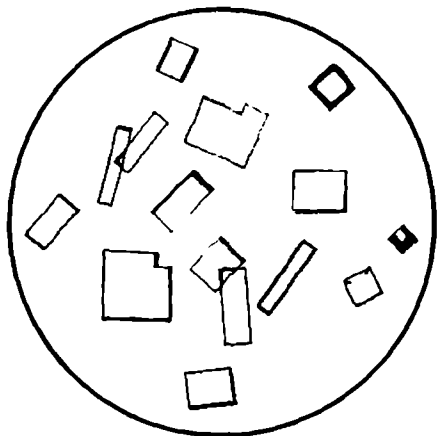


Рис. 28. Кислотная форма барбитала.

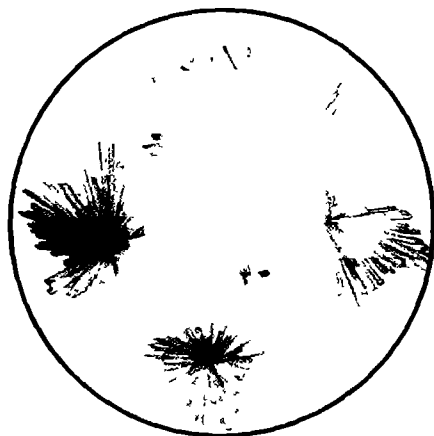


Рис. 29. Кислотная форма феиобарбитала

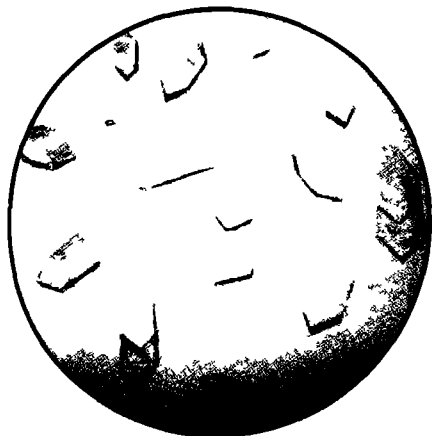


Рис. 30. Кислотная форма барбитамил

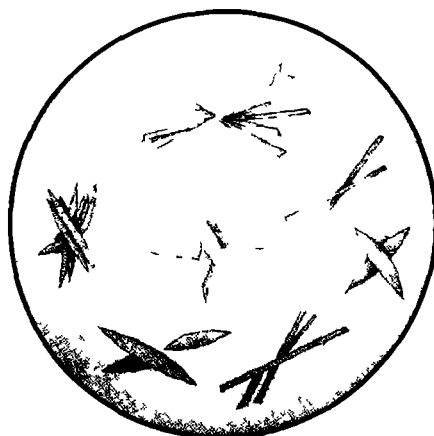


Рис. 31. Кислотная форма этаминала

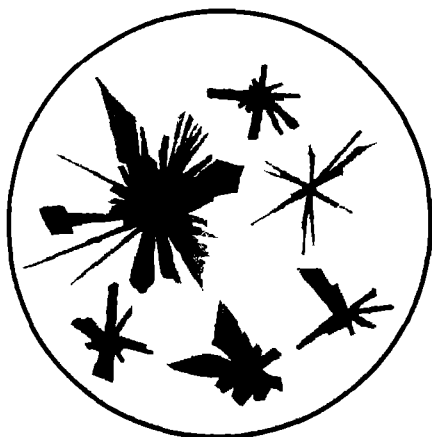


Рис. 32. Кристаллы этаминала с хлорцинкйодом

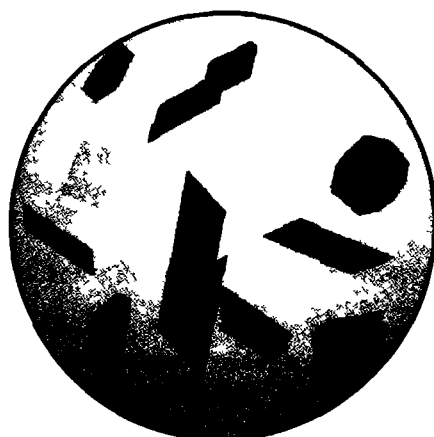


Рис. 33 Кристаллы барбитала с хлорцинкйодом

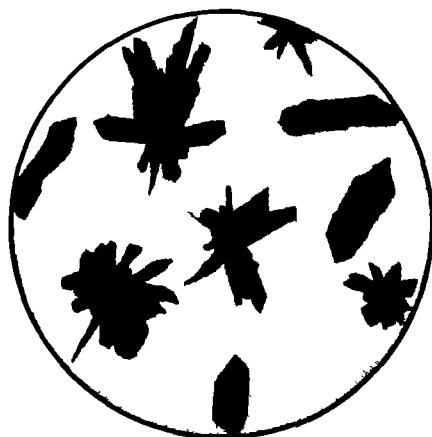


Рис. 34. Кристаллы барбитамил с хлорцинкйодом

Барбитал кристаллизуется в виде бесцветных прозрачных прямоугольных призм (рис 28) Фенобарбитал образует сфериды и сростки в виде «снопов», «ежей», состоящих из тонких бесцветных игольчатых кристаллов (рис 29) Барбитамил образует про-

Пределы обнаружения барбитуратов по реакции выделения кислотной формы

Барбитурат	Предел обнаружения, мкг	При разведении или в пробе
Барбамил	21,0	6.10 000
Барбитал	80,0	6.1000
Бутобарбитал	16,0	в пробе
Фенобарбитал	41,0	3.1000
Этаминал	50,6	5:1000

Предел обнаружения барбитуратов по реакции с хлорцинкйодом

Барбитурат	Предел обнаружения, мкг	При разведении или в пробе
Барбамил	7,0	1.5000
Барбитал	4,0	3 10 000
Бутобарбитал	6,0	в пробе
Этаминал	4,0	4.10 000

зрачные шестиугольные пластинки и длинные призмы, группирующиеся в сфероиды (см. рис. 30). Этаминал кристаллизуется в виде характерных сростков из призматических кристаллов (см. рис. 31). Бутобарбитал образует осадок, состоящий из прозрачных призм и сростков из них.

Эта реакция характеризуется высокой специфичностью, но низкой чувствительностью (табл. 16).

Оценка. Реакция приемлема при относительно больших количествах барбитуратов. Кроме того, по данным некоторых авторов, многие барбитураты могут находиться в нескольких полиморфных модификациях. Поэтому необходимо учитывать возможность появления нескольких кристаллических форм одного и того же барбитурата.

Реакция с хлорцинкйодом. На предметное стекло наносят экстракт и испаряют до суха. К сухому остатку прибавляют 1 каплю раствора хлорцинкйода. Стекло помещают во влажную камеру. Через 10–15 мин наблюдают под микроскопом характерную форму образовавшихся кристаллов.

С хлорцинкйодом этаминал образует сростки из окрашенных в коричневый или оранжево-коричневый цвет призматических кристаллов (см. рис. 32). Барбитал образует прямоугольные пластинки темно-красного, зеленого, фиолетового, серо-розового цветов (см. рис. 33). Барбамил образует пластинки, окрашенные в красный, оранжевый цвет, или сростки из них (см. рис. 34). Бутобарбитал образует сростки из кристаллов в виде темно-коричневых ромбов.

Фенобарбитал с хлорцинкйодом кристаллов не образует.

Данные по чувствительности реакции с хлорцинкйодом представлены в таблице 17.

Оценка. Реакция чувствительна, является подтверждающей.

Реакция с подкисленным спиртовым раствором йодида калия (по Г.Ф.Лозовой)
На сухой остаток на предметном стекле наносят каплю реактива и помещают во влажную камеру. Через 5–10 мин наблюдают образование характерного кристаллического осадка.

Барбитал образует прямоугольные пластинки, окрашенные в красный, зеленый, серо-зеленый цвет, часто с рассеянными концами (рис. 35А). Этаминал образует оранжевые призматические кристаллы, собранные в сростки (рис. 35Б). Бутобарбитал также образует кристаллический осадок.

Оценка. Реакция чувствительна, позволяет обнаружить в пробе до 0,5 мкг барбитуратов, является подтверждающей.

Фенобарбитал и барбамил с подкисленным спиртовым раствором йодида калия кристаллического осадка не образуют.

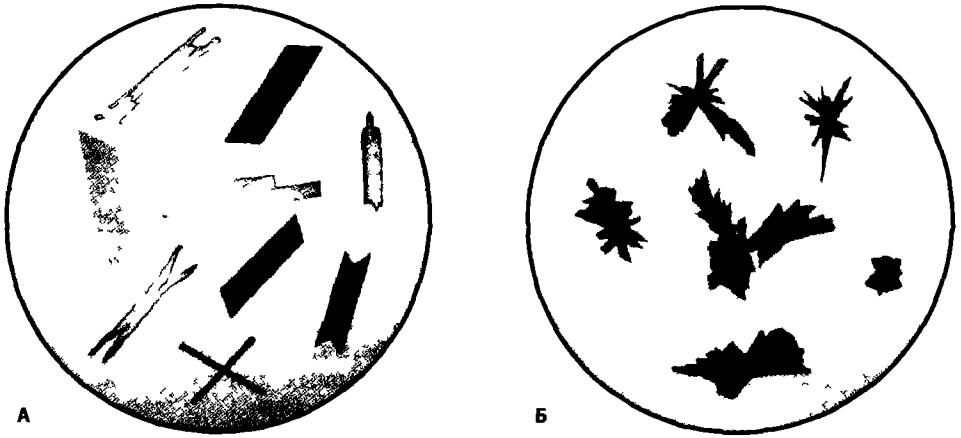


Рис. 35. Кристаллы барбитала (А) и этаминала (Б) с подкисленным спиртовым раствором йодида калия

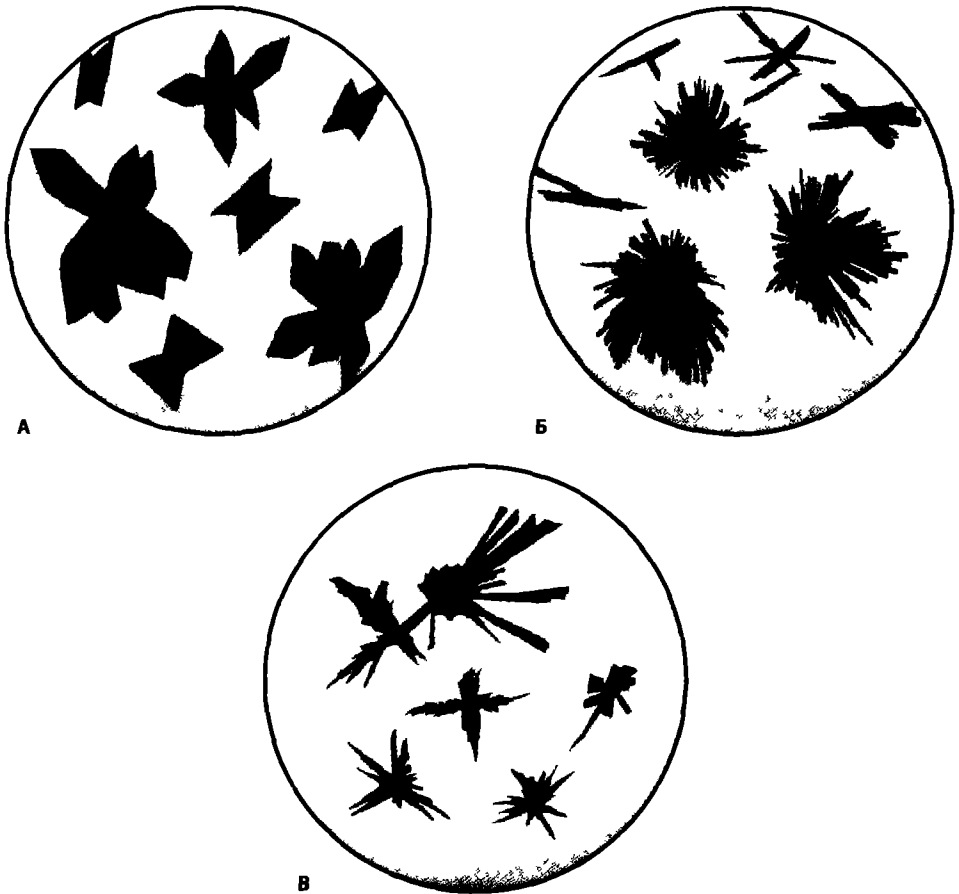


Рис. 36. Кристаллы барбамида (А), фенобарбитала (Б) и этаминала (В) с железойодидной комплексной солью

Реакция со смесью растворов хлорида железа(III) и йодида калия (железойодидной комплексной солью) На сухой остаток на предметном стекле наносят каплю реактива и стекло выдерживают во влажной камере 10–15 мин. Под микроскопом наблюдают об-

Чувствительность реакции со смесью растворов хлорида железа(III) и йодида калия для барбитуратов

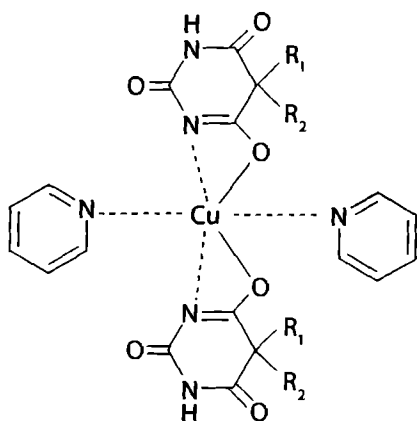
Барбитурат	Предел обнаружения, мкг	Разведение или в пробе
Барбамил	1,8	1: 20 100
Бутобарбитал	5,9	в пробе
Этаминал	0,5	1:20 000
Фенобарбитал	4,1	3:10 000

разование кристаллов в виде призм и сростков из них. Кристаллы характерной формы образуют барбамил, этаминал, фенобарбитал и бутобарбитал (см. рис. 36).

Барбитал с железойодидным реактивом характерных кристаллов не образует. Чувствительность данной реакции представлена в таблице 18.

Оценка. Реакция чувствительна, является подтверждающей.

Реакция с меднопиридиновым реактивом (реакция Цвиккера). К сухому остатку на предметном стекле прибавляют каплю 25% раствора аммиака и каплю меднопиридинового реактива. Стекло помещают во влажную камеру. Через 10–15 мин наблюдают образование сиреневого осадка. Под микроскопом наблюдают кристаллы в виде простых и сложных крестов, друз, звездочек и прямоугольников при наличии барбитала (рис. 37). Бутобарбитал образует сфероиды фиолетового цвета.



меднопиридиновый комплекс
барбитуратов

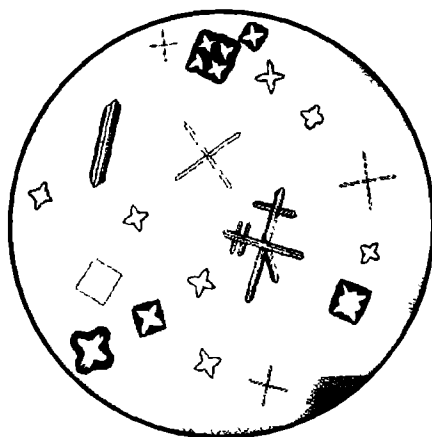


Рис. 37. Кристаллы барбитала
с меднопиридиновым реактивом.

Чувствительность реакции для барбитала составляет 13,7 мкг при разведении 8:10 000, для бутобарбитала – 16,5 мкг в пробе.

Фенобарбитал, барбамил, этаминал характерных кристаллов с меднопиридиновым реактивом не образуют.

Оценка. Реакция чувствительна, является подтверждающей.

Хроматография в тонком слое сорбента в частной системе растворителей.

Проводится в присутствии «стандартов», в качестве которых используют спиртовые растворы барбитала, фенобарбитала, барбамила, этаминал-натрия и бутобарбитала. Обнаружение ведут в условиях, описанных ранее (см. раздел 7.1.5). Идентифицируют барбитураты на хроматографической пластинке по месторасположению, окраске и значению R_f анализируемого вещества и «стандарта».

Таблица 19

Характерные частоты барбитуратов в ИК-спектре

Барбитурат	Характерные волновые числа в ИК-спектре, см ⁻¹
Барбамил	1716, 1689, 1745
Барбитал	1674, 1754, 1380, 1707
Бутобарбитал	1683, 1712, 1745
Фенобарбитал	1703, 1756, 1406
Этаминал	1685, 1719, 1744

Таблица 20

Индексы удерживания и предел обнаружения барбитуратов методом ГЖХ

Барбитурат	Индекс удерживания	Предел обнаружения в моче, мкг/мл	
		NPD	ТАД
Барбамил	1732	0,6	0,10
Барбитал	1490	0,6	0,10
Бутобарбитал	1680	0,6	0,10
Фенобарбитал	1974	0,8	0,15
Этаминал	1743	0,6	0,10

УФ-спектрофотометрия. Для регистрации УФ-спектра поглощения остаток после испарения экстракта из водной вытяжки со значением рН=2 растворяют в 5 мл воды очищенной, к которой была добавлена 1 капля 2 М раствора аммиака (рН=10), и измеряют величину светопоглощения полученного раствора в интервале длин волн 210–320 нм. В спектре обнаруживают максимум при 240 нм (лактимная форма барбитурата). При добавлении к этому раствору 1–2 капель 4 М раствора гидроксида натрия (рН=13) в спектре поглощения обнаруживают максимум при 255–260 нм (дилактимная форма барбитурата). Этот метод чувствителен, но требует тщательной очистки извлечений от присутствующих эндогенных примесей (см. разделы 6.4 и 7.2.2).

ИК-спектрометрия. Для регистрации ИК-спектра остаток после испарения хлороформа (диэтилового эфира) растирают с бромидом калия и после прессования помещают в прибор для снятия спектра. Производные барбитуровой кислоты имеют основные характерные для каждого барбитурата волновые числа в ИК спектре (табл. 19).

ГЖХ-анализ. Проводится в условиях, описанных ранее (см. раздел 7.1.6.1). Для обнаружения барбитуратов используют индексы удерживания для каждого барбитурата, представленные в таблице 20.

Газовая хроматография в сочетании с масс-спектрометрией используется для обнаружения нанограммовых количеств барбитуратов и позволяет вести анализ на фоне эндогенных соединений, выделенных из исследуемого объекта. Для выделения барбитуратов из объекта после гидролиза используют жидкость-жидкостную или твердофазную экстракцию (см. разделы 6.4 и 6.4.4). Концентрирование извлечений проводят упариванием при температуре 40–60°C. В ряде случаев для повышения летучести проводят дериватизацию с уксусным ангидридом в безводном пиридине (фенобарбитал). Идентифицируют барбитураты по времени удерживания (для барбитала – 5,18 мин) и по отношению массы ионов к заряду (204 для фенобарбитала).

ВЭЖХ при обнаружении барбитуратов. Барбитураты извлекают из биологических объектов при рН=1–2 хлороформом, смесью хлороформ – изопропанол 9:1 или диэтиловым эфиром. Предварительно рекомендуется при анализе мочи провести кислотный гидролиз для разрушения метаболитов – глюкуронидов.

Для обнаружения с помощью ВЭЖХ рекомендованы следующие условия: хроматограф «Милихром», хроматографическая колонка (62×2 мм), заполненная обращенно-фазовым сорбентом «Сепарон» C₁₈ (5 мкм), подвижная фаза – смесь 0,05 М водного рас-

Таблица 21

Хроматографические характеристики барбитуратов*

Барбитурат	Объем VR, мкл	Спектральные отношения (S_2/S_{210})						
		220	230	240	250	260	280	300
Барбитал	933	0,615	0,088	0,027	0,010	0,007	0,000	0,001
Барбамил	1753	0,576	0,076	0,030	0,014	0,011	0,003	0,000
Фенобарбитал	1394	0,506	0,194	0,113	0,062	0,039	0,003	0,000

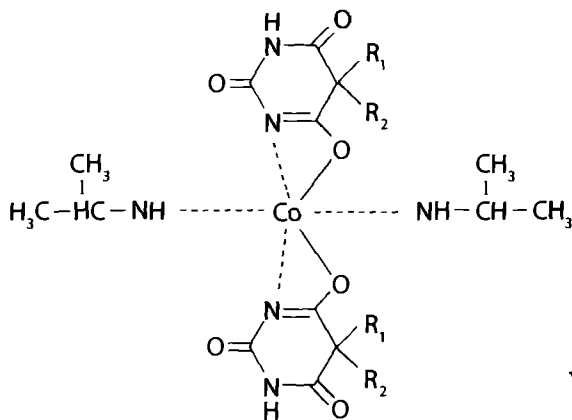
* В таблице представлены данные, полученные с помощью «Милихром А-02»

твора гидрофосфата аммония и метанола (60:40), скорость элюирования равна 100 мкл/мин. Сухой остаток растворяют в 100 мкл подвижной фазы и вводят в хроматограф 4 мкл

Для обнаружения барбитуратов в исследуемой пробе сравнивают время (объем) удерживания и коэффициент емкости определяемого вещества с образцом сравнения в тех же условиях; сравнивают УФ-спектры поглощения с образцом сравнения, а также сопоставляют УФ-спектры исследуемого компонента и образца сравнения при 2 и более длинах волн и оценивают их спектральные отношения (табл. 21).

Количественное определение барбитуратов проводится прямым фотометрическим методом, с помощью дифференциальной спектрофотометрии и высокочувствительной жидкостной хроматографии.

Фотометрический метод основан на взаимодействии барбитуратов с раствором ацетата кобальта в присутствии изопропиламина и метанола (метод предложен В.И. Поповой). Барбитураты из биологического материала извлекают водой, подкисленной серной кислотой. После очистки с помощью гель-хроматографии проводят концентрирование путем экстракции хлороформом. Хлороформный экстракт выпаривают до сухого остатка. Сухой остаток, в зависимости от обнаруженного барбитурата, растворяют в хлороформе (барбитал, фенобарбитал) или метиловом спирте (барбамил, этаминал). К полученным растворам добавляют по 5 мл 0,125% раствора ацетата кобальта в метиловом спирте и по 1 мл 50% изопропиламина в метиловом спирте. Оптическую плотность растворов, окрашенных в фиолетовый цвет, измеряют с помощью фотоэлектроколориметра ФЭК-М при зеленом светофильтре в кювете 20 мм. В качестве раствора сравнения применяют смесь реактивов.



комплекс барбитуратов с кобальтом
и изопропиламином

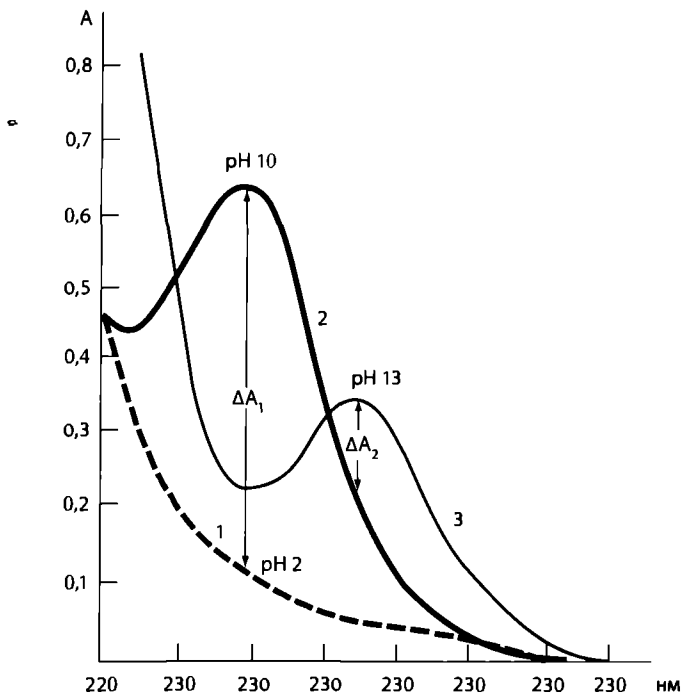


Рис. 38. Спектры поглощения барбитуратов при различных значениях pH среды 1 – спектр поглощения лактамной формы, 2 – спектр поглощения лактимной формы (pH=10), 3 – спектр поглощения дилактимной формы (pH=13)

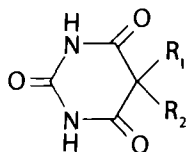
Предел обнаружения составляет 0,04–0,08 мг барбитурата в 1 мл исследуемого раствора.

Дифференциальная спектрофотометрия. Хотя этот термин принят в аналитической химии, его правильнее назвать разностной фотометрией. Количественное определение проводят в этом случае по разности величины оптической плотности исследуемого и контрольного опытов. Методы дифференциальной фотометрии разрабатывались длительное время в Пятигорской фармацевтической академии под руководством В.Г.Беликова.

Особый интерес вызывает так называемая **химическая дифференциальная спектрофотометрия**. Этот метод приемлем в том случае, когда при различных значениях pH среды изменяется спектр поглощения исследуемого вещества, а спектр поглощения примесей (посторонних экстрактивных веществ) остается без изменений. Такая методика предложена для определения производных барбитуровой кислоты.

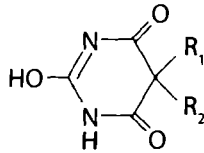
Барбитураты изолируют из биологических объектов общими (Стаса–Отто, Васильевой) или частными (Валова, Поповой) методами. Для экстракции барбитуратов из водной фазы при pH=2–2,5 применяют диэтиловый эфир или хлороформ.

В основу метода дифференциальной спектрофотометрии положена способность барбитуратов к лактим-лактамной (имидо-имидольной) таутомерии. В органическом растворителе после экстракции барбитураты находятся в лактамной форме.



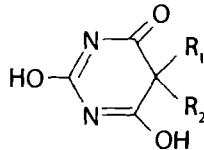
В этом случае спектр поглощения барбитурата представляет собой ниспадающую кривую 1 (рис. 38) в области 220–320 нм. Это связано с тем, что в лактамной форме в молекуле барбитурата отсутствуют сопряженные двойные связи.

При значении $pH=10$ барбитураты перейдут в лактимную форму.



При регистрации спектра такого раствора обнаруживается максимум светопоглощения при 240 нм (см. рис. 38, кривая 2).

При значении $pH=13$ барбитураты перейдут в дилактимную форму.



Спектр поглощения барбитурата в этом случае имеет полосу с максимумом при 260 нм (см. рис. 38, кривая 3).

Для расчета количества барбитурата в извлечении из объекта используют метод дифференциальной спектрофотометрии.

При исследовании внутренних органов определяют разницу в оптической плотности при $pH=10$ и $pH=2$ при длине волны 240 нм.

$$\Delta A_1 = A_{pH=10} - A_{pH=2}$$

При исследовании биологических жидкостей определяют разницу в оптической плотности при $pH=13$ и $pH=10$ при длине волны 260 нм.

$$\Delta A_2 = A_{pH=13} - A_{pH=10}$$

Расчет содержания барбитуратов проводят по удельному показателю поглощения, который рассчитывают при тех же значениях pH для раствора стандартного образца.

$$E_{1\text{см}}^{1\%} = \frac{\Delta A}{C \cdot l}$$

Более воспроизводимые результаты получаются в том случае, когда расчеты проводят по стандартному образцу.

$$C_x = \frac{\Delta A_x \cdot C_{\text{ст.}}}{\Delta A_{\text{ст.}}}$$

Использование дифференциального варианта спектрофотометрического определения барбитуратов позволяет получить достаточно надежные результаты и исключить влияние посторонних веществ, экстрагируемых в процессе анализа вместе с барбитуратами из раствора при $pH=2-2,5$.

Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии. Для количественного определения барбитуратов и других токсических веществ высокоэффективная жидкостная хроматография находит применение в трех вариантах: метод добавок, метод внешнего стандарта и метод внутреннего стандарта.

Метод добавок. Для выделения токсических веществ из мочи используют жидкостно-жидкостную экстракцию. Анализ ведут с двумя пробами мочи. С помощью ВЭЖХ проводят анализ экстракта из одной пробы мочи и экстракта из второй пробы мочи с добавлением в нее определенного количества вещества (эталонного раствора), обнаруженного при качественном анализе. Расчет количества найденного вещества в экстракте из мочи

ведут по формуле:

$$C_x = \frac{C_d \cdot V_d}{\frac{V_x + V_d}{\frac{h_{x+d}}{h_x} - 1}}$$

где C_x – концентрация найденного вещества в экстракте из мочи; C_d – концентрация добавленного вещества в растворе подвижной фазы; V_d – объем добавленного эталонного раствора; V_x – объем экстракта мочи с обнаруженным веществом, h_x – высота сигнала определяемого вещества в экстракте из мочи; h_{x+d} – высота сигнала экстракта из мочи с добавкой эталонного раствора.

Метод внешнего стандарта. Он основан на линейной зависимости выходного сигнала от массы вещества. В этом случае параллельно с анализом экстракта из мочи в тех же условиях проводят анализ эталонного раствора найденного вещества приблизительно той же концентрации. Расчет ведут по формуле:

$$C_x = \frac{C_d \cdot h_x}{h_d},$$

где C_x – концентрация определяемого вещества; h_x – высота сигнала в растворе экстракта из мочи; h_d – высота сигнала эталонного раствора; C_d – концентрация добавленного вещества в растворе подвижной фазы.

Метод внутреннего стандарта. К пробе мочи до операции пробоподготовки добавляют определенное количество вещества, которое является стандартом. Стандарт и определяемое вещество должны хорошо разделяться в процессе анализа. При анализе барбитуратов в качестве внутренних стандартов рекомендуется использовать одно из следующих веществ: апробарбитал, метилфенобарбитал, фенилгидантоин, которые при хроматографировании полностью отделяются от компонентов образца. Концентрацию определяемого вещества рассчитывают по формуле:

$$C_x = \frac{C_{ст} \cdot h_x}{h_{ст}} \cdot \frac{1}{F_{C_x/C_{ст}}},$$

где C_x – концентрация определяемого вещества, $C_{ст}$ – концентрация внутреннего стандарта; h_x – высота (или площадь S_x) пика определяемого вещества; $h_{ст}$ – высота (или площадь $S_{ст}$) пика стандарта; $F_{C_x/C_{ст}}$ – относительный калибровочный фактор.

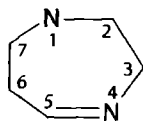
$F_{C_x/C_{ст}}$ определяется предварительно по формуле:

$$F_{C_x/C_{ст}} = \frac{h_x \cdot C_{ст}}{C_x \cdot h_{ст}},$$

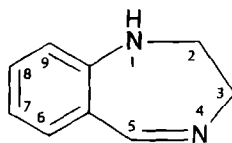
где h_x – высота (или площадь) пика анализируемого вещества с известной концентрацией; C_x – концентрация калибровочного раствора анализируемого вещества, $h_{ст}$ – высота (или площадь) пика внутреннего стандарта, $C_{ст}$ – концентрация внутреннего стандарта.

Методы добавок и внешнего стандарта для барбитуратов хорошо сопоставимы. Например, при определении в крови фенобарбитала при проведении химикотоксикологического анализа по методу добавок концентрация составила 0,03 мг/мл, по методу внешнего стандарта – 0,041 мг/мл (С К Еремин).

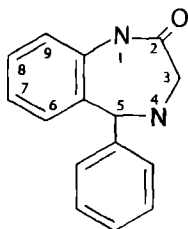
8.2. Производные 1,4-бензодиазепина



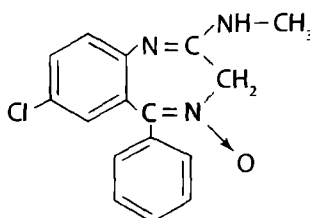
дiazепин



бензодиазепин

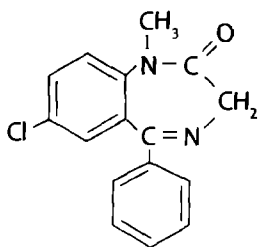


5-фенил-3Н-бензодиазепин



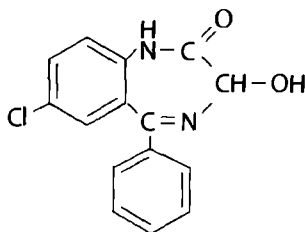
хлордiazепоксид (хлорзепид)

7-хлор-2-метиламино-5-фенил-3Н-
1,4-бензодиазепина-4-оксид



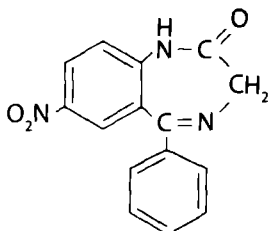
дiazепам (сизабзон)

7-хлор-1,3-дигидро-1-метил-5-
фенил-2Н-1,4-бензодиазепинон-2



оксазепам (нозепам)

7-хлор-1,3-дигидро-3-окси-5-
фенил-2Н-1,4-бензодиазепинон-2



нитразепам

7-нитро-1,3-дигидро-5-фенил-2Н-1,4-бензодиазепинон-2

Токсикологическое значение. Производные 1,4-бензодиазепина внедрены в медицинскую практику с начала 1960-х годов как транквилизаторы. Препараты этой группы находят применение в психиатрической практике как нейролептики, но отличаются отсутствием антипсихотической активности. Действие бензодиазепинов обусловлено

уменьшением возбудимости миндалевидных образований передних отделов височных долей на диэнцефальном и лимбическом уровнях.

Применяют производные бензодиазепина в виде таблеток по 0,005–0,01 г. В связи с распространяющимися фактами злоупотребления соединениями данной группы, Комиссия ООН по наркотикам в 1984 г. включила их в список соединений, находящихся под международным контролем.

При злоупотреблении транквилизаторами однократная доза достигает 10 таблеток и более на прием. Больные испытывают чувство умиротворения, расслабленности. Внешне такие больные выглядят, как находящиеся в легкой стадии опьянения: неуверенная походка, беззаботность, блаженная улыбка. При длительном злоупотреблении развивается абстинентный синдром, выражающийся в тревоге, беспокойстве, страхе, бессоннице, повышенной потливости, тахикардии. Абстинентный синдром протекает относительно легко без мучительных соматических и психических расстройств. Чаще всего при злоупотреблении используют хлорзепид, тазепам и др. Особенно опасно их сочетание с анальгетиками и антигистаминными препаратами, которое приводит к возникновению делириозных психозов и психоорганического синдрома.

Бензодиазепины обладают выраженными токсическими свойствами. Описаны случаи отравлений в отечественной и зарубежной литературе в результате несчастных случаев (чаще всего с маленькими детьми) или с целью самоубийства. Смертельная доза для взрослого человека 0,1–0,15 г на 1 кг массы тела (68–120 таблеток хлорзепида), для детей – 0,02–0,15 г на 1 кг массы тела (29 таблеток хлорзепида для детей 7–14 лет).

Препараты хорошо всасываются из пищеварительного тракта. Клиническая картина отравления зависит от принятой дозы. При *легкой степени отравления* хлорзепидом проявляется вялость, сонливость, заторможенность, расширение зрачков, снижение мышечного тонуса. При отравлениях *средней тяжести* признаки отравления, указанные выше, выражены более четко. Добавляется гиперемия лица, сухость кожных покровов, тахикардия, тремор конечностей, отсутствие многих рефлексов. При *тяжелой форме отравления* сознание спутано, наблюдается психомоторное возбуждение, клонические судороги или галлюцинаторный синдром, развивается дыхательная и сердечная недостаточность.

Диазепам по действию на организм сходен с хлорзепидом, но его токсическое действие проявляется в меньших дозах.

Оксазепам (тазепам) менее токсичен, чем хлорзепид.

Нитразепам оказывает более выраженное успокаивающее и снотворное действие. Картина отравления сходна с хлорзепидом.

При патологоанатомическом исследовании трупа отмечают кровоизлияния в слизистую оболочку желудка и тонкого кишечника, острую эмфизему легких, полнокровие внутренних органов, расширение зрачков.

Пути метаболизма

Производные бензодиазепинов в организме быстро подвергаются метаболизму. Через несколько минут после приема в крови обнаруживаются метаболиты хлорзепида.

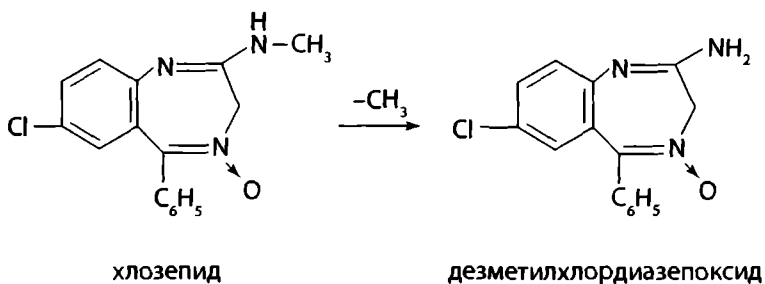
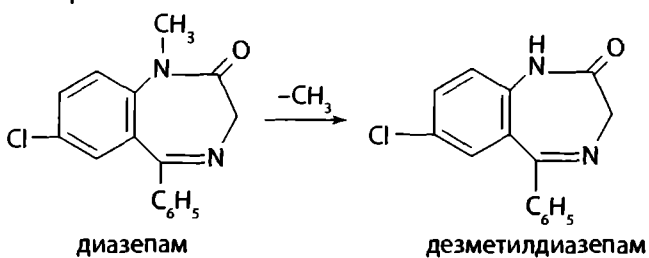
В I фазе метаболизма характерны процессы деметилирования (дiazepam, хлорзепид) в положении 1 и 2, окисления в положении 3 с образованием гидроксильной группы, восстановления нитрогруппы в положении 7 (нитразепам).

Во II фазе метаболизма происходит конъюгация с глюкуроновой или серной кислотами самих препаратов, имеющих гидроксил в 3 положении, и продуктов их метаболизма.

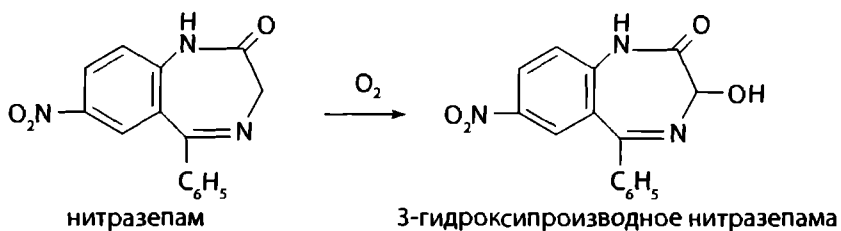
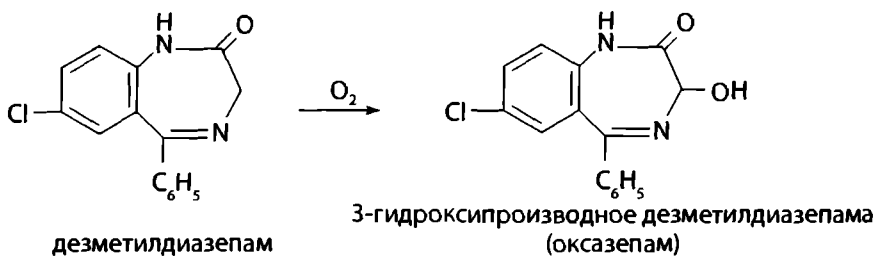
Метаболит нитразепама (аминозепам) образует конъюгат с уксусной кислотой. Метаболиты, конъюгаты с кислотами и нативные соединения производных бензодиазепина выводятся из организма почками.

I фаза

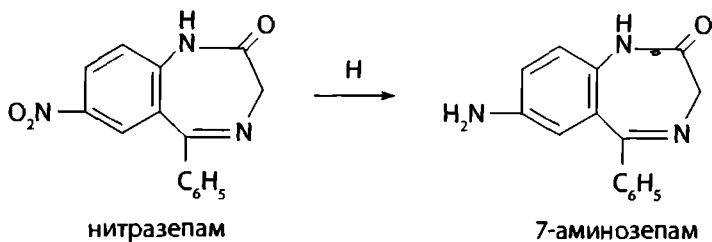
1) деметилирование



2) окисление



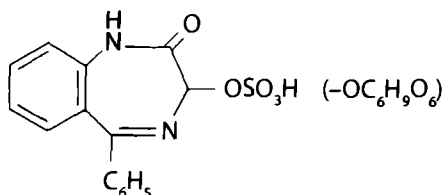
3) восстановление



II фаза

1) образование конъюгатов с глюкуроновой или серной кислотами.

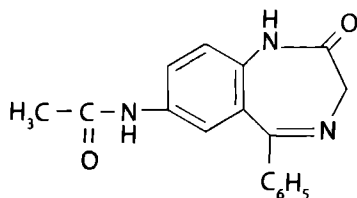
Характерно для бензодиазепинов и их 3-гидроксипроизводных



сульфат (глюкуронид) оксаземама

2) образование конъюгатов с уксусной кислотой.

Характерно для восстановленного нитраземама



7-ацетиламинозепам

Методы определения производных 1,4-бензодиазепина в биологических объектах

Объекты анализа:

- желудок с содержимым;
- тонкий кишечник с содержимым;
- головной мозг;
- печень, почки;
- кровь, моча;
- лекарственные препараты.

Свойства производных 1,4-бензодиазепина. Оксазепам, диазепам, хлордиазепоксид – белые кристаллические вещества. Допускается желтоватый, зеленовато-желтый или кремовый оттенок. Нитразепам имеет светло-желтую с зеленым оттенком окраску за счет наличия в молекуле нитрогруппы.

Производные бензодиазепина практически нерастворимы в воде, мало растворимы в этаноле и эфире, но хорошо растворимы в хлороформе. Они обладают слабоосновными свойствами за счет гетероатома азота в положении 4 и слабокислотными свойствами за счет имидо-имидольной таутомерии в положении 1–2.

В электронных спектрах производных 1,4-бензодиазепина наблюдаются 3 полосы поглощения с характерными максимумами в области 200–215, 220–260, 280–360 нм.

При ненаправленном анализе на производные 1,4-бензодиазепина исследование проводится после изолирования из биологического материала подкисленным спиртом или подкисленной водой с хлороформным экстрактом из водной фазы с pH=2 и pH=10. При pH=2 хлордиазепоксид полностью экстрагируется хлороформом, диазепам – частично, нитразепам и оксазепам экстрагируются хлороформом при pH=10.

При проведении общего ТСХ-скрининга (см. раздел 7.1.2) производные 1,4-бензодиазепина могут быть обнаружены на хроматографической пластинке в виде светящихся

в УФ-свете пятен. При обработке реактивом Драгендорфа светящиеся пятна окрашиваются в оранжевый цвет.

С осадительными реактивами (см. раздел 7.1.8) производные 1,4-бензодиазепина дают аморфные осадки.

При исследовании извлечений из биологических объектов на производные 1,4-бензодиазепина используют 2 направления в анализе.

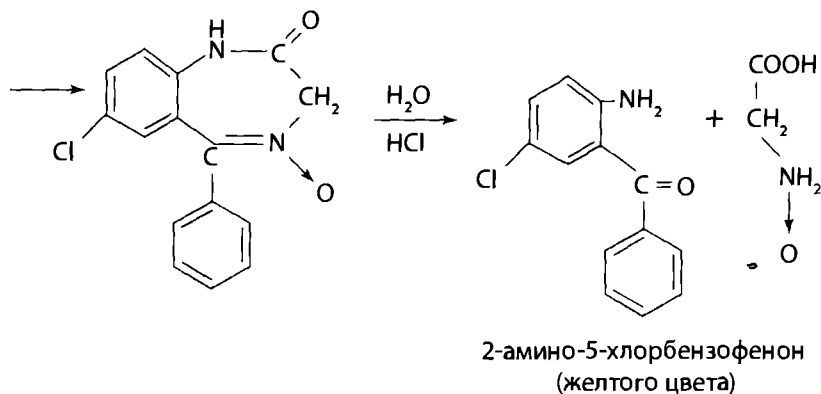
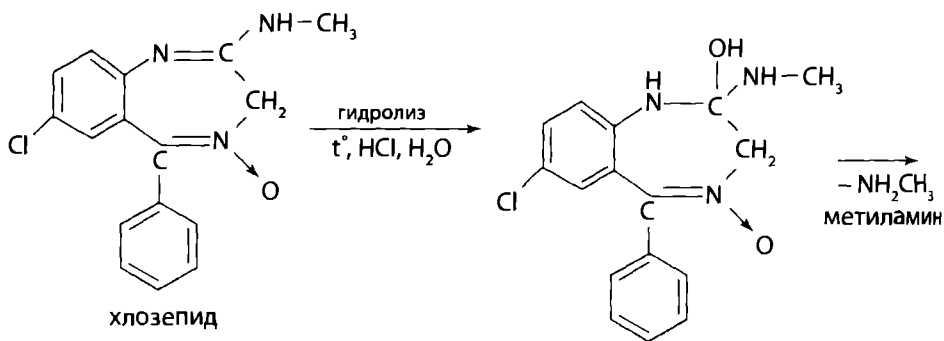
1 направление основано на гидролизе бензодиазепинов до 2-аминобензофенонов. Данный способ позволяет обнаружить и определить в извлечении нативные соединения и их метаболиты. Этому направлению придают судебно-химическое значение при отпечатке.

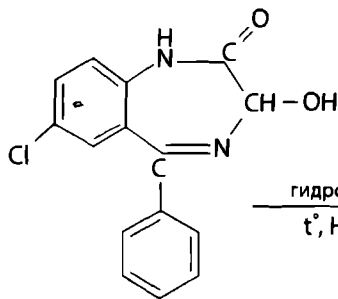
2 направление используется, если в процессе исследования обнаружены бензофеноны по 1 направлению анализа. Этот способ позволяет точно установить природу 1,4-бензодиазепина по нативным соединениям и их метаболитам.

Определение 1,4-бензодиазепинов после гидролиза

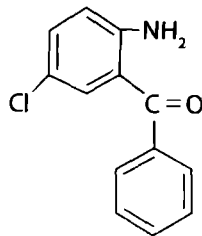
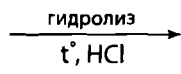
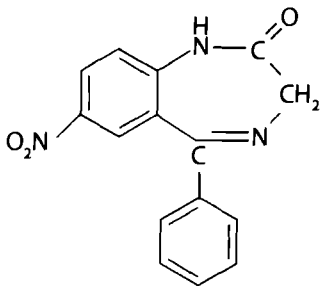
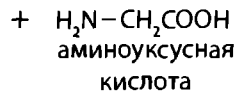
Для проведения гидролиза могут быть использованы непосредственно ткани органов, хлороформные экстракты из подкисленных вытяжек и элюаты при применении сорбционного метода.

Определенный объем элюата или экстракта выпаривают досуха. К сухому остатку, навеске ткани органа, к 10 мл мочи или 2 мл крови прибавляют 2 мл 6 М раствора хлороводородной кислоты. Смесь нагревают на кипящей водяной бане в течение 1 ч или 5–10 мин на глицериновой (песчаной) бане при 120°C. При наличии в объекте производных 1,4-бензодиазепина раствор окрашивается в желтый цвет за счет образования бензофенонов.

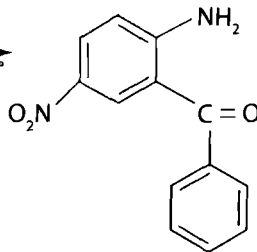
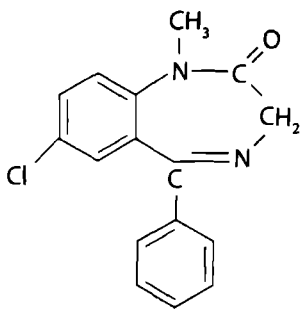
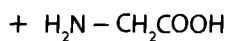




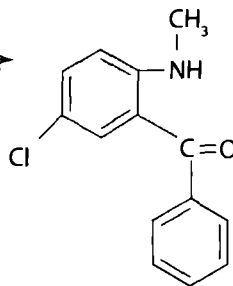
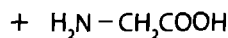
оксазепам

2-амино-5-хлорбензофенон
(желтого цвета)

нитразепам

2-амино-5-нитробензофенон
(желтого цвета)

дiazепам

2-метиламино-5-хлорбензофенон
(желтого цвета)

К части гидролизата после охлаждения добавляют каплю 5% раствора нитрита натрия, перемешивают. Несколько капель полученного раствора вносят в 2 мл свежеприготовленного 2% щелочного раствора резорцина или β -нафтола – наблюдают образование вишнево-красного окрашивания или оранжево-красного осадка.

Продукт гидролиза diaзепам (2-метиламино-5-хлорбензофенон) не образует азокрасителя, так как имеет заместитель – метильную группу в положении 1. В присутствии diaзепам раствор может сохранить желтую окраску.

Определение индивидуальных производных 1,4-бензодиазепина и их метаболитов

Для обнаружения отдельных веществ и их метаболитов изолирование проводят путем настаивания неполярным растворителем и экстрагируют из водного раствора хлороформом при pH=2 и pH=10 или используют сорбционный метод на полимерных сорбентах с последующим элюированием исследуемых соединений с сорбента. Полученные экстракты (элюаты) упаривают до небольшого объема ~ 0,5–1 мл (концентрирование). Для обнаружения производных 1,4-бензодиазепина и их метаболитов в полученном концентрате используют хроматографию в тонком слое сорбента, УФ-спектрофотометрию, газожидкостную, высокоэффективную жидкостную хроматографию и химический метод.

Хроматография в тонком слое сорбента. Часть раствора наносят в виде точки на стартовую линию хроматографической пластинки «Силуфол УФ-254». В качестве «стандартов» на пластинку наносят по 10–15 мкг растворов хлорзепада, диазепам, нитразепам и оксазепам. Пластинку помещают в одну из систем растворителей: хлороформ – ацетон (90:10) или этилацетат – 25% раствор аммиака – уксусная кислота (26:1,6:3,3), позволяющих разделить бензодиазепины.

Для обнаружения бензодиазепинов на пластинке ее обрабатывают реактивами в определенной последовательности. Пластинку опрыскивают раствором нингидрина и затем 5 мин нагревают при 100°C. Образуются пятна желтого цвета. При последующей обработке реактивом FNP (смесь хлорида железа(III), хлорной и азотной кислот) желтые пятна приобретают голубой цвет. Эту же пластинку опрыскивают подкисленным йодплатинатом – пятна приобретают темный цвет.

Пластинку можно обработать реактивом Марки. Пятна бензодиазепинов окрашиваются в желтый цвет.

Кроме того, можно дополнительно провести химическую реакцию образования азокрасителя после гидролиза бензодиазепинов и метаболитов на пластинке до аминокбензофенонов.

Заключение о нахождении в извлечении конкретного производного 1,4-бензодиазепина по результатам ТСХ можно сделать, если цвет и R_f исследуемого вещества и «стандарта» полностью совпадают.

УФ-спектрофотометрия проводится после очистки экстрактов с помощью ТСХ, элюирования веществ с пластинки этиловым спиртом, 0,1 М раствором серной (хлороводородной) кислоты или смесью 1 М раствора хлороводородной кислоты и метилового спирта (1:9).

При регистрации спектра поглощения производные 1,4-бензодиазепина и их метаболиты определяют по характерным максимумам и минимумам в спектре. Например, в растворе 0,1 М серной кислоты хлорзепад обнаруживает 2 максимума при 245 и 306 нм, диазепам при 241, 284 и 359 нм, нитразепам при 277 нм.

Газожидкостная хроматография проводится с использованием колонок длиной 2 м и диаметром 4 мм на хромосорбе Q (80–100 меш.) с покрытием SE-30. Обнаружение бензодиазепинов и их метаболитов проводят по соответствующим индексам удерживания (см. табл. 22).

ИК-спектроскопия. Сухой остаток после испарения хлороформного экстракта или элюата растирают с кристаллами бромиды калия и прессуют в виде диска. В ИК-спектре бензодиазепинов появляются интенсивные полосы за счет валентных колебаний OH-, NH-, CO-, C-C- групп (см. табл. 23).

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ). Обнаружение производных 1,4-бензодиазепина предложено проводить по нативным соединениям или бензофенонам. Методика включает следующие условия разделения веществ: жидкостный хроматограф «Миличром»; хроматографическая колонка 62×2 мм; подвижные фазы – смесь 0,05 М водного гидрофосфата аммония и ацетонитрила 65:35 (для бензодиазепинов) и 45:55 (для бензофенонов); детектирование при 230 нм (для бензодиазепинов) и при 220 нм (для бензофенонов); скорость потока (элюирования) 100 мкл/мин.

Таблица 21

Индексы удерживания бензодиазепинов и их метаболитов при обнаружении методом ГЖХ

Бензодиазепины и их метаболиты	Индексы удерживания
Диазепам	2425
Дезметилдiazепам	2496
Хлозепид	2453
Демоксепам	2529
Оксазепам	2336
Нитразепам	2885
7-ацетамидонитразепам	~3263
7-аминонитразепам	2900
7-амино-3-гидроксинитразепам	2890

Таблица 22

Обнаружение производных 1,4-бензодиазепина по ИК-спектрам

Производное 1,4-бензодиазепина	Характеристические полосы в ИК-спектре, см ⁻¹
Хлозепид	1625, 1458, 760
Диазепам	1681, 1484, 1313
Оксазепам	1687, 1706, 693, 830
Нитразепам	1692, 1615, 1352, 702

Таблица 24

Данные хроматографического анализа веществ методом ВЭЖХ*

Анализируемое вещество	Объем VR, мкл	Спектральные отношения $R = S_i / S_{210 \text{ нм}}$						
		220	230	240	250	260	280	300
Хлозепид	1662	0,600	0,391	0,591	0,944	0,332	0,046	0,095
Диазепам	1910	0,749	0,990	1,097	0,776	0,409	0,388	0,298
Оксазепам	1824	1,125	1,327	0,917	0,634	0,407	1,176	0,090
Нитразепам	1624	0,919	0,653	0,541	0,616	0,808	0,843	0,620
5-хлор-2-аминобензофенон	2643	0,870	1,285	1,402	0,958	0,641	0,193	0,025
5-хлор-2-метиламинобензофенон	3049	0,948	1,369	1,515	1,091	0,779	0,273	0,025
7-хлор-2-амино-5-фенил-1,2-дигидро-3Н-1,4-бензодиазепина-4-оксид	1601	0,854	1,109	1,415	1,434	1,164	0,499	0,416

* Данные представлены по результатам, полученным на «Милихроме А-02»

В указанных условиях удается четко разделить между собой все производные бензодиазепинов и бензофеноны. Для обнаружения исследуемых веществ сопоставляют время (объем) удерживания и коэффициенты емкости определяемых веществ и образцов сравнения – эталонных растворов бензодиазепинов и бензофенонов, а также УФ-спектры исследуемого компонента и образца сравнения при двух и более длинах волн, и оценивается их спектральное отношение (табл. 24).

Предел обнаружения бензодиазепинов методом ВЭЖХ составляет для оксазепам $3,4 \cdot 10^{-6}$ мг, нитразепам $11,1 \cdot 10^{-6}$ мг, хлозепида $17,8 \cdot 10^{-6}$, диазепам $15 \cdot 10^{-6}$ мг в вводимой пробе.

Химический метод основан на использовании реакций, в результате которых образуются окрашенные продукты

Реакция с нингидрином К 2–3 мл раствора остатка или элюата в этиловом спирте прибавляют 10 мг нингидрина и 2 мин нагревают на водяной бане. Раствор окрашивается в синий цвет. При добавлении 1% раствора сульфата меди(II) окраска переходит в крас-

ную или оранжево-красную (диазепам), в желто-коричневую (нитразепам), в коричневую (хлозепид).

Реакция гидролиза амидокарбинольной группы. Эта реакция используется для обнаружения оксазепам (нозепам). К сухому остатку прибавляют 5 мл 96% этилового спирта и 4 капли концентрированной фосфорной кислоты. Смесь нагревают на кипящей водяной бане не менее 5 мин. Раствор охлаждают. К 1 мл полученного раствора добавляют 5 мл воды очищенной и 1 мл фуксинсернистой (хромотроповой) кислоты – наблюдают появление фиолетового окрашивания. В результате гидролиза амидокарбинольной группы образуется формальдегид, который с фуксинсернистой кислотой (или хромотроповой кислотой) дает характерное окрашивание.

Уравнения реакций между формальдегидом, фуксинсернистой и хромотроповой кислотами приведены в разделе 9.4.2.

Реакция с реактивами Марки и Фреде. При нанесении на сухой остаток в фарфоровой чашке, полученный при испарении хлороформного экстракта или элюата, реактива Марки или реактива Фреде, хлозепид образует желтое окрашивание.

Количественное определение

Для количественного определения бензодиазепинов предложены методы ВЭЖХ и фотометрии.

Метод ВЭЖХ. Для количественного определения бензодиазепинов и бензофенонов используют метод добавок, методы внешнего и внутреннего стандарта.

Метод добавок. Анализ проводят с экстрактом из биологического объекта или с элюатом после проведения твердофазной экстракции с добавлением в него определенного количества (эталонный раствор) обнаруженного бензодиазепина или бензофенона. Концентрацию исследуемого соединения рассчитывают по формуле (см. раздел 8.1).

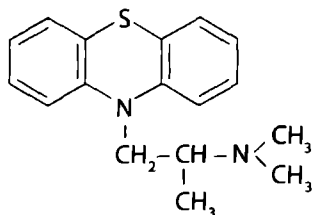
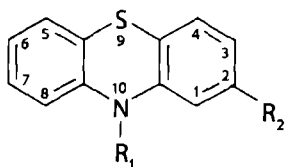
Метод внешнего стандарта. Вслед за анализом с помощью ВЭЖХ исследуемого экстракта или элюата проводят определение в тех же условиях эталонного раствора, концентрация которого близка к концентрации анализируемого соединения в извлечении из объекта. Расчет концентрации бензодиазепина или бензофенона проводят по формуле, приведенной в разделе 8.1.

Метод внутреннего стандарта. В биологический объект до начала его пробоподготовки к анализу добавляют известное количество вещества, принятого за стандарт. После исследования с помощью ВЭЖХ расчет концентрации определяемого соединения проводят, используя ранее приведенную формулу (см. раздел 8.1).

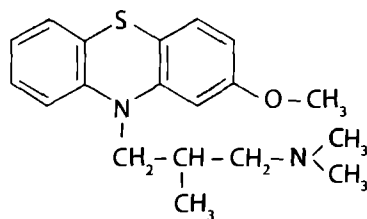
Фотоколориметрия по реакции образования азокрасителя (реакция Браттона–Маршалла). Метод основан на гидролизе бензодиазепинов до аминокбензофенонов. Сухой остаток хлороформного экстракта или элюата растворяют в 5 мл 2 М раствора хлороводородной кислоты, добавляют 1 мл 0,1% раствора нитрита натрия, через 5 мин – 0,5 мл 1% раствора сульфата аммония (или насыщенного раствора мочевины). Полученный раствор встряхивают до полного удаления пузырьков газа, после чего добавляют 1 мл 0,1% раствора N-1-нафтилэтилендиаминдихлорида. Оптическую плотность окрашенного раствора измеряют через 15 минут на ФЭК-56 М в кювете с толщиной слоя 10 мм и зеленым светофильтром. Раствор сравнения – смесь реактивов.

8.3. Производные фенотиазина

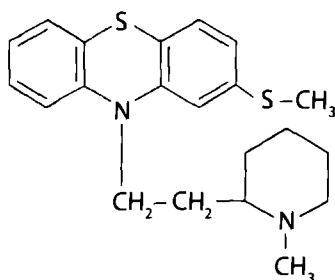
Токсикологическое значение. Производные фенотиазина в медицинской практике применяют более 50 лет. Многие производные фенотиазина проявляют специфическое действие на центральную нервную систему и психическую сферу. Испытания зависимости между химическим строением и фармакологическим действием показали, что сильнейшее действие на психическую сферу проявляют соединения, у которых третичный азот в боковой цепи отделен от атома азота фенотиазинового ядра тремя метиленовыми



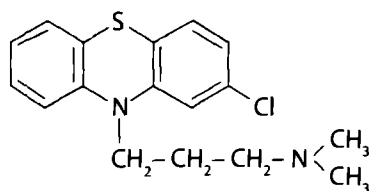
прометазин
(дипразин, пипольфен)



левопромазин
(тизерцин)



тиоридазин (сонапакс)



хлорпромазин (аминазин)

группами. Меньшее число метиленовых групп приводит к появлению противогистаминной активности. Кроме того, для производных фенотиазина выявлена способность снижать температуру тела, уменьшать позывы к рвоте у беременных, снимать зуд и т.д. Все указанное говорит о большом медицинском значении производных фенотиазина. Следует подчеркнуть, что все производные фенотиазина обладают высокой фармакологической активностью.

В лечебной практике препараты применяют в дозе 0,025 г (аминазин, дипразин); 0,005–0,01 г (тиоридазин); 0,025–0,075 г (тизерцин). Выпускаются препараты в виде таблеток и растворов для инъекций.

Производные фенотиазина быстро всасываются и медленно выводятся из организма, обладают кумулятивным действием (аминазин). При приеме терапевтической дозы аминазин полностью выводится из организма в течение 14–20 дней. При длительном употреблении аминазин накапливается в волосах, ногтях, печени и других тканях.

Наибольшее токсикологическое значение из этой группы препаратов имеет аминазин. В отечественной литературе описаны случаи отравления аминазином при передозировке, несчастных случаях с детьми, при приеме его с целью самоубийства. Известно, что для взрослых смертельная концентрация аминазина составляет 0,03–0,12 г/л крови. Для детей смертельная доза аминазина – 0,25 г. В больших дозах аминазин вызывает состояние, близкое к физиологическому сну. При отравлении отмечается резкая слабость, головокружение, сухость во рту, тошнота, судороги, потеря сознания, учащение пульса, падение давления, наблюдаются кожные аллергические реакции. При *острых отравлениях* – коматозное состояние, зрачки расширены и на свет не реагируют, резко угнетаются дыхательный и сосудодвигательные центры, дыхание по типу Чейна–Стокса, кожные покровы цианотичны, развивается непроходимость кишечника, появляются тахи-

кардия, эпилептические судороги. Смерть наступает при явлениях нарастающей легочно-сердечной недостаточности.

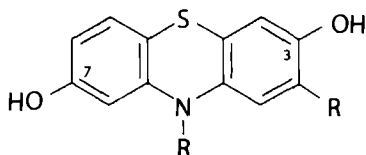
При патологоанатомическом исследовании трупа картина вскрытия неспецифична. Отмечают признаки быстро наступившей смерти с отеком и набуханием головного мозга, очаговые кровоизлияния в селезенке, надпочечниках и полнокровие поджелудочной железы, а также некротический нефроз почек: дряблость, широкий, бледный и мутный корковый слой.

Пути метаболизма

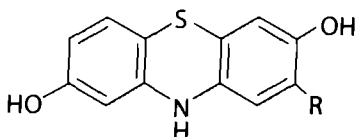
В I фазе метаболизма происходит гидроксирование фенотиазинового ядра в положениях 3 и 7, деалкилирование у атома азота в положении 10, деметилирование у атома азота в алкильном радикале и окисление с образованием S- и N-оксидов.

I фаза метаболизма

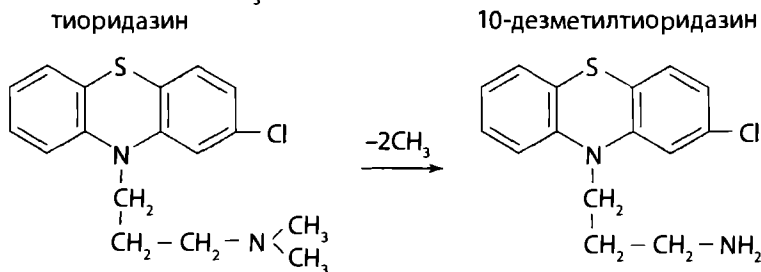
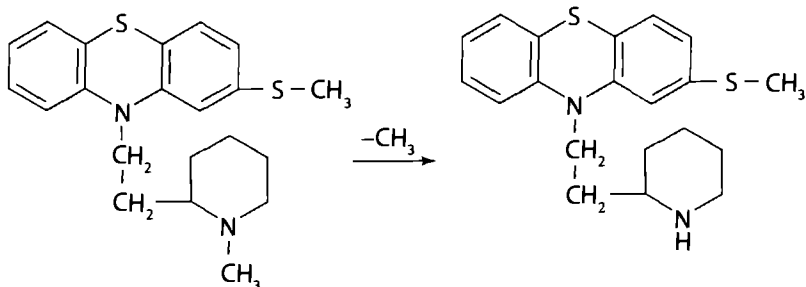
- 1) гидроксирование в положении 3, 7 или в 7



- 2) деалкилирование в положении 10 у атома азота с одновременным гидроксированием в положениях 3 и 7



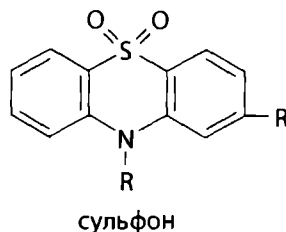
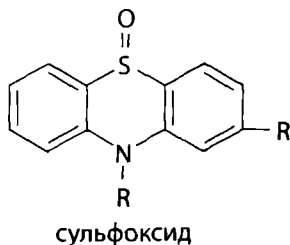
- 3) деметилирование у атома азота



аминазин

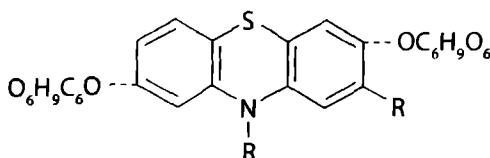
10-дезметиламиназин

4) образование сульфоксидов



II фаза метаболизма

Во II фазе метаболизма образуются глюкурониды (чаще всего с гидроксипроизводными).

**Обнаружение производных фенотиазина в биологических объектах****Объекты анализа:**

- желудок с содержимым;
- мозг;
- почка, моча;
- печень с желчным пузырем;
- кровь;
- лекарственные препараты.

Физико-химические свойства. Производные фенотиазина представляют собой белые (или со слабым желтоватым, сероватым, кремовым оттенком) кристаллические вещества. Они легко окисляются (даже кислородом воздуха) и темнеют. Соли производных фенотиазина хорошо растворимы в воде, этаноле, практически нерастворимы в диэтиловом эфире. Основания представляют собой сиропообразную массу, которая плохо растворима в воде, но хорошо – в этаноле, хлороформе, диэтиловом эфире, этилацетате. Производные фенотиазина – вещества основного характера, который обусловлен наличием в структуре молекулы гетероциклического атома азота и третичного атома азота в алифатическом радикале. В таблице 25 представлены значения показателя ионизации для некоторых производных фенотиазина.

При нецеленаправленном анализе производные фенотиазина изолируют из биологических объектов путем настаивания с подкисленной водой (метод Васильевой) или под-

Таблица 25

Показатели ионизации производных фенотиазина

Производное фенотиазина	Значение pKa
Аминазин	9,3
Дипразин	9,1
Тиордазин	9,5
Левомепромазин	9,3

кисленным спиртом (метод Стаса–Отто). Производные фенотиазина обнаруживают в хлороформном экстракте, полученном из водной вытяжки при $\text{pH}=8-10$.

При направленном анализе для производных фенотиазина используют частный метод, разработанный Е.М.Саломатиным. Производные фенотиазина экстрагируются диэтиловым эфиром при $\text{pH}=13$ (схема метода – см. раздел 6.4.1).

При проведении *общего ТСХ-скрининга* производные фенотиазина могут быть обнаружены на хроматографической пластинке при ее обработке хлоридом железа(III) в виде окрашенных пятен, которые при дальнейшей обработке реактивом Драгендорфа окрашиваются в оранжевый цвет (см. раздел 7.1.2).

С *осадительными реактивами* производные фенотиазина образуют аморфные осадки (см. раздел 7.1.8).

Для обнаружения индивидуальных соединений производных фенотиазина используют реакции окрашивания, УФ-спектрофотометрию, ГЖХ, ИК-спектроскопию и ВЭЖХ.

Реакции окрашивания. Для получения окрашенных продуктов используют следующие химические реакции:

- реакции окисления (при использовании хлорной кислоты, нитрита натрия, реактивов Фреде, Манделина, концентрированной серной кислоты);
- реакция с формальдегидом в присутствии концентрированной серной кислоты (реактив Марки);
- окисление соединениями, содержащими металлы с высшей степенью окисления [хлорид железа(III) (FeCl_3), платинохлороводородная кислота (H_2PtCl_6)].

Для проведения реакций хлороформный экстракт испаряют в фарфоровых чашках и на сухие остатки наносят соответствующие реактивы – наблюдают появление характерного окрашивания.

Эти реакции малоспецифичны, так как образуются смеси продуктов окисления и первоначальная окраска быстро переходит в красное, вишнево-красное, красно-оранжевое, малиновое, бурое или фиолетовое окрашивание (табл. 26).

Наибольшей реакционной способностью в молекулах производных фенотиазина обладает атом серы. Он способен окисляться с образованием сульфоксидов и сульфонов.

Микрорекристаллокопические реакции. Для производных фенотиазина эти реакции немногочисленны и малохарактерны. Аминазин, дипразин с 5% раствором золотохлороводородной кислоты образуют кристаллические осадки (как пример приведена форма кристаллов, которые образует аминазин, см. рис. 39).

С солью Рейнке также образуются кристаллические осадки, но по их форме отличить производные фенотиазина друг от друга невозможно.

УФ-спектрофотометрия. В УФ-области спектра производные фенотиазина обнаруживают два максимума светопоглощения при 250–255 и 300–315 нм. Для основных

Таблица 26

Результаты реакций на производные фенотиазина с окислителями*

Добавляемый реактив	Производные фенотиазина			
	Аминазин	Дипразин	Тизерции	Тиоридазии
конц H_2SO_4	малиновое	малиновое	фиолетовое	бледно-голубое
конц HNO_3	малиновое	малиновое	фиолетовое	зеленое
$\text{Br}^2\text{-H}_2\text{O}$	малиновое	малиновое	фиолетовое	голубовато-зеленое
реактив Марки	малиновое	желто-оранжевое	фиолетовое	бирюзовое
реактив Эрмана	малиновое	оранжевое	фиолетовое	зеленое
реактив Манделина	малиновое	оранжевое	фиолетовое	зеленое
FeCl_3	малиновое	желто-оранжевое	фиолетовое	зеленое
HClO_4 и NaNO_2	малиновое	розово-малиновое	фиолетовое	зелено-голубое
H_2PtCl_6	сиреневое с фиолетовым осадком	серо-синее с розовым осадком	ярко-зеленое	бледно-сиреневое

* В таблице приведена первоначально фиксируемая окраска

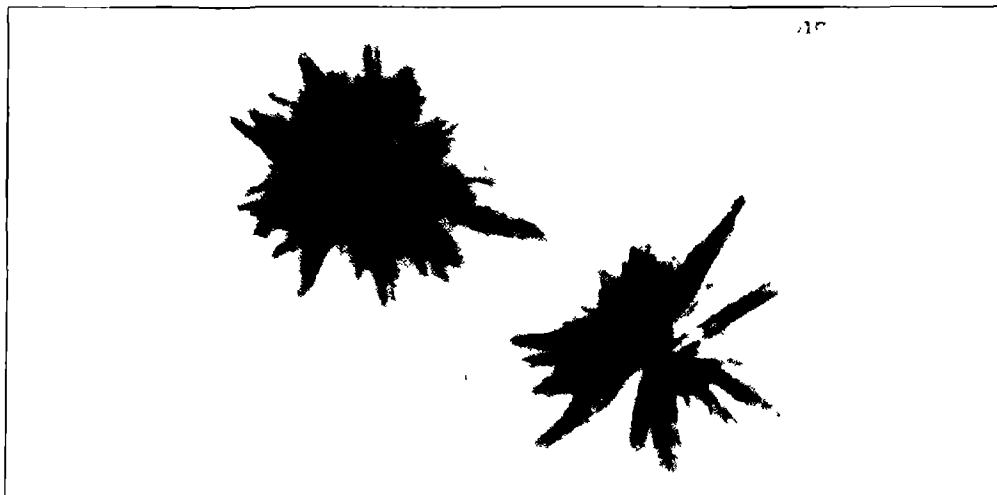


Рис. 39. Кристаллы аминазина с золотохлороводородной кислотой

Таблица 27

Основные характеристические полосы ИК-спектров производных фенотиазина

Вещество	Характеристические полосы, см ⁻¹
Аминазин	1455, 747, 1240, 1402, 1561
Дипразин	1259, 1287, 1229, 758
Левомепромазин	1580, 1270, 1205, 1030, 752
Тиоридазин	1248, 1281, 1234, 754

метаболитов производных фенотиазина (сульфоксидов) в УФ-области характерны 4 максимума светопоглощения при 239, 274, 300 и 341 нм. Анализ по УФ-спектрам поглощения проводят после очистки извлечений из объектов с помощью хроматографии в тонком слое сорбента. Измерения проводят в 0,5 М растворе серной кислоты и фиксируют характерные полосы поглощения.

Газожидкостная хроматография. Производные фенотиазина разделяют с использованием фазы средней полярности OV-225 (3–5% на хроматоне). Микроколонки стеклянные длиной 1–2 м при 200–300°C. Детектор беспламенный азотно-фосфорный (NPD), его чувствительность составляет 0,006 мкг/мл, для хлорсодержащих фенотиозинов используют детектор по захвату электронов, его чувствительность – 0,001 мкг/мл. Обнаружение производных фенотиазина проводят по параметрам удерживания (времени или объему удерживания или относительному времени удерживания). В качестве внутреннего стандарта используют имизин.

ИК-спектроскопия. В ИК-спектрах производных фенотиазина обнаруживают определенные характеристические частоты, отражающие типы связей и функциональные группы в молекулах. Для проведения анализа очищенный остаток после испарения экстракта из биологического объекта растирают с кристаллами бромиды калия, прессуют и полученный диск помещают в прибор. ИК-спектр сравнивают со спектрами, имеющимися в специальных справочниках. Основные характеристические полосы для производных фенотиазина приведены в таблице 27.

Метод тонкослойной хроматографии в частной системе растворителей

На две хроматографические пластинки наносят исследуемое извлечение из объекта и растворы «стандартов» (спиртовые растворы аминазина, дипразина, левомепромазина и тиоридазина по 10–15 мкг). Для обнаружения аминазина и дипразина используют систему растворителей бензол – диоксан – 25% раствор аммиака в соотношении компо-

Таблица 28

Хроматографические характеристики производных фенотиазина

Производные фенотиазина	Времи удерживания, мин	Спектральные отношения $R=A/A_{210}$			
		220	240	250	280
Аминазин	18,44	0,874	0,839	0,984	0,083
Дипразин	16,01	1,045	1,406	0,635	0,259
Тиордазин	20,18	0,557	0,429	0,571	0,164
Тизерции	17,45	0,926	0,843	0,996	0,085

нентов 75:20:5. Хроматографирование для обнаружения левомепромазина и тиоридазина проводят в системе растворителей: смесь 25% раствора аммиака и этилового спирта (1:1) – этилацетат – ацетон в соотношении 4:90:45. Для обнаружения веществ на пластинках их опрыскивают смесью концентрированной азотной кислоты и этилового спирта 9:1 или смесью 50% раствора серной кислоты и этилового спирта. Пятна исследуемых веществ и «стандартов» должны иметь одинаковую окраску и значение R_f .

Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии

Предложены следующие условия обнаружения производных фенотиазина с помощью ВЭЖХ: жидкостный хроматограф «Милюхим А-02» производства ЗАО «ЭкоНова», хроматографическая колонка 2×75 мм, сорбент – обращенно-фазовый – «Силасорб С18», подвижная фаза: элюент А – 0,1% раствор трихлоруксусной кислоты, элюент Б – ацетонитрил, скорость потока – 100 мкл/мин, аналитические длины волн – 210, 220, 240, 250 и 280 нм, температура термостата колонки – 35°С, градиент – от 10% элюента Б до 80% за 30 мин, объем вводимой пробы – 2 мкл.

Спиртовые растворы исследуемых веществ вводят в хроматограф. Вещества идентифицируют по времени удерживания и по спектральным отношениям (табл. 28).

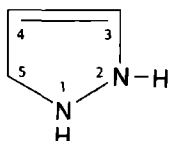
Количественное определение. Для количественного определения производных фенотиазина предложены методы ВЭЖХ и фотоколориметрическое определение в видимой области спектра.

Метод ВЭЖХ используется после тщательной очистки извлечений из биологических объектов с помощью ТСХ или путем рекстракции. Рекомендованы метод добавок, методы внешнего и внутреннего стандарта. Расчеты концентрации производных фенотиазина в исследуемом объекте проводят по соответствующим формулам (см. раздел 8.1).

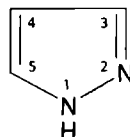
Фотометрия в видимой области спектра. Для фотоколориметрического метода количественного определения производных фенотиазина предложено использовать реакцию с концентрированной серной кислотой (для аминазина и дипразина), реакцию с реактивом Манделина (для тиоридазина и левомепромазина) и реакцию со смесью растворов 18% хлороводородной кислоты и 1 М мышьяковой кислоты (для тиоридазина). Недостатком методов, проводимых в присутствии концентрированной серной кислоты, является возможность обугливания соэкстрактивных веществ, особенно при анализе гнилостно-разложившихся объектов. По этим причинам основным методом количественного определения производных фенотиазина в извлечениях из биологических объектов является метод ВЭЖХ.

8.4. Производные пиразола

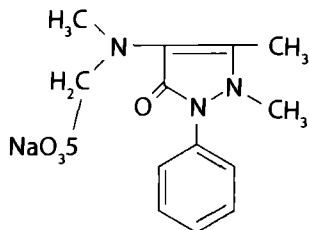
Токсикологическое значение. Производные пиразола (анальгин, антипирин, пропифеназон) применяются в качестве болеутоляющих, жаропонижающих и противовоспалительных средств. Их назначают внутрь при головных болях, невралгиях, артритах и других заболеваниях по 0,25–0,50 г на прием индивидуально или в смеси с другими лекарственными веществами (комбинированные препараты). За счет хорошей растворимости в воде аналгин вводят также в виде 50% раствора.



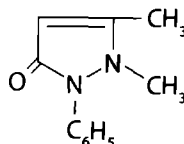
пиразолин



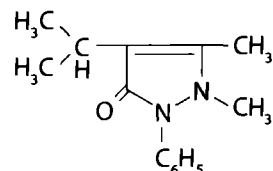
пиразол

анальгин
(метамизол-натрий)

1-фенил-2,3-диметил-4-метил-
аминопиразолон-5-
метансульфонат натрия

антипирин
(феназон)

1-фенил-2,3-диметил-
пиразолон-5



пропифеназон

1-фенил-2,3-диметил-
4-изопропил-пиразолон-5

Производные пиразола вызывают ряд нежелательных эффектов, связанных с гиперсенситизацией: поражение кожи (популезные, эритематозные сыпи) и гематологические нарушения (лейкопения, агранулоцитоз). Гематологические осложнения могут быть настолько тяжелыми, что иногда приводят к смерти.

Типичными последствиями систематического приема анальгетиков являются соматические заболевания. Это токсическая анемия, нефрит, пиелонефрит, лекарственные сыпи. Из неврологических расстройств отмечают дрожание кистей рук, атаксическую, неуверенную походку, нарушение артикуляции речи. Больные не выносят шума, раздражительны, ощущают частые головные боли, умирают преимущественно при явлениях уремии.

При злоупотреблении анальгетиками характерно опьянение, приподнятое настроение, повышенная двигательная активность, многословие. Состояние абстиненции протекает с тяжелыми соматическими и психическими расстройствами: выраженная тревога, расстройство сна, сильные головные боли, чередование обильных поносов и запоров, иногда (до 20% случаев) – судорожные припадки. При длительной токсикомании, связанной с приемом анальгетиков группы пиразола, наблюдаются выраженные изменения личности. Больные медлительны, слабо соображают, угрюмы, недоверчивы, напоминают эпилептиков. Судорожные припадки могут носить постоянный характер. Считается, что злоупотребление анальгетиками является причиной развития эпилепсии.

Случаи острого отравления производными пиразола редки и встречаются, как правило, среди детей младшего возраста. При отравлении наиболее характерно поражение ЦНС. Через 5–10 мин после приема наблюдаются потеря сознания, цианоз кожных покровов и слизистых оболочек, клонико-тонические судороги. Смерть наступает через 1–3 часа после приема вещества вследствие остановки дыхания. Патологоморфологическая картина неспецифична. В диагностике острого отравления иногда отмечают красноватый цвет мочи из-за наличия в ней рубановой кислоты.

Пути метаболизма

Метаболизм производных пиразола проходит по 2 фазам. В I фазе происходит окисление феназона с образованием гидроксипроизводного в положении 4, деалкилирование в положении 4 у метамизола с образованием аминогруппы.

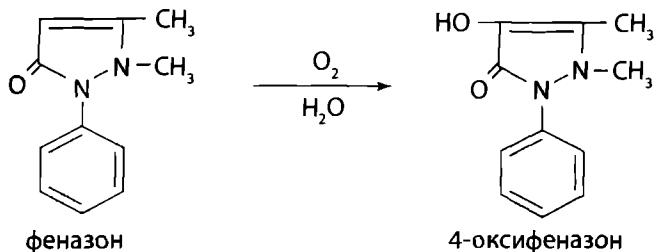
Во II фазе dealкилированное производное метамизола конъюгирует с уксусной кислотой, гидроксипроизводное феназона образует конъюгат с глюкуроновой кислотой.

Пропифеназон метаболизируется таким же образом и выводится в виде конъюгатов с глюкуроновой кислотой.

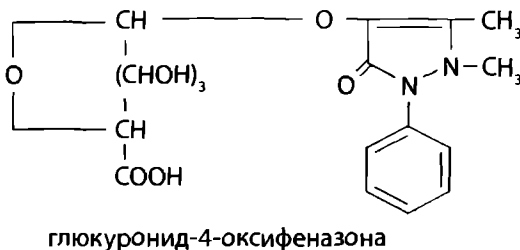
Выводятся производные пиразола и их метаболиты с мочой.

Феназон

I фаза – окисление

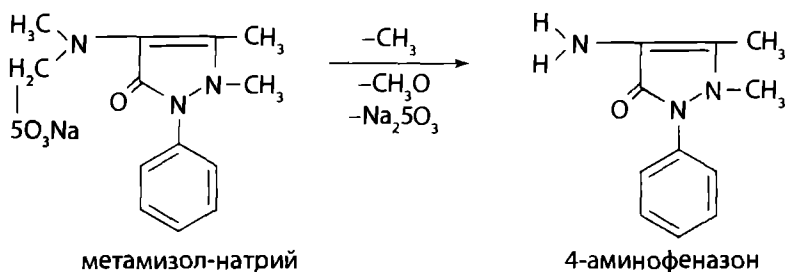


II фаза – образование глюкуронидов

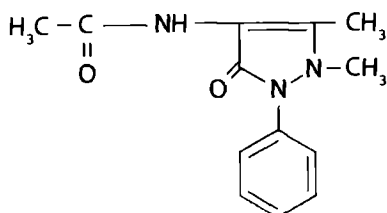


Метамизол-натрий

I фаза – dealкилирование



II фаза – ацелирование (конъюгация с уксусной кислотой)



Физико-химические свойства. Производные пиразола – это белые или бесцветные кристаллические вещества (метамизол может иметь желтоватый оттенок), без запаха, хорошо растворимые в воде. В этиловом спирте феназон и пропифеназон хорошо растворимы. Метамизол-натрий в этаноле трудно растворим. Все производные пиразола растворимы в хлороформе, диэтиловом эфире (кроме метамизол-натрия).

Феназон проявляет слабые основные свойства ($pK_a=1,5$). Пропифеназон также обладает слабыми основными свойствами. Оба эти соединения способны экстрагироваться органическими растворителями из растворов со значением $pH=2-3$.

Метамизол проявляет амфотерные свойства, по замещенному атому азота у C_4 основные и кислотные как замещенная метансульфоновая кислота. Он способен в процессе экстракции практически полностью переходить в органический растворитель при $pH=8-10$.

Общие методы обнаружения. Анализ на производные пиразола проводится с остатками, полученными после испарения хлороформных экстрактов из водных вытяжек при значениях $pH=2$ и $pH=8-10$.

При проведении ТСХ-скрининга в общей системе растворителей производные пиразола обнаруживаются в виде окрашенных пятен при обработке пластинки хлоридом железа(III) или реактивом Драгендорфа (см. раздел 7.1 2).

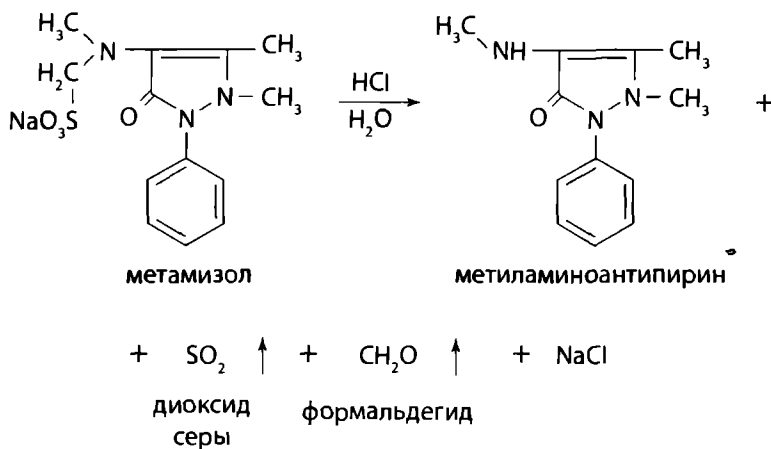
Производные пиразола дают осадки с общими осадительными реактивами.

Для обнаружения индивидуальных веществ используют реакции окрашивания, УФ-спектрофотометрию, ИК-спектроскопию и ВЭЖХ.

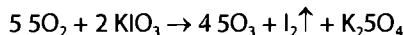
Производные пиразола постепенно теряют свое значение. В настоящее время наибольшее применение находит метамизол и в сложных лекарственных формах – пропифеназон.

Обнаружение метамизола. Метамизол обладает выраженными восстановительными свойствами. Для него характерны реакции окисления. В качестве окислителей могут быть использованы йодат калия, хлорид железа(III), нитрат серебра, нитрит натрия и др. Характерное окрашивание появляется в первые минуты после добавления реактива. При стоянии окраска изменяется или исчезает. Реакции окисления сопровождаются гидролитическим расщеплением молекулы метамизола, особенно при нагревании. Образующиеся продукты (оксид серы(IV), формальдегид) обнаруживаются по запаху или соответствующими реакциями.

Реакция обнаружения диоксида серы с йодатом калия. Сухой остаток переносят в пробирку, добавляют 1,5 мл воды очищенной, 1,5 мл 10% раствора хлороводородной кислоты. Над горлышком пробирки располагают фильтровальную бумагу, пропитанную раствором йодата калия и крахмалом (20 мг в 2 мл раствора крахмала). При нагревании пробирки наблюдают посинение бумаги.



Окрашивание в реакции возникает при взаимодействии диоксида серы(IV) с йодатом калия и крахмалом.



Реакция с хлоридом железа(III). К сухому остатку прибавляют 2 капли воды очищенной, 5 мл 96% спирта, 0,5 мл 10% раствора хлороводородной кислоты и перемешивают. Смесь нагревают на водяной бане в течение 5–10 мин. После охлаждения прибавляют раствор хлорида железа(III). Через 2–3 мин наблюдают появление синего окрашивания, которое постепенно переходит в желтое, а затем окраска исчезает.

Реакция образования ауринового красителя. К сухому остатку прибавляют 4–5 капель концентрированной серной кислоты, несколько кристалликов салицилата натрия. Смесь нагревают. Появляется красное окрашивание.



Реакция с хромотроповой или фуксинсернистой кислотами после гидролитического расщепления метамизола. К сухому остатку прибавляют 1,5 мл воды очищенной, 2 мл 10% раствора хлороводородной кислоты и нагревают на водяной бане 5–10 мин. К охлажденному раствору добавляют 1 мл концентрированной серной кислоты и раствор фуксинсернистой или хромотроповой кислот. Наблюдают сине-фиолетовое окрашивание за счет образующегося формальдегида при расщеплении молекулы метамизола.

Уравнения реакций формальдегида с фуксинсернистой и хромотроповой кислотами приведены в разделе 9.4.2.

Лигниновая проба. 1–2 капли водного раствора остатка наносят на газетную бумагу (без печатного текста) – наблюдают образование желтого окрашивания.

Реакция с концентрированными растворами серной кислоты и пероксида водорода. На сухой остаток или порошок лекарственного препарата наносят по 1–2 капли концентрированных растворов серной кислоты и пероксида водорода. При нагревании появляется голубое окрашивание, которое постепенно переходит в интенсивно-красное. Реакция требует присутствия в остатке значительных количеств метамизола.

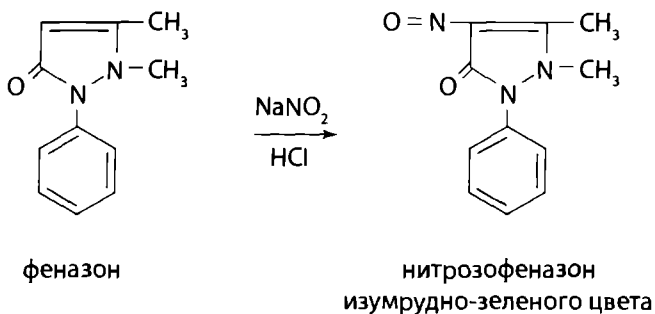
Реакция с реактивом Миллона (раствор ртути в азотной кислоте). При добавлении к остатку, содержащему метамизол, реактива Миллона при нагревании возникает темное окрашивание.

Реакция с нитритом натрия. При добавлении к остатку, содержащему метамизол, нитрита натрия, хлороводородной кислоты при нагревании появляется темно-синее окрашивание.

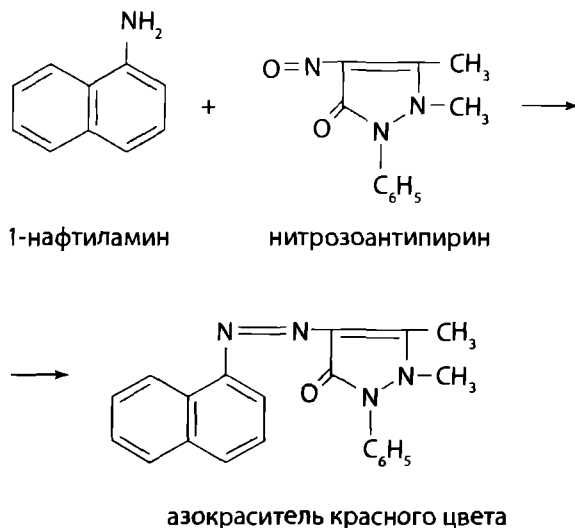
Обнаружение феназона (антипирина)

Реакция комплексообразования с хлоридом железа(III). К сухому остатку прибавляют каплю 5% раствора хлорида железа(III). Наблюдают образование комплексной соли $3C_{11}H_{12}ON_2 \cdot 2FeCl_3$ кроваво-красного цвета.

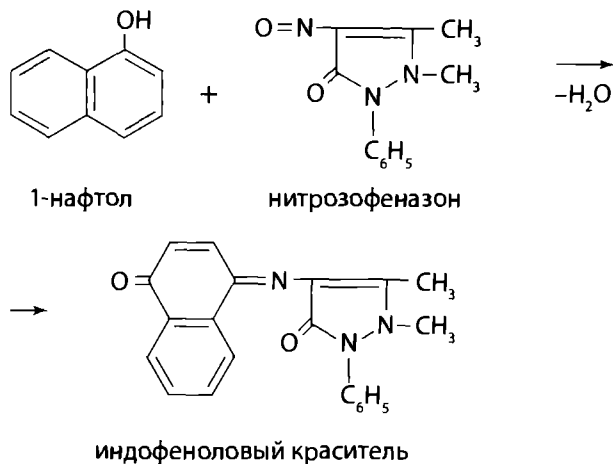
Реакция образования нитрозофеназона. Для выполнения реакции 3–5 мл хлороформного экстракта из объекта выпаривают досуха. Сухой остаток растворяют в 3–5 каплях воды очищенной, добавляют 2–3 капли 10% раствора серной кислоты и 2–3 капли насыщенного раствора нитрита натрия. Наблюдают появление зеленого окрашивания.



Реакция образования пиразолонового красителя. Для выполнения реакции часть хлороформного экстракта из объекта испаряют досуха. К сухому остатку добавляют 1–2 капли воды очищенной, каплю ледяной уксусной кислоты и каплю 5% раствора нитрита натрия. Затем в смесь вносят азид натрия (NaN_3) для связывания избытка азотистой кислоты и 3–4 кристаллика 1-нафтиламина или 1-нафтола. Наблюдают появление характерного окрашивания. При взаимодействии феназона с нитритом натрия в кислой среде образуется нитрозофеназон, который с 1-нафтиламином образует азокраситель красного цвета.



При добавлении 1-нафтола образуется индофеноловый краситель.



Окраска индофенолового красителя зависит от рН среды: в кислой среде – красная, в щелочной среде – синяя.

Пропифеназон проявляет выраженные восстановительные свойства и способен окисляться даже слабыми окислителями.

Реакция с хлоридом железа(III) К сухому остатку после испарения хлороформного экстракта добавляют несколько капель воды очищенной, 1 мл спирта, каплю 5% раствора хлорида железа(III) – наблюдают красно-коричневое окрашивание, которое при добавлении хлороводородной кислоты переходит в желтое.

Реакция с нитратом серебра. Сухой остаток растворяют в нескольких каплях воды очищенной, добавляют 2–5 капель 1% раствора нитрата серебра и нагревают 3–5 мин. Наблюдают фиолетовое окрашивание, затем образуется серо-коричневый осадок серебра.

Хроматография в тонком слое сорбента

Феназон. Для обнаружения феназона используют хроматографические пластинки со слоем оксида алюминия и систему растворителей ацетон – циклогексан 5:1. На пластинку наносят исследуемый раствор (извлечение из объекта) и «стандарт» (феназон). Пластинку после прохождения системы растворителей на расстояние 10 см и высушивания обрабатывают реактивом Драгендорфа или 5% раствором хлорида железа(III). Феназон в извлечении из объекта и «стандарт» должны проявиться в виде оранжевых (реактив Драгендорфа) или красных (хлорид железа(III)) пятен и иметь значение R_f $0,6 \pm 0,02$.

Пропифеназон. Для обнаружения пропифеназона с помощью ТСХ используют хроматографические пластинки «Сорбфил УФ-254» и систему растворителей гексан – толуол – диэтиламин при соотношении компонентов 37,5:7,5:5. Обнаружение ведут в присутствии «стандарта». На пластинку наносят спиртовый раствор пропифеназона в количестве 3–5 мкг и извлечение, полученное из объекта. После прохождения системы растворителей на высоту 10 см пластинку вынимают, высушивают. Пропифеназон на пластинке обнаруживают, используя следующие реактивы-проявители: хлорид железа(III), родамин С и УФ-облучение, реактив Драгендорфа (приготовленный по Мунье), пары йода. В указанных условиях R_f для пропифеназона равно $0,54 \pm 0,01$. Чувствительность обнаружения составляет 1–3 мкг пропифеназона в исследуемой пробе.

Спектрофотометрия

УФ-спектрофотометрия. Для обнаружения производных пиразола с помощью УФ-спектрофотометрии сухой остаток после испарения хлороформного извлечения из объе-

Таблица 29

Хроматографические характеристики производных пиразола

Производное пиразола	Время удерживания, мин	Спектральные отношения $R=A_{\lambda}/A_{210}$			
		220	240	250	280
Метамизол	5,54	0,623	0,531	0,557	0,217
Феназон	7,95	0,817	0,809	0,584	0,177
Пропифеназон	15,22	0,672	0,732	0,722	0,526

кта очищают, используя ТСХ. Исследуемые вещества с пластинки элюируют 0,1 М раствором серной (хлороводородной) кислоты, водой или спиртом. В полученных элюатах регистрируют спектр поглощения в области 210–320 нм. Феназон образует характерный максимум в растворе 0,1 М серной кислоты при 230 нм, метамизол в водном растворе – при 237 и 270 нм, в спиртовом – при 236 и 264 нм. Пропифеназон в водном растворе имеет характерный максимум при 240 нм, в спиртовом – при 246 и 278 нм, в 0,1 М растворе хлороводородной кислоты – при 238 нм.

ИК-спектроскопия. Для регистрации ИК-спектра сухой остаток после испарения хлороформного экстракта из объекта растирают с бромидом калия, помещают в матрицу, прессуют и полученный диск помещают в прибор. Феназон имеет характерные волновые числа в ИК-спектре при 1660, 770 и 1486 см⁻¹.

Высокоэффективная жидкостная хроматография

Обнаружение производных пиразола проводят с использованием «Миличром А-02» производства ЗАО «ЭкоНова» в условиях, описанных для производных фенотиазина (см раздел 8.3). Полученные на хроматограмме пики идентифицируют по времени удерживания и по спектральным отношениям (табл. 29).

Для обнаружения пропифеназона при отравлении сложными смесями («Каффетин», «Саридон») Т.Х. Вергейчик с соавторами предложены следующие условия при использовании ВЭЖХ.

Хроматограф «Миличром-4», колонка 8 см с обращенно-фазовым сорбентом «Сепарон С-18», детектор – УФ, подвижная фаза – ацетонитрил – вода – диэтиламин (60:40:4), масштаб регистрации – 2,0, скорость расхода элюента – 50 мкл/мин, объем вводной пробы – 3 мкл, детекция пиков при длинах волн – 238 и 276 нм.

Время удерживания компонентов указанных смесей составило для парацетамола – 3,08, пропифеназона – 5,73, кофеина – 4,0, кодеина – 4,67 мин. Чувствительность методики для пропифеназона – 0,03 мкг, для парацетамола и кофеина – по 0,02 мкг, для кодеина – 0,20 мкг вещества в пробе.

Количественное определение

Для количественного определения производных пиразола предложены фотоколориметрические методы, УФ-спектрофотометрия и ВЭЖХ.

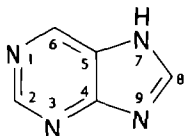
Фотоколориметрические методы основаны на получении окрашенных продуктов по реакции образования пиразолонового красителя (феназон) и ауринового красителя (метамизол).

УФ-спектрофотометрия. Этот метод сочетают с хроматографической очисткой (ТСХ) извлечений с последующим элюированием с пластинки производных пиразола раствором 0,1 М серной кислоты или спиртом. Оптическую плотность растворов (элюатов) определяют в максимуме светопоглощения для каждого вещества. Расчет содержания ведут по калибровочному графику или с использованием стандартного раствора определяемого вещества и его удельного показателя поглощения.

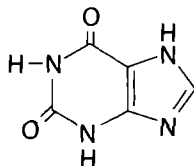
ВЭЖХ используют после очистки экстрактов из биологических объектов с помощью ТСХ. Для расчета количества производных пиразола в исследуемом объекте используют метод добавок, метод внутреннего стандарта или метод внешнего стандарта и формулы, приведенные ранее (см. раздел 8.1).

8.5. Производные пурина

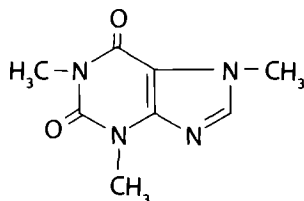
Из производных пурина наибольшее токсикологическое значение имеет кофеин (1,3,7-триметилксантин).



7-Н-пурин



ксантин (2, 6-диоксипурин)



кофеин

Токсикологическое значение. Главной особенностью кофеина как лекарственного препарата является его возбуждающее влияние на ЦНС. Кофеин содержится в листьях чая (*Thea sinensis*, *Camellia sinensis*, семейство *Theaceae*), орехах кола (*Cola nitida*, *Cola acuminata*, семейство *Sterculiaceae*), в зернах кофейного дерева (*Coffea arabica*, семейство *Rubiaceae*).

В медицинской практике используют кофеин и кофеин-бензоат натрия. Применяют препараты внутрь 2–3 раза в день по 0,05–0,1 г в качестве стимулятора ЦНС, кардиотонического средства, при спазмах сосудов. Для инъекций кофеин используют в виде кофеин-бензоата натрия.

Токсикомании, связанные со злоупотреблением стимуляторов ЦНС, имеют общие черты с наркоманиями амфетаминового ряда и эфедроновой наркоманией, но протекают мягче и без тяжелых последствий. Острая интоксикация вызывает эйфорию, ощущение бодрости, прилива сил, ясности мышления, стремление к активной деятельности. Для достижения желаемого эффекта требуется постоянно увеличивать дозу. Это приводит к резкому возрастанию толерантности. В результате прием кофеина может достигать 100–200 таблеток в сутки. Длительный прием истощает организм, ощущается разбитость, усталость, повышенная сонливость, вялость, фон настроения снижен, возникают мысли суицидального характера. Одновременно отмечается стойкая бессонница, что влечет наркомана к приему снотворных.

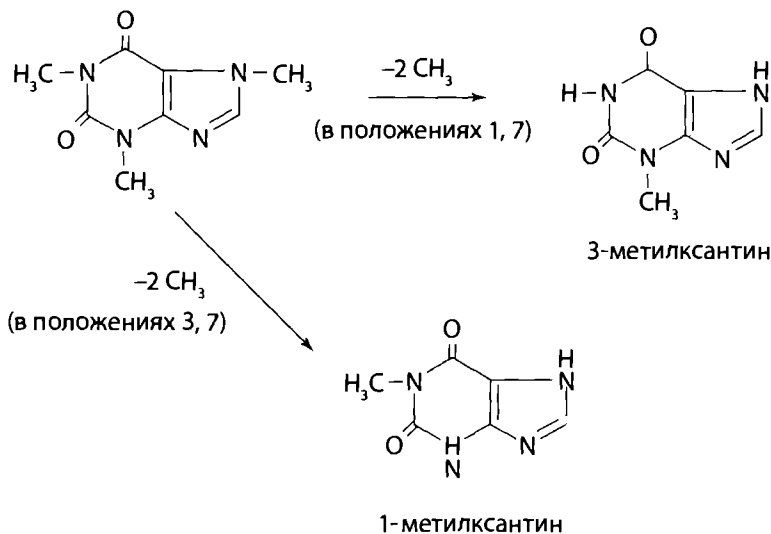
Хроническая интоксикация крепко заваренным чаем носит название «чифиризма». Чифирь – заварка чая, при которой 50 г чая настаивают с 200–300 мл горячей воды.

Для острых отравлений кофеином (чаще всего детей) характерно поражение желудочно-кишечного тракта, возбуждение ЦНС. За счет сильной стимуляции желудочной секреции возникает боль в эпигастрии, чувство жжения, иногда рвота. Артериальное давление падает, наблюдаются эпилептоидные и клонико-тонические судороги. Смерть наступает в течение 1–2 ч после отравления.

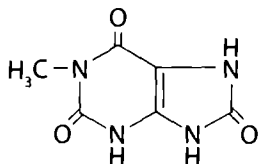
Патологоморфологическая картина при вскрытии погибших неспецифична. Отмечают увеличение массы и объема органов за счет сосудорасширяющего действия, резкий отек легких, головного мозга и его оболочек.

Пути метаболизма кофеина

Для кофеина характерна I фаза метаболизма, включающая деметилирование и окисление



Окислению подвергаются продукты деметилирования.



1-метилмочевая кислота

Физико-химические свойства. Кофеин – белый кристаллический порошок без запаха, на воздухе способен выветриваться, при нагревании – возгоняться. Кофеин медленно растворим в холодной воде (1:60), легко растворим в горячей воде, малорастворим в этаноле, но легко в хлороформе, практически нерастворим в диэтиловом эфире.

Кофеин обладает слабыми основными свойствами ($pK_a=0,6$). Устойчивых солей кофеин не образует.

При **изолировании** из биологических объектов общими методами (Стаса–Отто, Васильевой) кофеин экстрагируется хлороформом из растворов с $pH=2$.

При проведении *ТСХ-скрининга* (см. раздел 7.1.2) кофеин на пластинках фиксируется реактивом Драгендорфа в виде оранжевого пятна.

При использовании в процессе *аналитического скрининга* (см. раздел 7.1.8) осадительных реактивов кофеин образует аморфные осадки с большинством из них.

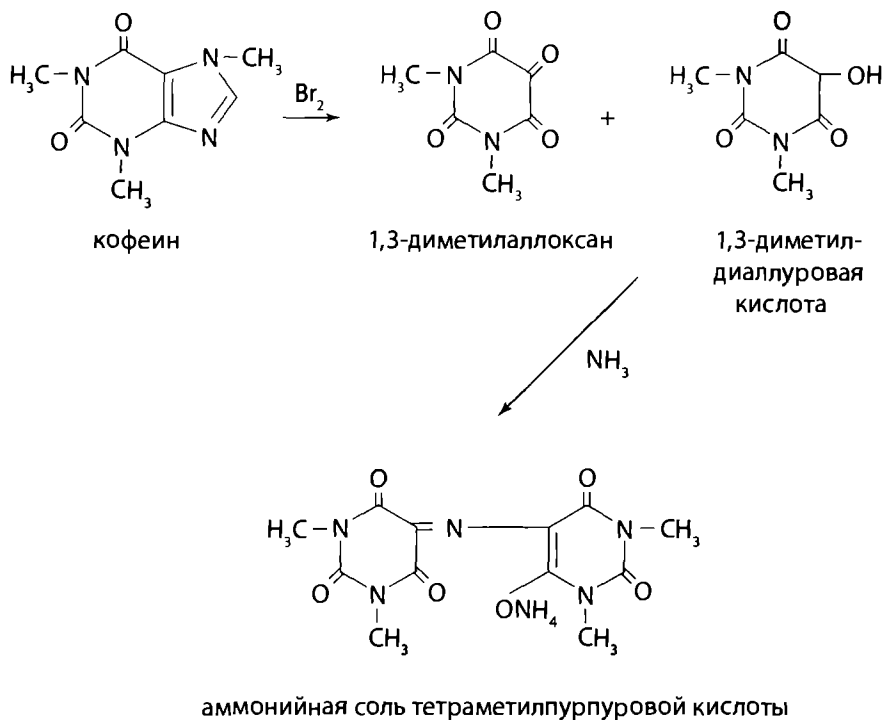
Для *обнаружения* кофеина используют цветные, микрокристаллоскопические реакции, хроматографию в тонком слое сорбента, УФ-спектрофотометрию, ИК-спектроскопию, ГЖХ и ВЭЖХ.

Обнаружение кофеина с помощью ТСХ проводят на пластинках «Силуфол УФ-254» со слоем силикагеля. Хроматографируют в системе растворителей хлороформ – ацетон (9:1) или толуол – ацетон – этанол – 25% раствор аммиака (45:45:7,5:2,5).

Сухой остаток растворяют в 3–4 каплях хлороформа, наносят на стартовую линию хроматографической пластинки. Рядом наносят «стандарт» (8–10 мкг) – раствор кофеина. Пластинку после окончания хроматографирования высушивают и обрабатывают реак-

тивом Драгендорфа – образующиеся оранжевые пятна по цвету и значению R_f должны быть идентичны пятну «стандарта» (R_f для кофеина в первой системе растворителей составляет $0,25 \pm 0,02$, во второй – $0,65 \pm 0,02$).

Реакция образования мурексида Для проведения реакции часть хлороформного экстракта из объекта испаряют в фарфоровой чашке досуха, добавляют 0,5–1,0 мл насыщенного раствора брома в воде и выпаривают досуха. Остаток при наличии кофеина приобретает красную или красно-бурую окраску, которая от капли 25% раствора аммиака переходит в пурпурную или фиолетовую.



Реакция с хлоридом ртути(II). На сухой остаток на предметном стекле наносят каплю 5% раствора хлорида ртути(II). Через 10–15 мин наблюдают образование крупных шелковистых бесцветных иглообразных кристаллов. Осадок представляет собой комплексное соединение состава $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2 \cdot \text{HgCl}_2$ (рис. 40)



Рис. 40. Кристаллы кофеина с хлоридом ртути(II)



Рис. 41. Кристаллы кофеина с золотобромоводородной кислотой

Хроматографические характеристики кофеина

Вещество	Время удерживания, мин	Спектральные отношения $R=A_i/A_{210}$			
		220	240	250	280
Кофеин	7,25	0,443	0,156	0,158	0,390

Реакция с золотобромоводородной кислотой. На сухой остаток на предметном стекле наносят каплю реактива, состоящего из 5% раствора хлорида золота, концентрированной хлороводородной кислоты и ацетона (1:1:1). К образовавшемуся осадку добавляют несколько кристаллов бромида калия – осадок окрашивается в оранжево-красный цвет. При рассматривании осадка под микроскопом наблюдают крупные желтовато-коричневые и бесцветные иглы (см. рис. 41).

Обнаружение кофеина по УФ- и ИК-спектрам. Часть остатка растворяют в этиловом спирте или в 0,1 М растворе хлороводородной кислоты и регистрируют спектр поглощения полученного раствора. Спектр кофеина имеет полосу поглощения с максимумом при 272–273 нм.

Часть остатка растворяют с бромидом калия, прессуют, помещают полученный диск в прибор и регистрируют ИК-спектр. При наличии в остатке кофеина обнаруживаются основные характеристические полосы при 1695, 1658 и 745 см⁻¹.

Высокоэффективная жидкостная хроматография. Исследование рекомендовано проводить на жидкостном хроматографе «Милихром А-02» производства ЗАО «ЭкоНова». Методика основана на градиентном хроматографировании анализируемого соединения в строго стандартных условиях с детектированием при 4–5 длинах волн. Условия проведения анализа описаны ранее (см. раздел 8.3). Для идентификации пиков на хроматограмме определяют время удерживания вещества и спектральные отношения (табл. 30).

Газожидкостная хроматография. Для анализа используют газожидкостный хроматограф «Кристалл-2000М» с кварцевой капиллярной колонкой и неподвижной жидкой фазой НР-5. Детектор пламенно-ионизационный. Газ-носитель – азот, давление – 110 кПа, деление потока – 1:15, расход водорода – 20 мл/мин, воздуха – 200 мл/мин, температура детектора – 300°C, испарителя – 250°C, колонки – 220°C. Время анализа – 20 мин. Объем вводимой пробы – 0,5–1 мкл очищенных спиртовых растворов остатков, полученных при испарении хлороформных экстрактов из биологических объектов. Одновременно в хроматограф вводят спиртовые растворы в том же объеме веществ-«реперов», которые позволяют идентифицировать исследуемые вещества без применения стандартов, используя справочные данные. Для обнаружения ядовитого вещества в исследуемой пробе фиксируют время удерживания определяемого соединения и логарифмический индекс удерживания (для кофеина он равен 2232).

Количественное определение. Проводится с помощью газожидкостной хроматографии и высокоэффективной жидкостной хроматографии.

При *определении с помощью ГЖХ* используют условия, описанные выше при качественном обнаружении кофеина. После хроматографирования измеряют высоту (площадь) пика исследуемого вещества и высоту (площадь) пика стандартного раствора кофеина. Расчет концентрации кофеина в исследуемом объекте проводят по калибровочному графику.

При *определении с помощью ВЭЖХ* рекомендуется использовать метод добавок, метод внутреннего стандарта и метод внешнего стандарта. Расчет концентрации проводят по соответствующим формулам (см. раздел 8.1).

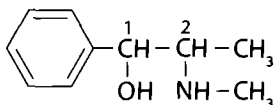
8.6. Производные фенилалкиламина

В токсикологической химии в этой группе рассматривают природный алкалоид эфедрин, его диастероизомер псевдоэфедрин, а также синтетические производные фенилалкиламинов: эфедрон, амфетамин и метамфетамин. Наибольшее медицинское применение имеет

эфедрин. Он используется в качестве сосудосуживающего и бронхорасширяющего средства. Амфетамин является психостимулятором. Его применение возможно при астенических явлениях после черепно-мозговых травм, после длительного постельного режима

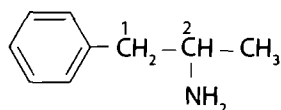
Применение производных фенилалкиламинов, особенно амфетамина и близких ему по химическому строению соединений, ограничено. Это связано с тем, что побочным эффектом их действия является эйфорическое состояние, т.е. эти производные имеют высокий наркоманический потенциал.

В данном разделе остановимся на наиболее известных соединениях, имеющих токсикологическое значение.



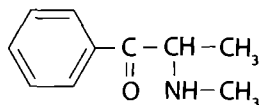
эфедрин

L-эритро-2-метиламино-1-фенилпропанол-1



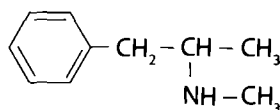
амфетамин

1-фенил-2-аминопропан



эфедрон

1-метиламиноэтил-фенилкетон

метиламфетамин
(метамфетамин, первитин)

1-фенил-2-метиламинопропан

Амфетамин в виде таблеток по 0,01 г применяется в настоящее время очень редко, что связано с побочными влияниями (нарушение высшей нервной деятельности, повышение артериального давления, аритмии, сонливость, апатия вместо возбуждения, потеря работоспособности, формирование зависимости, увеличение вероятности мозговых кровоизлияний, параноидные психозы). Амфетамин используется с такими же ограничениями, как и любое наркотическое средство. Благодаря стойкости в организме его действие длится от 2 до 8 ч.

За счет повышения настроения, физической активности, работоспособности, снижения усталости амфетамин и метамфетамин использовались в качестве допинговых средств для увеличения спортивных показателей. В настоящее время эти препараты взяты под особый контроль и запрещены для использования спортсменами.

Метамфетамин в РФ перенесен в список №1 Постоянного Комитета РФ по контролю наркотиков, и оборот его полностью запрещен.

Злоупотребление амфетаминами часто сочетается со злоупотреблением спиртными напитками и снотворными средствами, что приводит к более грубым личностным изменениям, и по клинической картине они близки к кокаинизму. По данным Н.В. Веселовской, амфетамины вначале вызывают прилив сил, эйфорию, потерю аппетита, учащение пульса и дыхания, расширение зрачков. Длительный прием амфетаминов приводит к быстрому снижению веса, иммунитета, разрушению легких, печени, почек, ухудшению зрения, головокружению, потере координации и коллапсу. Психическая зависимость развивается очень быстро – после 3–5 внутривенных инъекций и через 2–3 нед. нерегулярного орального приема. Физическая зависимость характеризуется признаками синдрома отмены. Абстинентный синдром возникает через 9 ч после отмены препарата и может длиться до 10 нед. За счет развивающейся толерантности разовая доза амфетамина может достигать до 1 г, метамфетамина – до 0,8 г.

Прием больших доз («сверхдоза») сопровождается увеличением кровяного давления, появлением лихорадочного состояния, токсическими («амфетаминовыми») психозами, подобными параноидной шизофренией, сердечными приступами и инфарктом. Картина острого отравления амфетамином похожа на острое смертельное отравление кофеином и дополняется нарушением сердечной проводимости.

Эфедрин – алкалоид, содержащийся в различных видах эфедры (*Ephedra*, семейство *Ephedraceae*). Он применяется в медицинской практике в виде гидрохлорида. Его назначают для стимулирования α - и β -адренорецепторов, ЦНС, для сужения сосудов и уменьшения воспалительных процессов при ринитах, для повышения артериального давления, при оперативных вмешательствах, при травмах, кровопотерях, при миастении, нарколепсии (непреодолимого желания спать), отравлении снотворными и наркотическими средствами, местно – как сосудосуживающее средство, при бронхоспазмах и для расширения зрачка с диагностической целью. Применяют эфедрин в виде порошка, таблеток, инъекционных растворов. Эфедрин гидрохлорид входит в состав комбинированных лекарственных препаратов («Теофедрин», «Солутан», «Бронхолитин», «Эфатин») и назначается при бронхоспазмах.

К эфедрину может быть привыкание, что приводит к нарушению психики, слуховым и обонятельным галлюцинациям.

В судебно-медицинской практике отравления эфедринем встречаются при использовании его в качестве гипертензивного препарата для искусственного повышения артериального давления. Клиника острого отравления (1–5 мг/кг) характеризуется вначале бессонницей, головокружением, тремором конечностей, сердцебиением, повышением артериального давления, аритмией, затем возникают тошнота, рвота, задержка мочеиспускания, возбуждение ЦНС, резкое психическое и двигательное беспокойство, отек легких, повышенная возбудимость дыхательного центра и его истощение.

Эфедрон (маршефаль, джеф) – продукт окисления эфедрина. Его использование наблюдалось в основном в России. Злоупотребление этим веществом носит название «эфедроновой наркомании». Эфедрон отнесен Постоянным Комитетом РФ по наркотикам к списку № 1, и оборот его в нашей стране запрещен.

Эфедронем начинают злоупотреблять подростки. Вводится эфедрон с наркотической целью от 2 до 80 мл кустарно изготовленного средства в сутки неопределенной концентрации. С повышением толерантности число инъекций может достигать до 10 раз в сутки и более. Наркотический эффект развивается сразу или через 15–20 мин и длится 6–8 ч. Состояние опьянения характеризуется чувством эйфории, прилива энергии, легкости тела, ясности мысли, повышенной трудоспособности. Больные многословны, суетливы, деятельность их непродуктивна, свое состояние они оценивают как «*состояние счастья, безмерной радости*». При введении наркотика наблюдаются вегетативно-сосудистые изменения: возникает ощущение ползания мурашек, «*волосы встают дыбом на голове*», развивается тахикардия, сухость во рту, повышается артериальное давление. У больных наблюдаются тяжелые неврологические и психические расстройства. Психозы характеризуются бредом преследования, ревности, тревогой, страхом, больные боятся людных мест, не могут переходить улицу, пользоваться метро и т.д. Одновременно они ищут общения и отличаются многословием, непоследовательностью, суетливостью, неусидчивостью.

Метилениксипроизводные амфетамина. Эта группа соединений получила широкое распространение в настоящее время во многих странах, в том числе и в РФ, за счет их способности вызывать легкую эйфорию и особое психическое состояние, для которого характерно обострение эмоционального восприятия, возрастание силы эмоций и ощущений. Долгое время считалось, что эти вещества безопасны, их применяли в психиатрии для снятия беспокойства пациентов. При изучении последствий применения этих препаратов появились сообщения о вредных побочных эффектах, психических отклонениях и серьезных мозговых нарушениях. Все соединения этой группы по Конвенции ООН и Постоянным Комитетом по контролю наркотиков РФ запрещены для употребления и введены в список № 1.

Популярным наркотиком в увеселительных заведениях является метилendioкси-метамфетамин – МДМА («уличное» название «экстази»). Это белые, красные, розовые таблетки круглой формы с вдавленным рисунком (серп и молот, торговый знак «мерседес», стилизованный зайчик и т.д.). У человека, принявшего препарат, сердце бьется быстрее в такт современной музыки, человека переполняет радость и счастье. Молодежь не считает это вещество наркотиком. Чтобы не устать на дискотеке всю ночь, подростки принимают 3–4 таблетки, через 2 дня организм требует 6, затем 10, 12 таблеток и т.д. В состоянии эйфории человек теряет потребность в пище, он живет за счет внутренних резервов. За ночь человек худеет примерно на 6 кг.

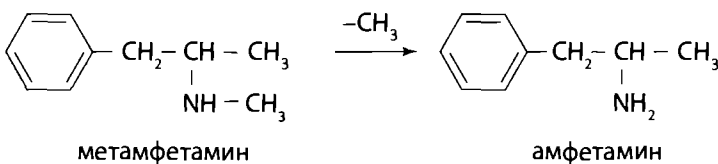
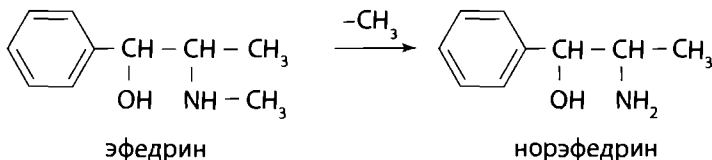
Последствия применения таблеток «экстази» – психозы, депрессии, необратимое разрушение личности, отмечены многочисленные случаи тяжелых психических заболеваний. Этому способствует окружающая обстановка дискотек и вечеринок, большое скопление людей, повышенная температура помещений, длительная и интенсивная физическая нагрузка. При незначительной передозировке возможен летальный исход. Смерть наступает в результате осложнений сердечно-сосудистой системы, острой сердечной недостаточности, остановки сердца, отказа почек, гипертермии (до 40–42°C). При патологоанатомическом исследовании погибших отмечают значительные изменения печени, почек, мозга.

Пути метаболизма. Препараты группы фенилалкиламинов быстро всасываются из ЖКТ после орального применения. Они легко преодолевают гематоэнцефалический барьер. В метаболизме фенилалкиламинов можно выделить следующие основные процессы. В I фазе метаболизма проходит окислительное дезаминирование, гидроксילирование ароматического кольца, деалкилирование у азота боковой цепи. Во II фазе метаболизма гидроксильрованные метаболиты образуют конъюгаты с глюкуроновой и серной кислотами.

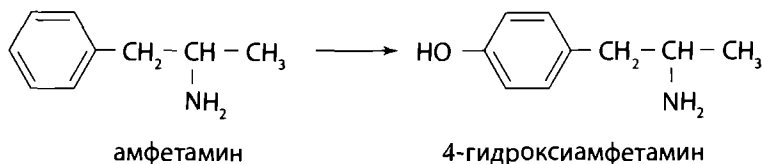
В неизмененном виде амфетамин и эфедрон выводятся с мочой в количестве 20–30%, метамфетамин – около 45%, эфедрин – 55–75%, норэфедрин – 90%.

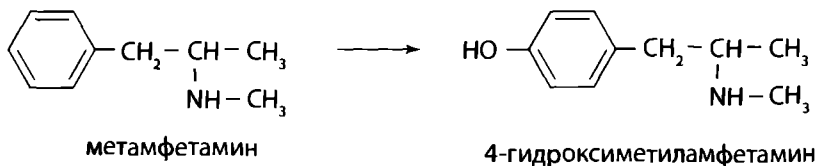
I фаза метаболизма

1) деметилирование

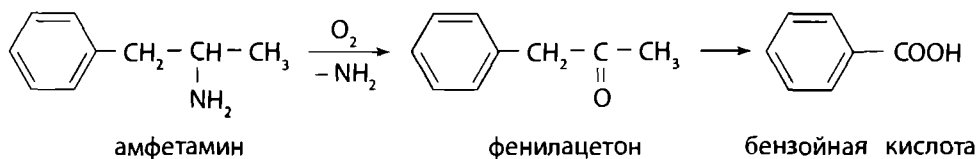


2) ароматическое гидроксילирование

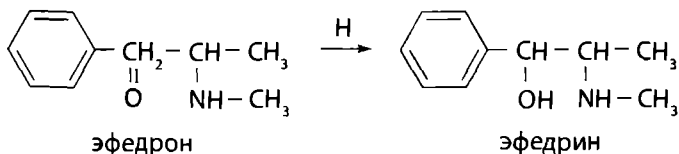




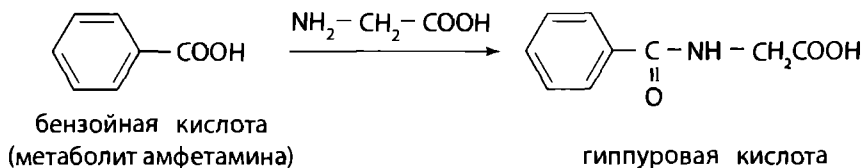
3) дезаминирование, окисление



4) восстановление



II фаза – конъюгация с аминокислотой (глицином)



Физико-химические свойства фенилалкиламинов. В виде солей хлороводородной кислоты это белые кристаллические вещества без запаха, легко растворимы в воде, этаноле, практически нерастворимы в диэтиловом эфире и хлороформе. Все производные фенилалкиламинов – вещества основного характера (табл. 31).

Основания этих веществ, за исключением эфедрина, представляют собой маслянистые, труднолетучие жидкости. Они хорошо растворимы в этаноле, хлороформе, диэтиловом эфире. Основание эфедрина хорошо растворимо в воде.

При **изолировании** из биологических объектов общими методами (ненаправленный анализ) производные фенилалкиламинов экстрагируются хлороформом в виде оснований из водных вытяжек при pH=8–10. При направленном анализе производные фенилалкиламинов экстрагируют из водных вытяжек при pH=12 диэтиловым эфиром или хлороформом. Рекомендуется для изолирования производных фенилалкиламинов из мочи использовать твердофазную экстракцию. Для очистки извлечений предложена рекстракция при разных значениях pH.

Таблица 31

Значения pKa для производных фенилалкиламинов

Вещество	pKa
Эфедрин	9,6
Эфедрон	9,0
Амфетамин	9,9
Метамфетамин	10,1

При проведении *общего ТСХ-скрининга* (см. раздел 7.1.2) фенилалкиламины обнаруживают на хроматографических пластинках с помощью реактива Драгендорфа.

С *осадительными реактивами* фенилалкиламины образуют аморфные или кристаллические осадки (см. раздел 7.1.8).

Для *обнаружения* производных фенилалкиламинов используют хроматографию в тонком слое сорбента, УФ-спектрофотометрию и ИК-спектроскопию, ВЭЖХ, ГЖ, ГХ/МС и химический метод.

Хроматография в тонком слое сорбента. Остаток после испарения экстракта из водной вытяжки при $\text{pH}=11-12$ наносят на пластинки «Сорбфил». Параллельно на стартовую линию наносят спиртовые растворы «стандартов» (по 10–15 мкг) эфедрина, эфедрона, метамфетамина. Пластинки помещают в системы растворителей бензол – этанол – диэтиламин (9:1:1), хлороформ – ацетон – этанол – 25% раствор аммиака (20:20:3:1) или толуол – этанол – триэтиламин (9:1:1). После пробега фронта растворителя на расстоянии 10 см пластинку вынимают, высушивают и фенилалкиламины обнаруживают путем обработки пластинки реактивом Драгендорфа – появляются оранжевые пятна. При опрыскивании пластинки раствором нингидрина в ацетоне (или *n*-бутаноле) и при нагревании в сушильном шкафу при 70–80°C эфедрин и эфедрон образуют пятна на пластинке, окрашенные в синий или сине-фиолетовый цвет, амфетамин – пятна голубого цвета, метамфетамин – желто-коричневого. При анализе с использованием системы растворителей бензол – этанол – диэтиламин (9:1:1) R_f для эфедрина составляет $0,41 \pm 0,02$, для эфедрона – $0,65 \pm 0,02$, для метамфетамина – $0,42 \pm 0,02$.

УФ-спектрофотометрия используется после очистки извлечений (экстрактов) из объектов с помощью хроматографии в тонком слое сорбента и элюирования с пластинки очищенных соединений 0,1 М раствором хлороводородной кислоты. Эфедрин, амфетамин и метамфетамин в среде хлороводородной кислоты имеют три полосы поглощения с максимумами при 251, 257 и 263 нм. В УФ-спектре раствора эфедрона обнаруживается одна полоса с максимумом при длине волны 251 нм.

ИК-спектроскопия. Остаток после испарения хлороформного экстракта очищают с помощью тонкослойной хроматографии, с пластинки фенилалкиламины элюируют этанолом, который испаряют досуха. Сухой остаток растирают с бромидом калия, прессуют и анализируют в ИК-спектрометре. Основные характеристические полосы для производных фенилалкиламинов представлены в таблице 32.

Высокоэффективная жидкостная хроматография. Для обнаружения фенилалкиламинов с помощью ВЭЖХ рекомендуются следующие условия (С.К.Еремин): прибор «Милихром», колонка 62×2 мм, сорбент обращенно-фазовый «Сепарон С-18» (5 мкм), подвижная фаза (элюент) – смесь водного 0,2 М раствора ортофосфорной кислоты, метанола и диэтиламина 75:20:1, детектирование при 210 нм, скорость элюирования – 50 мкл/мин, объем вводимой пробы – 7 мкл, масштаб чувствительности – 0,4 е.о.п.

Обнаружение производных фенилалкиламинов проводят по времени (объему) удерживания (см. табл. 33).

При анализе извлечений в условиях, описанных ранее (см. раздел 8.3), обнаружение производных фенилалкиламинов проводят по времени (объему) удерживания и по спектральным отношениям (см. табл. 34).

Газохроматографический анализ в сочетании с масс-спектрометрией (ГХ/МС). Проводится после получения фторпроизводных с использованием детектора по захвату электронов.

Сухой остаток после испарения экстракта из водной вытяжки с $\text{pH}=11-12$ растворяют в 0,5–1 мл толуола и добавляют соответствующий реактив для перевода фенилалкиламинов в летучее фторпроизводное по методике, описанной ранее в разделе 7.2.3. Смесь нагревают до 60°C 30 мин. После охлаждения добавляют 5% раствор гидрокарбоната натрия и верхнюю фазу, содержащую фторпроизводные, вводят в газовый хроматограф, соединенный с масс-спектрометром. Обнаружение фенилалкиламинов проводят

Таблица 32

Обнаружение фенилалкиламинов по ИК-спектру

Вещество	Характеристические полосы, см ⁻¹
Амфетамин	700, 740, 825, 1090, 1495, 1605
Метамфетамин	698, 747, 1060, 1085, 1491, 1590
Эфедрин	699, 754, 760, 994, 1049, 1242, 1400, 1480, 1605
Эфедрон	702, 757, 1510, 1590, 1695

Таблица 33

Хроматографические характеристики фенилалкиламинов

Вещество	Объем удерживания, мкл	Чувствительность, мкг/мл · 10 ⁶	Предел обнаружения, мкг
Эфедрин	383	1,7	6,0
Эфедрон	455	1,0	10,0
Амфетамин	494	6,1	1,6
Метамфетамин	639	1,25	8,0

Таблица 34

Обнаружение фенилалкиламинов по времени (объему) удерживания и спектральным отношениям

Вещество	Объем удерживания, мкл	Спектральные отношения A _i /A ₂₁₀						
		220	230	240	250	260	280	300
Эфедрин	1088	0,164	0,004	0,009	0,018	0,021	0,001	0,001
Эфедрон	1064	0,148	0,436	1,068	1,526	1,076	0,182	0,088
Амфетамин	1198	0,114	0,002	0,007	0,017	0,021	0,000	0,000
Метамфетамин	1145	0,166	0,003	0,008	0,017	0,020	0,000	0,001
МДМФ (экстази)	1280	0,365	0,487	0,461	0,119	0,073	0,438	0,094

по времени удерживания и характерным линиям, выражающим отношение m/z в масс-спектре.

Химический метод. Из химических реакций для обнаружения производных фенилалкиламинов используют реакции окрашивания, комплексообразования и микрокристаллоскопические.

Реакции окрашивания. Проводятся на фарфоровых чашках с сухими остатками, полученными после испарения экстрактов из биологических объектов.

Реакция с реактивом Марки На сухой остаток наносят реактив Марки. При наличии амфетамина наблюдают оранжевое окрашивание, переходящее постепенно в коричневое. При наличии метамфетамина образуется желто-зеленое окрашивание.

Реакция с нингидрином. При добавлении к сухому остатку гидроксида натрия до $pH=8,5$, раствора нингидрина и последующем нагревании эфедрин образует синефиолетовое окрашивание, эфедрон – фиолетовое, амфетамин – розово-оранжевое, метамфетамин – зеленое.

Микрокристаллоскопические реакции. Из производных фенилалкиламинов кристаллические осадки образует с различными реактивами только эфедрин. На сухой остаток наносят каплю 0,1 М раствора хлороводородной кислоты и каплю соответствующего реактива. Через 10–15 мин наблюдают кристаллы характерной формы при рассматривании под микроскопом.

Реакция с реактивом Драгендорфа в модификации А. С Тищенко. Состав используемого реактива: 1,5 г висмутата натрия ($NaBiO_3$), 7,5 г йодида калия (KI) растворяют в 100 мл 2% раствора серной кислоты. Эфедрин с данным реактивом образует игольчатые кристаллы и кристаллы в виде пластинок неправильной формы и сростки из них (рис. 42).

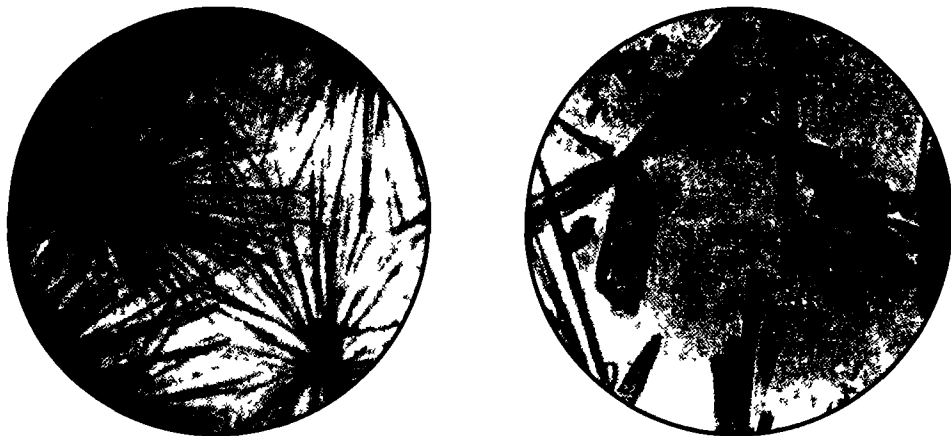


Рис. 42. Кристаллы эфедрина с реактивом Драгендорфа (по А. С. Тищенко)

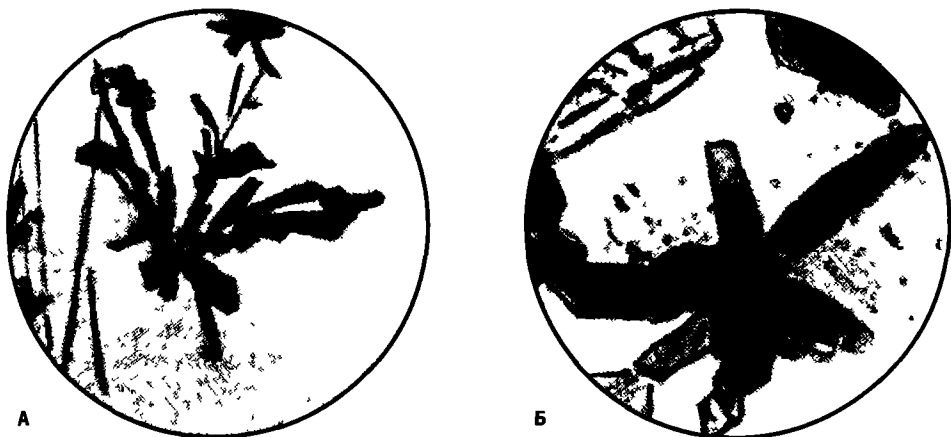


Рис. 43. Кристаллы эфедрина с платинохлороводородной кислотой

По этой реакции можно обнаружить 0,5 мкг эфедрина в пробе при предельном разбавлении 1:16 000. По данным М. Д. Швайковой, микрокристаллоскопическая реакция эфедрина с реактивом Драгендорфа специфична.

Реакция с платинохлороводородной кислотой и йодидом калия (А. С. Тищенко). К капле исследуемого раствора на предметном стекле добавляют каплю 0,5% раствора платинохлороводородной кислоты (H_2PtCl_6) и несколько кристаллов йодида калия. Через 15–20 мин. наблюдают образование красно-фиолетовых кристаллов в виде пластинок неправильной формы, собранных в сростки, напоминающие по форме ветки (рис. 43А) и розетки (рис. 43Б).

Экспресс-анализ производных амфетаминов

Анализ проводится с образцами изъятых вещественных доказательств (таблетки, порошки, капсулы и т.п.).

- *Обнаружение с реактивом Марки* На исследуемый образец наносят реактив. Наблюдают появление окрашивания (цвета образующихся продуктов описаны ранее).
- *Реакция с концентрированной серной кислотой.* Характерного окрашивания не образуют амфетамин и метамфетамин. Реакция используется для отличия амфетамина и метамфетамина от других производных.
- *Реакция с реактивом Симона.* При добавлении к испытуемому образцу 1 капли смеси равных объемов 10% раствора ацетальдегида и 1% раствора нитропруссид

натрия, а затем 2 капль 2% раствора карбоната натрия в присутствии метамфетамина появляется голубое окрашивание.

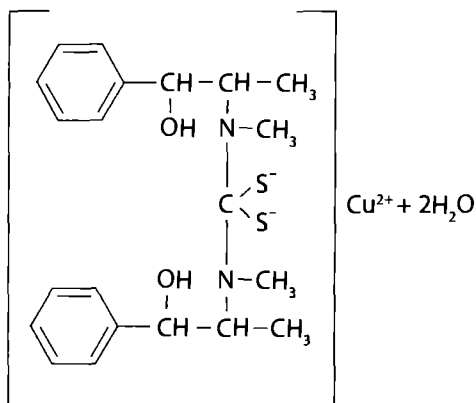
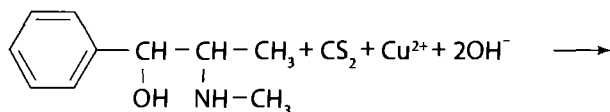
- *Реакция с модифицированным реактивом Симона.* При добавлении к образцу 1 капли 1% раствора нитропруссид натрия в 5% водном растворе ацетона и 1 капли 2% раствора карбоната натрия в присутствии амфетамина появляется пурпурная окраска.

Результатам реакций экспресс-анализа можно придать судебно-химическое значение только при получении отрицательного результата в связи с их неспецифичностью. Положительный результат реакций требует подтверждения с помощью физико-химических методов.

Количественное определение

Для количественного определения фенилалкиламинов используют фотометрический метод и высокоэффективную жидкостную хроматографию.

Экстракционно-фотометрический метод используется для определения эфедрина в моче. 5 мл мочи подщелачивают 0,5% раствором гидроксида натрия до pH=12 и экстрагируют 3 раза 20 мл диэтилового эфира. Эфирные экстракты объединяют и испаряют досуха. Остаток переносят в колориметрическую пробирку, добавляют до насыщения кристаллический сульфат натрия и смешивают с 1 мл аммиачного раствора сульфата меди и 3 мл 5% раствора сероуглерода в бензоле.



Слой бензола окрашивается в желтый цвет. Оптическую плотность измеряют с помощью спектрофотометра или фотоэлектроколориметра при длине волны 440 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Расчет количества эфедрина в моче проводят по калибровочному графику.

Высокоэффективная жидкостная хроматография. Условия определения описаны в разделе «Обнаружение фенилалкиламинов». Для количественного анализа применяют метод добавок. С этой целью проводят анализ экстракта из биологического объекта с добавлением в него известного количества обнаруженного фенилалкиламина. Расчет ведут по формуле (см. раздел 8.1).

Метод внешнего стандарта. Вначале проводят анализ экстракта из биологического объекта, а затем анализ эталонного раствора обнаруженного вещества с концентрацией, близкой к концентрации исследуемого соединения в экстракте. Расчет ведут по формуле (см. раздел 8.1).

Метод внутреннего стандарта. К объекту добавляют известное количество вещества, принятого за «стандарт». Концентрацию фенилалкиламина рассчитывают по формуле (см. раздел 8.1).

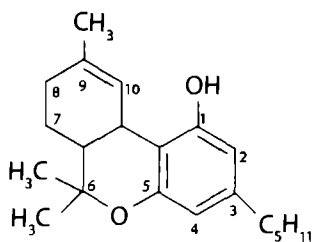
8.7. Каннабиноиды

К этой группе относят вещества, находящиеся в различных частях конопли посевной (*Cannabis sativa*). В конопле идентифицировано более 30 различных каннабиноидов. Наркоманы употребляют препараты конопли чаще всего в виде марихуаны и гашиша. Действие гашиша на организм в 5 раз сильнее, чем действие марихуаны.

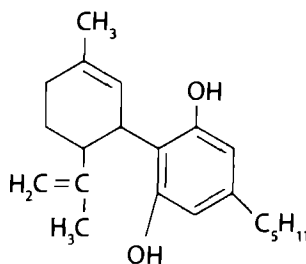
Конопля распространена повсеместно. Ее используют с давних пор как сельскохозяйственную культуру. Однако ее эйфоригенное действие известно так же давно. До нашей эры Геродотом было описано это растение и его использование: «В скифской земле произрастает конопля – растение, очень похожее на лен, но гораздо толще и крупнее. Ее там разводят, но встречается и дикорастущая конопля. Взяв конопляное семя, скифы подлезают под войлочную юрту, бросают его на раскаленные камни. От этого поднимается такой сильный дым и пар, что никакая элинская паровая баня не сравнится с такой баней. Наслаждаясь ею, скифы громко вопят от удовольствия. Это было частью культового обряда. Сжигаемые в юрте стебли конопли и семена производили дым, вызывающий опьянение. Люди и шаманы приходили в экстаз».

С XV до XX века в фармакопии некоторых стран входили препараты конопли. В Китае смолу каннабиса рекомендовали в качестве анестетика. В Европе и США использовали как лекарственное и психоактивное средство и свободно продавали в аптеках. До 1992 г. в США в медицинской практике марихуана ограничено использовалась для лечения больных СПИДом, онкологическими заболеваниями и глаукомой. С 1992 г. в США и Германии используется тетрагидроканнабинол для лечения глаукомы и токсикоза раковых больных, прошедших курс химиотерапии.

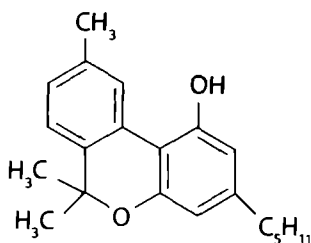
Основными каннабиноидами являются 5 соединений:



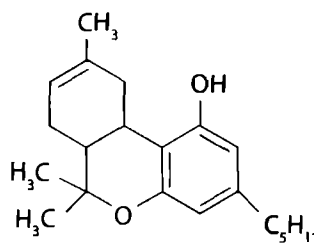
Δ^9 -тетрагидроканнабинол
 Δ^9 -ТГК



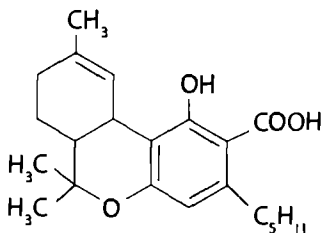
каннабидиол (КБД)



каннабинол (КБ)



Δ^8 -тетрагидроканнабинол
(Δ^8 -ТГК)



Δ⁹-тетрагидроканнабинол-2-карбоновая кислота (Δ⁹-ТГК-кислота)

В настоящее время каннабис, его препараты и все изомеры ТГК входят в список №1 Постоянного Комитета по контролю наркотиков РФ, что запрещает их использование с любыми, в том числе и медицинскими целями.

Токсикологическое значение

В XX столетии (1960–1970-е гг.) употребление марихуаны молодежью США и других стран достигло больших масштабов. Ее курят, смешивая с табаком, принимают внутрь, жуют, добавляют в сладости, напитки. Многими исследованиями было установлено, что марихуана постепенно вызывает наркотическое пристрастие, способствует переходу молодежи к другим «тяжелым» наркотикам: героину, кокаину, опию. В связи с этим отношение общества к проблеме свободного использования марихуаны коренным образом изменилось.

Наибольшее распространение на нелегальном коммерческом рынке получили следующие формы наркотических средств из конопли.

Марихуана – высушенная и измельченная верхняя часть растения с листьями и цветками. Содержание психоактивных веществ в марихуане доходит до 13–15%.

Гашиш (hash) – смола (смолка), производимая каннабисом (*Cannabis sativa*) в определенный период развития растения. Имеет зеленый, темно-коричневый или черный цвет. Содержание ТГК составляет 2–10%.

Гашишное масло – экстракт растительного материала или смолы каннабиса, полученный извлечением органическими растворителями. Это темная, жидкая, вязкая масса. Содержание ТГК колеблется от 10 до 60%.

В зависимости от способа изготовления полученные наркотические средства из конопли на черном рынке получили названия: «анаша», «харас», «хирус», «марихуана», «травка», «план», «киф», «дагга», «маханга» и др.

Способы употребления наркотических средств из конопли:

- Курение (вдыхание дыма). С этой целью используют сигареты с добавкой гашиша или гашишного масла. Наркотический эффект появляется через несколько минут.
- Оральное употребление. Чаще всего жевание, заварка, напитки, конфеты с добавкой марихуаны и т.д. Наркотический эффект появляется через 0,5–1 ч.

Действие одной дозы длится 3–5 ч, иногда 12 ч и более. При употреблении марихуаны, по описанию Э.А.Бабаяна, физиологическое действие на организм напоминает действие опия. Развивается эйфория, которая сопровождается двигательным и речевым возбуждением (появляется необходимость быстро ходить, прыгать, бегать, танцевать), яркими красочными галлюцинациями, ощущением беззаботности и веселья. В таком состоянии человек высказывает свои сокровенные мысли. Любые действия окружающих вызывают неудержимый смех, внимание отвлекается, ассоциации возникают легко и быстро. Возникает гипертрофия собственного «Я» (субъект считает себя высшим человеческим существом), раздвоение личности. Появляется чувство ужаса перед любым шумом (навязчивое ощущение тиканья часов, жужжания комара). Нарушается представление о времени и пространстве. Расстояние между двумя рядом стоящими предметами кажется настолько огромным, что рука никогда не дотянется до рядом стоящего стакана,

а вертикальная лестница у стены «тянется до самого неба». Наблюдается обострение эмоциональных переживаний (давно пережитые сцены прошлого оживают перед глазами в мельчайших деталях с острыми эмоциональными переживаниями). Затем наступает общая слабость, вялость, плаксивость и долгий, глубокий сон с замедлением пульса и понижением температуры тела. Характер действия гашиша зависит от особенностей организма, принятой дозы и активности наркотического средства. Длительное применение наркотических средств из конопли снижает умственные способности человека. Каннабиноиды поражают легкие, сердце, снижают содержание тестостерона (у мужчин), накапливаются в женских репродуктивных органах, вызывают токсическое действие на развитие плода, тяжелое течение родов и раннюю смерть младенцев.

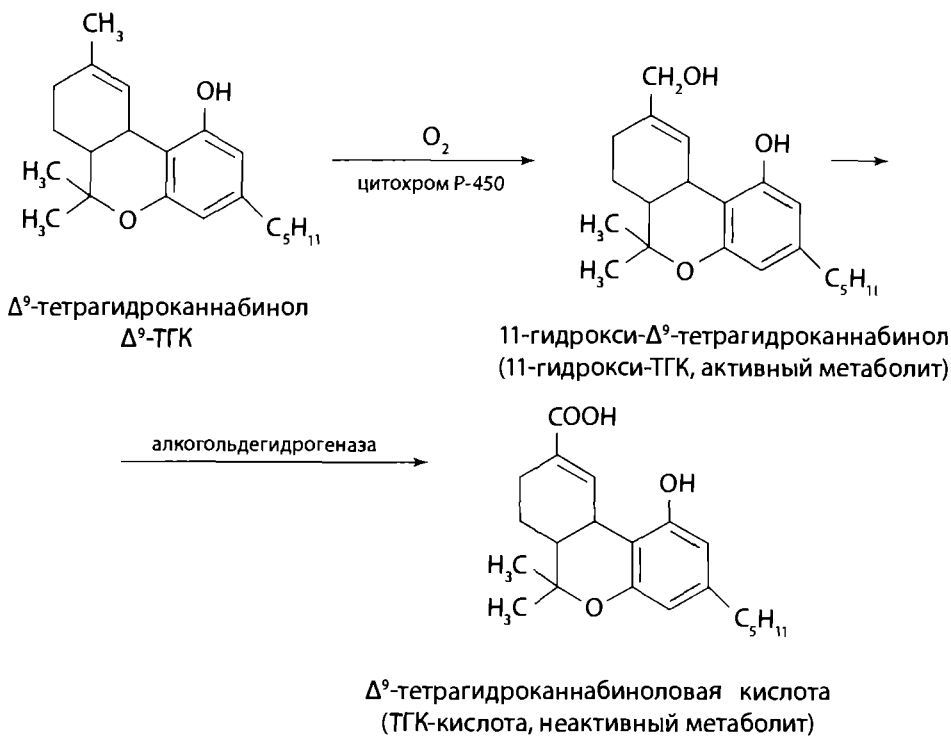
При смертельных отравлениях гашишем (в эксперименте на животных) в мозге выявляются тяжелые деструктивные нарушения (венозный застой, различная деструкция ганглиозных клеток вплоть до их гибели). В сердечной мышце отмечены очаговая дистрофия, кровоизлияния, в легких – полнокровие, массивные кровоизлияния, эмфизема, острая токсическая пневмония, в печени – тяжелая дистрофия.

Биотрансформация и пути метаболизма

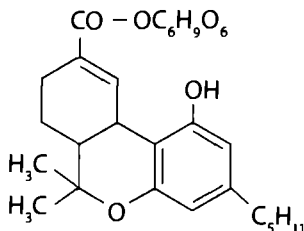
При курении каннабиноиды быстро всасываются в кровь. Вследствие разложения веществ возрастает количество физиологически активных соединений КБ и Δ^9 -ТГК. Концентрация ТГК в крови достигает максимума через 5–30 мин.

Метаболические процессы проходят активно. Известно около 50 метаболитов каннабиноидов. При введении каннабиноидов через рот за счет плохой растворимости концентрация в крови нарастает медленно и достигает максимума в зависимости от формы приема через 1–3 ч.

I фаза – окисление



II фаза – конъюгация с глюкуроновой кислотой



ТГК-СООН-глюкуронид

Накапливаются и подвергаются различным процессам метаболизма каннабиноиды в печени. Δ^9 -ТГК хорошо растворим в жирах, поэтому локализуется, в основном, в печени, почках, легких, мозге, селезенке, костном мозге.

Δ^9 -ТГК образует неактивный метаболит 11-норкарбоксих- Δ^9 -ТГК, который затем связывается в виде конъюгата с глюкуроновой кислотой. Метаболиты каннабиноидов выводятся с мочой, калом, секретом слюнных и молочных желез. В зависимости от введенной дозы наркотического средства, содержащего Δ^9 -ТГК, 80–90% выводится за 5 дней, из них 20% с мочой и 65% с калом. Основным метаболитом каннабиноидов является ТГК-кислота, которая на 80% выводится в виде конъюгатов с глюкуроновой и серной кислотами. С калом выводится Δ^9 -ТГК и ТГК-кислота, конъюгированные с желчными и жирными кислотами.

Физические свойства

Δ^9 -ТГК и Δ^9 -ТГК-кислота хорошо растворимы в этиловом спирте и ацетоне, практически нерастворимы в воде. Δ^9 -ТГК-кислота плохо растворима в хлороформе, диэтиловом эфире и нерастворима в бензоле, петролейном эфире. Это слабая кислота, она имеет $pK_a=10,6$.

Объекты анализа на каннабиноиды и их подготовка к исследованию

Смывы с губ, ладоней, пальцев рук. Для взятия проб с губ, ладоней, пальцев рук их протирают смоченным спиртом тампоном из марли или ваты. Из тампонов исследуемые соединения экстрагируют органическим растворителем (гексаном, этилацетатом или петролейным эфиром). Экстракты упаривают до объема 0,2–0,4 мл и подвергают анализу.

Слюна и смывы со рта. Отбирают 10 мл слюны или ополаскивают рот 50 мл 70% этанола, к которому до насыщения добавлен хлорид натрия (с целью исключения возможности проглатывания). Каннабиноиды повторно экстрагируют этилацетатом. Полученные экстракты упаривают до объема нескольких капель и анализируют.

Плазма. 5 мл плазмы экстрагируют смесью петролейного эфира, содержащего 1,5% пентанола по объему. Экстракт упаривают до нескольких капель и исследуют.

Моча. 50 мл мочи подвергают щелочному гидролизу и образовавшуюся Δ^9 -ТГК-кислоту после подкисления экстрагируют органическим растворителем, упаривают, переводят в метиловый эфир и анализируют методами ГЖХ и ГХ-МС.

Волосы отбирают и готовят к исследованию, как описано ранее (см. раздел 6.3). Для анализа используют хроматомасс-спектрометрию (см. раздел 7.2.3).

Образцы наркотических средств (гашиш, марихуана, гашишное масло). Навеску образца берут в количестве 0,5–1 г и экстрагируют в течение 1 ч десятикратным количеством 96% этилового спирта, фильтруют, упаривают до небольшого объема и анализируют. Гашишное масло смешивают с 96% этиловым спиртом в соотношении 1:10 и анализируют

Методы обнаружения каннабиноидов

Для обнаружения каннабиноидов в извлечениях из объектов используют химический метод, хроматографию в тонком слое сорбента, ГЖХ, ВЭЖХ, ГХ-МС и иммуоферментный метод. При анализе образцов наркотических средств анализ сочетается с микроскопическим исследованием.

Таблица 35

Хроматографические характеристики основных каннабиноидов

Каннабиноид	Объем удерживания	Спектральные отношения S_{λ}/S_{210}						
		220	230	240	250	260	280	300
Каннабинол	3556	1,157	0,823	0,412	0,122	0,238	0,607	0,412
Тетрагидроканнабинол	3702	0,407	0,233	0,093	0,012	0,012	0,026	0,000

Реакции окрашивания (предварительное исследование).

1. Экстракт из объекта в объеме нескольких капель наносят на фильтровальную бумагу, подсушивают и обрабатывают 0,5% раствором прочного синего Б в 10% растворе гидрокарбоната натрия. Каннабиноиды обнаруживаются на бумаге в виде пурпурно-красного пятна.
2. К части экстракта добавляют ацетальдегид, раствор ванилина в 96% этиловом спирте, концентрированную хлороводородную кислоту и 1 мл хлороформа. При встряхивании слой хлороформа окрашивается в фиолетовый цвет.

Реакциям придают судебно-химическое значение при получении отрицательного результата.

Хроматография в тонком слое сорбента. Анализ проводят на хроматографических пластинках «Силуфол». На стартовую линию хроматограммы наносят экстракт, полученный из слюны, плазмы крови, смывов со рта, мочи и помещают в систему растворителей петролейный эфир – диэтиловый эфир (4:1). Хроматографирование осуществляют двукратно. После подсушивания пластинку обрабатывают 0,5% раствором прочного синего Б в 10% растворе карбоната (или гидрокарбоната) натрия. Каннабиноиды на пластинке проявляются в виде окрашенных полос или пятен красного, пурпурного, оранжевого цвета (каннабинол образует пятно с R_f 0,76 пурпурного цвета, тетрагидроканнабинол – с R_f 0,84 красного цвета).

Иммуноферментный метод. Этот метод отличается простотой выполнения и высокой чувствительностью. С его помощью можно обнаружить многие метаболиты каннабиноидов. У лиц, хронически употребляющих каннабиноиды, после последнего употребления этим методом можно их обнаружить в течение 77 дней, а у периодически употреблявших – в течение 29 дней.

Метод ГЖХ. Используется хроматограф Agilent 6890N, с капиллярными колонками длиной до 30 м, режимом постоянного давления 17 пси. Объем вводимой пробы – 1 мкл. Температура термостата колонок программируется от 200 до 280°C (10°C/мин). Температура детектора – 300°C, поток водорода – 30 мл/мин. Температура испарителя – 270°C. Время удерживания Δ^9 -ТГК составляет в данных условиях 7,57 мин.

Метод ВЭЖХ. Этот метод отличается большей селективностью, чем ТСХ и реакции окрашивания. Для обнаружения используется жидкостный хроматограф «Милюхром А-02» в условиях, приведенных ранее (см. раздел 8.3). Обнаружение каннабиноидов ведут по удерживаемому объему или времени удерживания и по спектральным отношениям при нескольких длинах волн (табл. 35).

Метод газовой хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией. После подготовки пробы мочи к анализу и метилирования Δ^9 -ТГК-кислоты пробу вводят в хромато-масс-спектрометр. Разделение веществ и их обнаружение проводят по методике, описанной ранее (см. раздел 7.2.3). Метилловый эфир Δ^9 -ТГК-кислоты имеет характерные отношения масса/заряд (m/z): 372, 357 и 313. Для Δ^9 -ТГК характерны масс-фрагменты m/z 314, 299, а для метилового эфира Δ^9 -ТГК – фрагменты с отношением m/z 328, 313.

Анализ образцов наркотических средств (гашиш, марихуана) и частей конопли, изъятых из содержимого желудка

Для отделения твердых включений при осмотре объектов (содержимого желудка) рекомендуется смешать их с водой очищенной, слить в конический сосуд или отцентрифу-

гировать в пробирке и выделившийся осадок подвергнуть микроскопическому исследованию. Характерными признаками присутствия в объекте частей конопли являются наличие нежелезистых волосков, многоклеточных и одноклеточных железистых волосков трех форм: сидящих на одноклеточной ножке, длинных на многоклеточной ножке, небольших железистых с одноклеточной ножкой, пыльцевых зерен округлой формы, скоплений клеток, выделяющих смолу (см. раздел 7.2.7, рис. 27).

Количественное определение

Для количественного определения каннабиноидов в анализируемом объекте предложены методы газовой хроматографии и высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Метод газовой хроматографии. Определение проводят по площади или высоте пика анализируемого вещества и внутреннего стандарта. В качестве внутреннего стандарта используют аналог исследуемого вещества, меченного стабильным изотопом, в частности, дейтерированные соединения. Хроматографический внутренний стандарт добавляют в анализируемую пробу непосредственно перед вводом в хроматограф в концентрации, сопоставимой с концентрацией анализируемого вещества. Чтобы контролировать весь процесс пробоподготовки и анализа, внутренний стандарт часто рекомендуют добавлять к аликвоте биожидкости, отобранной для гидролиза или изолирования. В этом случае внутренний стандарт подвергается всем операциям вместе с анализируемым веществом. В таком варианте использования внутреннего стандарта результаты количественного определения будут более точными и воспроизводимыми.

Содержание каннабиноидов рассчитывают по калибровочному графику, выражающему зависимость высоты (площади) пика ионов анализируемого вещества (внутреннего стандарта) от концентрации в диапазоне 1,0–10,0 мкг/мл.

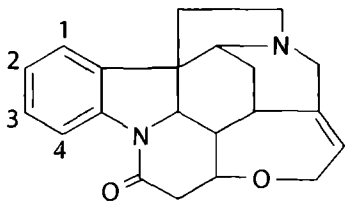
Высокоэффективная жидкостная хроматография. Определение концентрации каннабиноидов проводят, используя метод добавок, метод внутреннего или внешнего стандарта. Формулы для расчета количества каннабиноидов и методики определения приведены в разделе 8.1.

8.8. Производные индола и некоторые галлюциногены

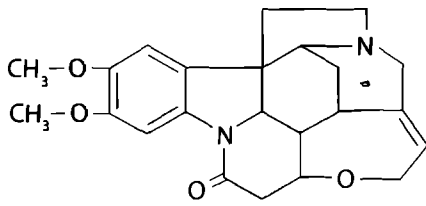
Производные индола имеют важное токсикологическое значение. На протяжении нескольких столетий были известны две группы ядовитых веществ производных индола: алкалоиды чилибухи и алкалоиды спорыньи. С 1940-х годов стала известна группа галлюциногенов, одним из которых является диэтиламид лизергиновой кислоты. Поэтому производные индола следует рассматривать в двух разделах.

8.8.1. Алкалоиды чилибухи

Главными алкалоидами чилибухи (*Strychnos nux vomica*, семейство *Loganiaceae*) являются стрихнин и бруцин.



стрихнин



бруцин

Стрихнина нитрат – бесцветные блестящие игольчатые кристаллы, горького вкуса, растворимые в воде, хлороформе, спирте, почти нерастворимы в эфире. В виде основания стрихнин растворим в хлороформе, этиловом спирте, слабо растворим в диэтиловом эфире и воде.

Бруцин – кристаллическое вещество. Он трудно растворим даже в горячей воде, легко растворим в спирте, хлороформе и почти нерастворим в эфире.

В медицинской практике применяют стрихнина нитрат в качестве средства, возбуждающего ЦНС, особенно спинной мозг, при параличах мышц, вялости кишечника, сердечной слабости по 1–1,5 мг, в виде подкожных инъекций по 0,5–1,0 мл 0,1% раствора. В терапевтических дозах стрихнин оказывает стимулирующее действие на органы чувств (обостряет зрение, вкус, слух, тактильное чувство), возбуждает сосудодвигательный и дыхательный центры, тонизирует скелетную мускулатуру, а также мышцу сердца, стимулирует процессы обмена. Формы выпуска препаратов: 0,1% раствор стрихнина нитрата в ампулах, экстракт чилибухи сухой, настойка чилибухи, препарат «Дуплекс», содержащий раствор стрихнина нитрата и арсенат натрия.

Токсикологическое значение

Стрихнин как стимулятор ЦНС относится к числу допинговых средств – веществ, способных улучшить спортивные показатели, работоспособность, силу мышц. Зарегистрированы случаи дисквалификации и гибели спортсменов при применении допинговых препаратов. Стрихнин неоднократно служил орудием убийства. Стрихнин используется также в приманках для борьбы с грызунами и дикими животными. Средства для истребления грызунов и животных являлись источником отравления в результате несчастных случаев или суицидов

Стрихнина нитрат легко всасывается через слизистую ЖКТ. Летальная доза для взрослых – 0,1–0,3 г, для детей – 0,005 г

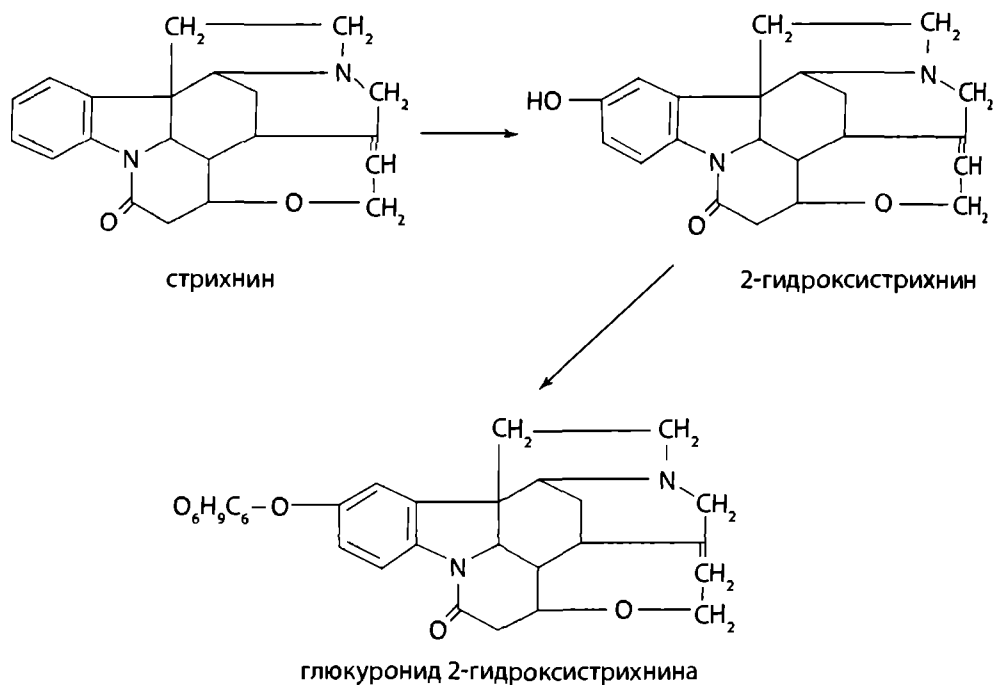
Токсическое действие стрихнина связано с поражением спинного и продолговатого мозга, повышением рефлекторной возбудимости спинномозговых центров. Отравление развивается быстро. Вначале больной ощущает онемение шейной и лицевой мускулатуры. Затем появляются мышечные подергивания, а через короткое время – типичные спинномозговые судороги. Тело отравленного изгибается дугообразно и касается кровати только теменем и пятками. Конечности вытянуты, и иногда руки прижаты к грудной клетке. Жевательные и лицевые мышцы сокращены, и лицо выражает неестественную улыбку (*risus sardonicus*). Больной не дышит, так как сокращена диафрагма и межреберная мускулатура. Судороги при полном сознании длятся 1–2 мин, при более продолжительных судорогах больной теряет сознание. Затем наступает депрессия и расслабление мускулатуры. Следующий приступ судорог наступает через 8–15 мин и может закончиться параличом дыхательного центра.

Патологоморфологическая картина при отравлении стрихнином нехарактерна. Наблюдается картина быстро наступившей смерти с полнокровием внутренних органов, жидкой темной кровью в сердце и сосудах, а также мелкие кровоизлияния в слизистой оболочке желудка и внутренних органах. Стрихнин длительно сохраняется в трупном материале, по данным М. Д. Швайковой, до 6 лет.

Бруцин имеет токсикологическое значение при отравлении семенами чилибухи или препаратами из них.

Пути метаболизма

В I фазе метаболизма стрихнин окисляется с образованием фенольного гидроксила в положении 2. Во II фазе метаболизма 2-гидроксистрихнин присоединяет глюкуроновую кислоту.



У бруцина происходит деметилирование в положении 2 и 3. В дальнейшем за счет гидроксильных групп образуются глюкурониды. Конъюгаты метаболитов стрихнина и бруцина с глюкуроновой кислотой выводятся с мочой.

Объекты анализа:

- желудок с содержимым;
- тонкая и толстая кишка с содержимым;
- почка, моча;
- печень с желчным пузырем;
- кровь;
- селезенка.

При *изолировании* из биологических объектов стрихнин и бруцин экстрагируются органическим растворителем как из кислых, так и из щелочных растворов. В большем количестве они экстрагируются из щелочных растворов.

При проведении ТСХ-скрининга в общих системах растворителей (см. раздел 7.1.2) стрихнин и бруцин обнаруживаются на пластинках с помощью реактива Драгендорфа.

При анализе с использованием *общеалкалоидных (осадительных) реактивов* стрихнин и бруцин образуют аморфные осадки (см. раздел 7.1.8).

Для обнаружения стрихнина и бруцина используют цветные, микрориспалоскопические реакции, фармакологические пробы, ТСХ, ВЭЖХ, УФ- и ИК-спектроскопию.

Стрихнин

Реакция окисления дихроматом калия в среде концентрированной серной кислоты.

Несколько капель хлороформного экстракта испаряют в фарфоровой чашке до сухого остатка, добавляют 3–4 капли концентрированной серной кислоты и в полученный раствор вносят 1–2 кристаллика дихромата калия. При осторожном перемещении кристаллов по раствору с помощью стеклянной палочки наблюдают появление быстро исчезающих сине-фиолетовых струек.

Реакция неспецифична. Предел обнаружения составляет 1 мкг стрихнина в исследуемой пробе.



Рис. 44. Кристаллы стрихнина с нитритом натрия и гидроксидом калия



Рис. 45. Кристаллы стрихнина с хлорпалладиевой кислотой

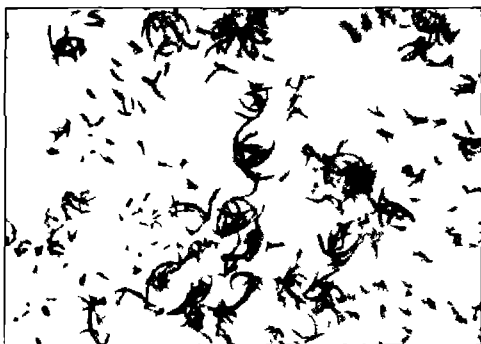


Рис. 46. Кристаллы стрихнина с пикриновой кислотой

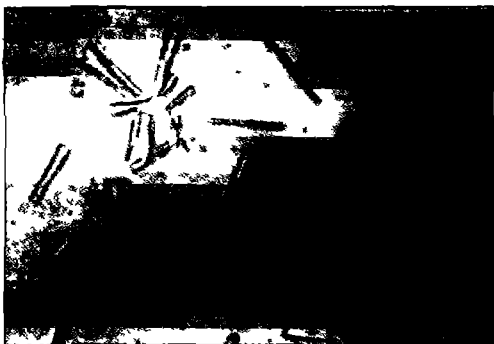


Рис. 47. Кристаллы стрихнина с платинохлороводородной кислотой

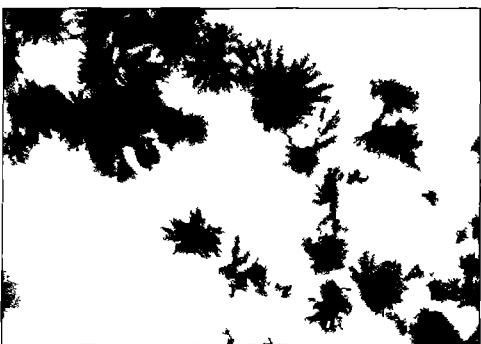


Рис. 48. Кристаллы стрихнина с пикролоновой кислотой

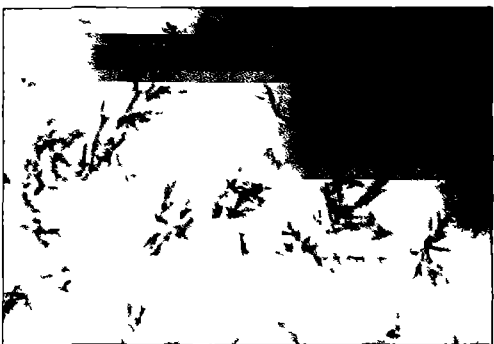


Рис. 49. Кристаллы стрихнина с солью Рейнке

Реакция с реактивом Манделина. При добавлении к сухому остатку, содержащему стрихнин, реактива Манделина (смесь концентрированной серной кислоты и ванадата аммония) наблюдают образование сине-фиолетового окрашивания, переходящего постепенно в пурпурное, а затем в красное

Реакция нитрования. Сухой остаток, содержащий стрихнин, обрабатывают концентрированной азотной кислотой и выпаривают досуха. При последующем действии на остаток раствора аммиака образуется оранжевое окрашивание, а при добавлении спиртового раствора гидроксида калия образуется красно-фиолетовое окрашивание (реакция Витали-Морена)

Хроматография в тонком слое сорбента. При проведении хроматографии в тонком слое сорбента с целью обнаружения стрихнина извлечение из объекта наносят на пластинку со слоем силикагеля КСК и одновременно наносят «стандарт» – раствор стрихнина. Пластинку помещают в систему растворителей хлороформ – диэтиламин (9:1). Для обнаружения места расположения на пластинке пятен стрихнина ее обрабатывают реактивом Драгендорфа. Стрихнин обнаруживается в виде пятна оранжевого цвета с R_f 0,73 и должен соответствовать по цвету и месторасположению пятну-«стандарту».

Микрористаллоскопические реакции. Стрихнин образует кристаллические осадки с солью Рейнеке, платинохлороводородной, пикриновой кислотами, с нитритом натрия и гидроксидом калия, с хлорпалладиевой и пикролоновой кислотами (см. рис. 44–49).

Фармакологическая проба. Очищенный остаток извлечения из объекта, содержащий стрихнин, наносят на спинку лягушки. Наблюдают появление характерных судорог (см. раздел 7.2.6, рис. 24).

Бруцин

Вопрос об обнаружении бруцина возникает, если произошло или подозревается отравление экстрактом или настойкой из семян чилибухи.

Реакция с реактивами, содержащими концентрированную серную или азотную кислоту. При добавлении к сухим остаткам извлечений из объекта, содержащего бруцин, реактивов Манделина, Фреде, Эрдмана появляется во всех случаях красное окрашивание, переходящее в желтое. Стрихнин не образует окрашивания с реактивом Эрдмана и с азотной кислотой.

Реакция с азотной кислотой и хлоридом олова(II). При добавлении к сухому остатку нескольких капель концентрированной азотной кислоты при наличии бруцина появляется красное окрашивание, переходящее в желтое. При добавлении 5% раствора хлорида



Рис. 50. Кристаллы бруцина с пикролоновой кислотой

Рис. 51. Кристаллы бруцина с нитрацетической кислотой



Рис. 52. Кристаллы бруцина со стифниновой кислотой.

Таблица 36

Хроматографические характеристики бруцина

Вещество	Объем удерживания, мкл	Спектральные отношения S_1/S_{210}						
		220	230	240	250	260	280	300
Бруцин	1248	0,815	0,289	0,173	0,320	0,499	0,321	0,341

Таблица 37

Максимумы поглощения стрихнина и бруцина в УФ-области спектра

Вещество	Максимумы светопоглощения, им	
	В этиловом спирте	В 0,1 М растворе серной кислоты
Бруцин	267, 301	265, 300
Стрихнин	255	255

Таблица 38

Характеристические волновые числа стрихнина и бруцина

Вещество	Характеристические полосы в ИК-спектре, см ⁻¹
Бруцин	1500, 1649, 1190, 1285, 1400, 1450
Стрихнин	1664, 764 1392, 1480

олова(II) в 2% растворе хлороводородной кислоты желтая окраска переходит в фиолетовую. Стрихнин не дает окраски при проведении этой реакции.

Микрокристаллоскопические реакции. Бруцин образует кристаллы характерной формы с пикролоновой, стифниновой, нитраниловой кислотами (рис 50–52).

Хроматография в тонком слое сорбента. Для обнаружения бруцина с помощью ТСХ извлечение из объекта наносят на стартовую линию пластинки с силикагелем. Анализ проводят в присутствии «стандарта» – раствора бруцина, который наносят также на стартовую линию. Пластинку помещают в систему растворителей хлороформ – ацетон – 25% раствор аммиака в соотношении 30:30:2. Для обнаружения бруцина пластинку обрабатывают реактивом Драгендорфа, модифицированным по Мунье. Бруцин обнаруживается в виде розово-бурых пятен с R_f 0,21.

Высокоэффективная жидкостная хроматография. Для анализа используют «Милюхром А-02» и условия, описанные ранее (см раздел 8.3). Обнаружение бруцина проводят по величине удерживаемого объема (времени удерживания) и спектральным отношениям при нескольких длинах волн (табл. 36).

Обнаружение стрихнина и бруцина с помощью УФ-спектрофотометрии. Остаток после испарения органического экстракта из объекта, очистки его с помощью хроматографии в тонком слое сорбента растворяют в этиловом спирте или 0,1 М растворе серной кислоты. В полученных растворах регистрируют спектр поглощения в области длин волн 220–320 нм. Стрихнин и бруцин обнаруживают в спектре максимумы при определенных длинах волн (табл. 37).

Обнаружение стрихнина и бруцина с помощью ИК-спектроскопии. Сухой остаток после испарения органического растворителя и очистки растирают с бромидом калия, прессуют и регистрируют ИК-спектр. Основные волновые числа в ИК-области спектра для бруцина и стрихнина представлены в таблице 38.

Количественное определение. Для количественного определения стрихнина и бруцина используют **колориметрический метод**. Метод основан на восстановлении стрихнина и бруцина водородом в момент выделения. При добавлении окислителя (нитрита натрия) образуется красное окрашивание при наличии стрихнина и желто-зеленое – при наличии бруцина.

К сухому остатку добавляют 2–3 мл воды очищенной, 2–3 мл раствора хлороводородной кислоты и 0,3 г цинковой пыли. Через 30 мин смесь нагревают до кипения. После

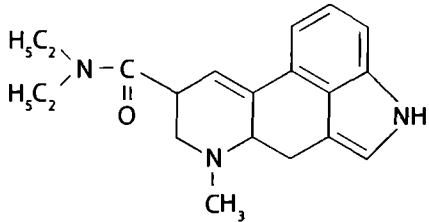
охлаждения раствор отделяют от цинковой пыли декантацией. К раствору добавляют 5–7 капель 0,1% раствора нитрита натрия. Появляется соответствующее окрашивание. Объем раствора доводят до 10 мл и определяют оптическую плотность с помощью фотоэлектроколориметра. Расчет концентрации ведут по калибровочному графику.

8.8.2. Производные индола – галлюциногены

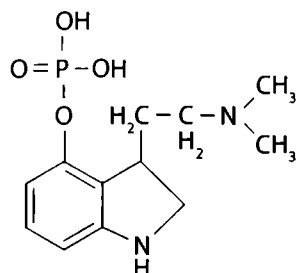
В группу галлюциногенов включены вещества различного химического строения, объединенные по признаку токсического воздействия на организм человека, главным образом по их влиянию на ЦНС. Галлюциногены способны вызвать изменение настроения и характер мышления человека. Возбуждение ЦНС, приводящее к сдвигу сознания, эйфории, неадекватному восприятию окружающей среды, нарушению логического мышления, сильной депрессии и деперсонализации, может быть причиной несчастных случаев и даже самоубийства.

По химической классификации галлюциногены можно разделить на производные индола, фенциклидин и близкие по структуре соединения, являющиеся производными амфетамина.

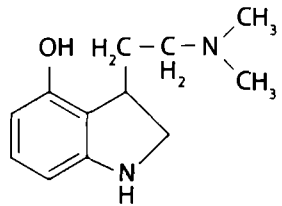
К галлюциногенам относят диэтиламид лизергиновой кислоты (LSD), бутофенин, псилобицин, псилоцин и др.



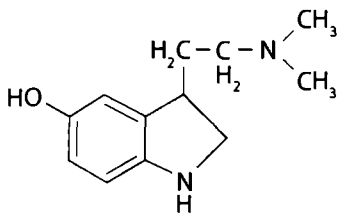
диэтиламид лизергиновой кислоты (LSD)



псилобицин
фосфорнокислый эфир-4-гидрокси-N-диметилтриптамина



псилоцин
4-гидрокси-N-диметилтриптамин



бутофенин
5-гидрокси-N-диметилтриптамин

Для России наибольшее токсикологическое значение имеет диэтиламид лизергиновой кислоты, поэтому остановимся на рассмотрении его токсикологического значения и анализа.

Токсикологическое значение и анализ LSD

LSD – бесцветное кристаллическое вещество без запаха и вкуса, нерастворимо в воде, растворимо в органических растворителях, химически стабильно. При кипячении в течение 1 ч в 7% водном растворе щелочи гидролизуеться до лизергиновой кислоты и диэтиламина. Обладает основными свойствами, образует соли с неорганическими и органическими кислотами.

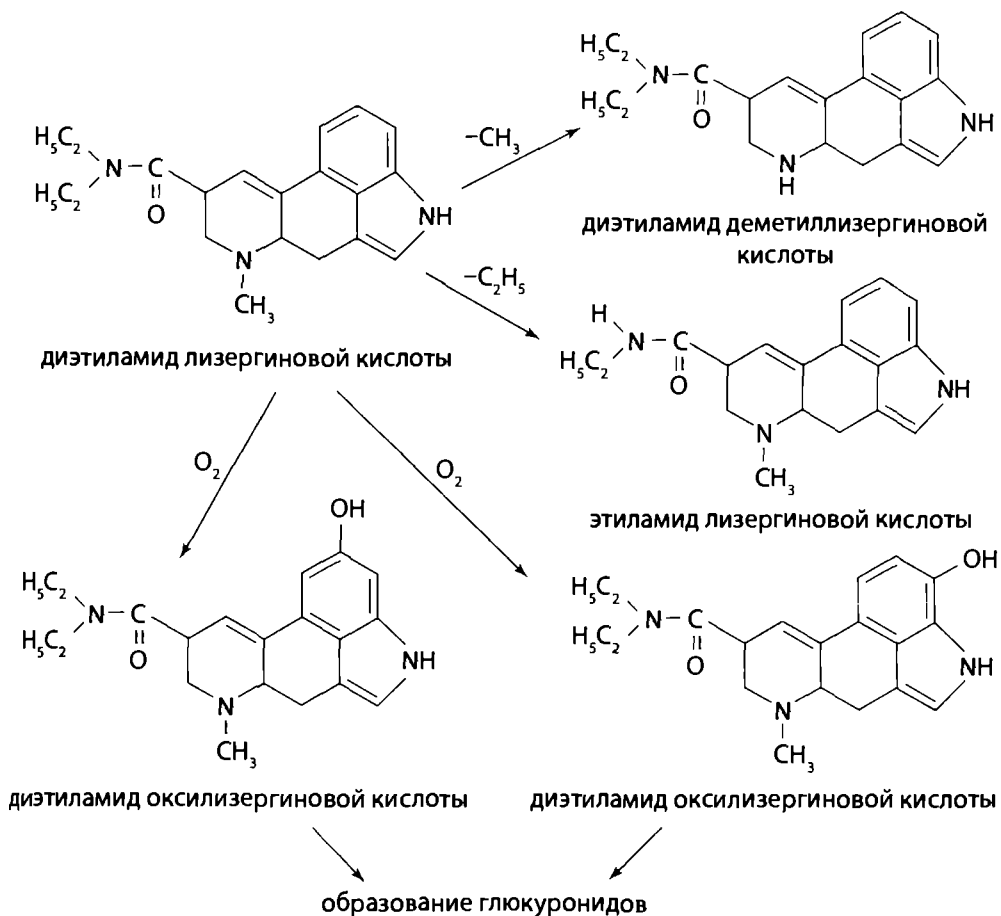
Диэтиламид лизергиновой кислоты (LSD) был синтезирован в 1938 г. Ф.Гофманом как средство для стимуляции кровообращения и дыхания. Многочисленные попытки

применить его для лечения психических нарушений не привели к его использованию в качестве терапевтического средства, так как уже в 1943 г было обнаружено его галлюциногенное действие

Употребление LSD в качестве наркотического средства началось с 1960-х годов. К концу 1960-х годов применение LSD приняло массовый характер. В Российской Федерации распространение и применение LSD и других производных лизергиновой кислоты запрещено. Нелегально LSD распространяется в виде различных его субстратов с сорбентами. Обычно употребляемая доза LSD составляет 30–50 мкг. Однако доза в 10 мкг уже может вызвать эйфорию. Доза 50–200 мкг вызывает галлюцинации. При повторных употреблениях развивается толерантность. Пероральный прием LSD приводит к быстрому всасыванию в кровь, проникновению через гематоэнцефалический барьер и достижению мозга. Длительность действия 8–12 ч. Максимальная концентрация в крови при приеме 50–70 мкг достигается в течение 1 ч. Через 6 ч концентрация снижается до 1,0–1,2 нг/мл и через 24 ч до 0,2 нг/мл крови.

Метаболизм LSD. Метаболизм LSD в организме человека изучен недостаточно. Известно, что около 1% LSD из организма человека выводится с мочой в неизменном состоянии.

Пути метаболизма LSD



Метаболизм LSD изучался на животных и *in vitro* с микросомами печени человека. В основном метаболизм LSD происходит по пути деалкилирования и гидроксирования ароматического кольца.

Гидроксипроизводные LSD образуют конъюгаты с глюкуроновой кислотой и в основном так выводятся из организма.

Изолирование, обнаружение и количественное определение LSD. Объектами анализа являются кровь и моча. Время анализа ограничено 72 ч. Основной объект анализа – кустарно изготовленные образцы LSD. Содержание LSD в биологических жидкостях и органах незначительно и составляет десятые доли нанограмма.

Из биологических объектов (крови, мочи) можно экстрагировать следы LSD и его метаболитов не позднее, чем через 72 ч после приема наркотика. После этого времени результаты анализа малодостоверны. Из кустарно изготовленных препаратов и биологических объектов LSD экстрагируют органическим растворителем (хлорбутаном или метилхлоридом в смеси с толуолом). Органический растворитель испаряют и с остатком проводят следующие реакции.

Реакция с реактивом Марки. К части сухого остатка добавляют 2–3 капли реактива Марки. Образуется оранжево-коричневое окрашивание, переходящее в фиолетовое.

Реакция с п-диметиламинобензальдегидом в присутствии серной кислоты и хлорида железа(III) (реакция ван-Урка) – образует красно-фиолетовое или фиолетовое окрашивание. Это групповая реакция на алкалоиды спорыньи.

Менее специфичны реакции с концентрированной серной кислотой, с реактивом Фреде, которые также могут быть использованы для подтверждения наличия LSD.

Тонкослойная хроматография. Анализ проводится с извлечением из биологического объекта или из кустарно изготовленного препарата LSD. Сухой остаток после испарения органического растворителя растворяют в метаноле и наносят на стартовую линию пластинки «Силуфол». Хроматографируют в системе хлороформ – ацетон – этанол – 25% раствор аммиака (20:20:3:1). Пластинку высушивают и детектируют в УФ-свете (366 нм), а затем обрабатывают реактивом Эрлиха (п-диметиламинобензальдегид в кислой среде). Пятно LSD проявляется со значением R_f 0,57.

УФ-спектрофотометрия. Раствор остатка после испарения экстракта из объекта в растворе 0,1 М хлороводородной кислоты обнаруживает максимум при 315 нм; в 0,1 М растворе гидроксида натрия – при 310 нм.

ИК-спектроскопия. Остаток после испарения экстракта из объекта растирают с кристаллами бромида калия и регистрируют ИК-спектр. LSD обнаруживает характеристические полосы с волновыми числами 1626, 1307, 1136, 1066, 1212 и 749 см^{-1} .

Газовая хроматография в сочетании с масс-спектрометрией. Анализ проводят на кварцевой колонке длиной 25 мм и диаметром 0,2 мм с диметилсиликоновой стационарной фазой (хроматограф фирмы «Хьюлетт Паккард») и ионизацией электронным ударом (детектор масс-селективный). LSD обнаруживает характерные пики при соотношении m/z 44, 72, 207, 221, 280, 323.

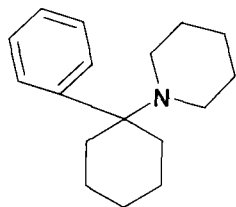
Метод ВЭЖХ. Этот метод используется для обнаружения и количественного определения LSD. Хроматографирование проводят на колонках КАХ-4 80×2, заполненных сепароном С-18 в приборе «Миличром». Элюентом служит смесь фосфатного буфера и ацетонитрила в соотношении 70:30. Скорость элюирования 120 мкл/мин. Идентификацию проводят по отношению оптической плотности при длинах волн 230, 270, 304, 350 нм к оптической плотности при длине волны 210 нм. Объем вводимой пробы 10 мкл. Время удерживания LSD – 6 мин, лизергиновой кислоты – 2,5 мин. Расчет содержания проводят по внутреннему стандарту.

Менее чувствительным и поэтому все реже используемым является **фотометрический метод** по реакции с реактивом Эрлиха (п-диметиламинобензальдегид в растворе серной или хлороводородной кислоты).

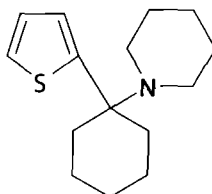
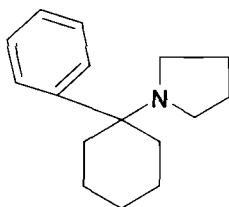
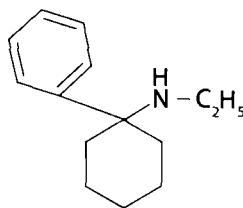
8.8.3. Фенциклидин и его аналоги (галлюциногены)

Фенциклидин синтезирован как средство для внутривенного наркоза. В отличие от опиатов, он не оказывает отрицательного действия на сердечно-сосудистую и дыхательную системы. Однако сильные токсические побочные эффекты, в том числе галлюцинации, ментальные расстройства, депрессии закрыли путь применения фенциклидина в тера-

психической практике. В настоящее время в Российской Федерации препарат запрещен к применению. Пути его поступления нелегальны. Наряду с фенциклидином запрещены некоторые его аналоги. Все препараты находятся под международным контролем. Препараты этой группы соединений синтезируются только в подпольных лабораториях. Следует отметить, что фенциклидин рассматривается в некоторых зарубежных армиях как возможное боевое отравляющее вещество.



фенциклидин

тиеноциклидин
1-(1-(2-тиенил)-цикло-
гексил)-пиперидинролициклидин
1-(1-фенилциклогексил)
пирролидинэтициклидин
N-(1-фенилциклогексил)
этиламин

Токсикологическое значение

Фенциклидин – это белый кристаллический порошок, легко растворимый в воде, обладает слабыми основными свойствами ($pK_a=8,5$). На подпольном рынке фигурирует в виде серовато-белой, коричневой сыпучей или вязкой массы.

Фенциклидин наркоманы принимают орально, путем вдыхания или курения. Более 70% фенциклидина применяется путем курения с табаком, марихуаной или другими растениями. При попадании в кровь дозы 1 мг наблюдается эйфория, напоминающая алкогольную интоксикацию. Внутривенное введение фенциклидина в дозе 0,075–0,1 мг/кг вызывает чувство отчужденности, путаницу мыслей, апатию, сонливость, аналгезию. Доза около 1 мг вызывает чувство эйфории, которое длится обычно до 10–12 ч.

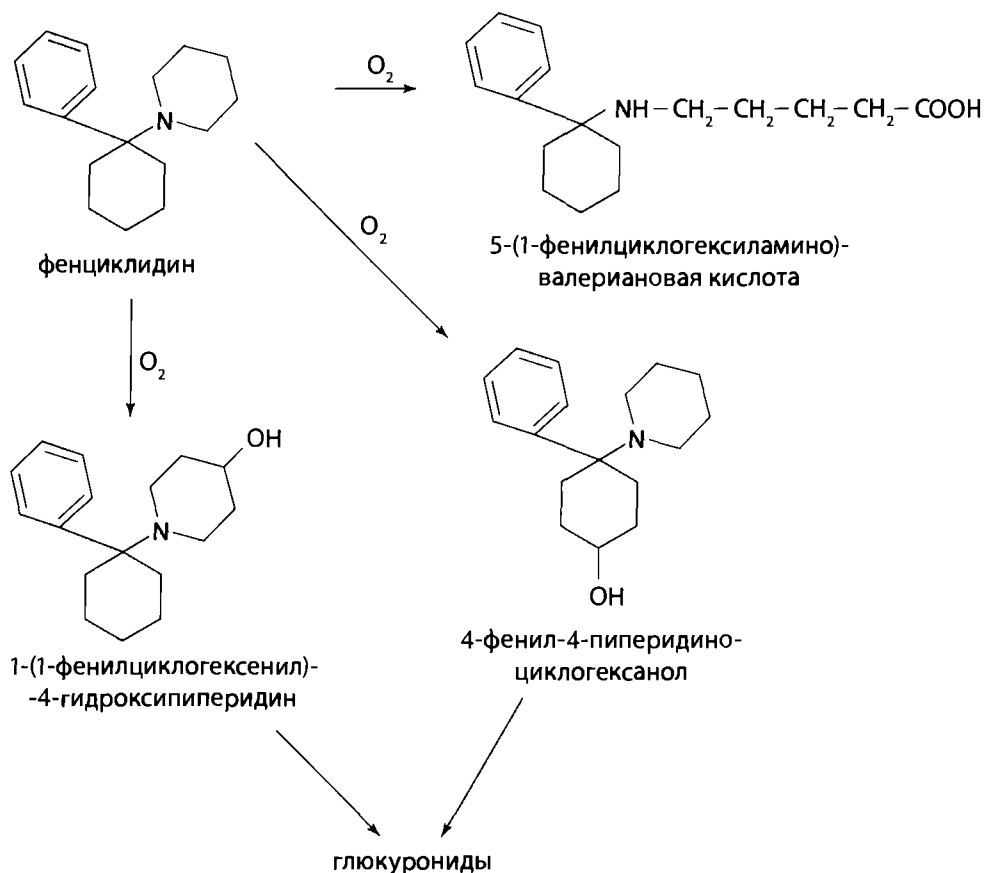
Токсическое действие наблюдается при вдыхании и курении 5–15 мг, тяжелые отравления – при дозе 25 мг фенциклидина. При хроническом употреблении наблюдается толерантность и привыкание. Синдром отмены продолжается несколько дней и сопровождается тяжелой депрессией.

Метаболизм фенциклидина. В организме фенциклидин метаболизируется по пути гидроксилирования циклогексанового и пиперидинового колец с образованием биологически активных метаболитов. Далее гидроксипроизводные фенциклидина связываются с глюкуроновой и серной кислотами и в таком виде удаляются из организма через почки.

При метаболизме может происходить разрыв пиперидинового кольца с образованием фенилциклогексиламинавалериановой кислоты. Число идентифицированных метаболитов фенциклидина достигает 10 и более.

Основное количество фенциклидина выводится в виде конъюгатов (более 70%), часть в виде исходного соединения. В течение 7 ч выводится до 50% начальной дозы. Однако фенциклидин может находиться в крови до 10 и более суток.

Схема метаболизма фенциклидина:



В качестве объектов исследования на фенциклидин могут быть направлены образцы наркотического средства, моча, кровь или плазма.

Экспресс-анализ наркотического средства на фенциклидин проводят с использованием реакции окрашивания.

К анализируемому образцу добавляют каплю 16% раствора хлороводородной кислоты и каплю 2,5% раствора тиоцианата кобальта(II) – появляется голубое окрашивание. Реакция неспецифична, такую же окраску дают кокаин и метаквалон.

Изолирование фенциклидина из мочи и плазмы крови проводят с помощью специальных пробирок, содержащих экстрагент для веществ основного характера и электролит как высаливающий агент. Слой органического растворителя отделяют, упаривают до небольшого объема и анализируют.

Обнаружение фенциклидина проводят с помощью химических реакций и физико-химическими методами.

Хроматография в тонком слое сорбента. Используют пластинки со слоем силикагеля или со слоем силикагеля, импрегнированного 0,1 моль/л раствором гидроксида калия, и высушенные. В качестве системы растворителей рекомендованы две: этилацетат – метанол – 25% раствор аммиака (85:10:5) и хлороформ – метанол (9:1) для импрегнированных пластинок. Проявителем служит реактив Драгендорфа. Фенциклидин и его аналоги образуют окрашенные в оранжевый цвет пятна и имеют разные значения R_f .

Реакция с реактивом Марки. На сухой остаток наносят каплю реактива Марки. В присутствии фенциклидина появляется слабо-розовое окрашивание.

Таблица 39

Хроматографические характеристики фенциклидина

Вещество	Объем удерживания, мкл	Спектральные отношения S_i/S_{210}						
		220	230	240	250	260	280	300
Фенциклидин	1920	0,351	0,006	0,008	0,023	0,036	0,001	0,000

Реакция с реактивом Манделина. На сухой остаток наносят каплю реактива Манделина – наблюдают появление оранжевого окрашивания.

Реакция с реактивом Эрлиха (смесь диметиламинобензальдегида с хлороводородной кислотой). При добавлении к сухому остатку реактива Эрлиха наблюдают красное окрашивание.

Обнаружение с помощью ГЖХ. При проведении общего ГЖХ-скрининга на наркотические и одурманивающие вещества фенциклидин обнаруживают по индексу удерживания (см. раздел 7.1.6.1).

Для фенциклидина и его аналогов разработана частная методика газожидкостной хроматографии в следующих условиях: газожидкостный хроматограф «Аджилент» или «Кристалл-2000М»; колонка кварцевая капиллярная 30×0,32 мм с фенилметилсиликоновой стационарной фазой HP-5; температура испарителя – 240°C; температура детектора – 290°C; температура колонки программируется от 100°C по 15°C в минуту до 280°C; газ-носитель – гелий; детектор – пламенно-ионизационный.

Идентификация веществ проводится по индексам удерживания, равным для этициклидина – 1587, для теноциклидина – 1881, для фенциклидина – 1900, для ролициклидина – 1795.

Обнаружение с помощью масс-спектрометрии. В условиях, описанных ранее (см. раздел 7.2.3), фенциклидин обнаруживает следующие характеристические ионы с соотношениями m/z 243, 214, 200, 186, 166, 158, 84, 77.

Обнаружение с помощью ГХ/МС. При использовании этого метода 1 мл мочи или плазмы крови подщелачивают раствором аммиака до $pH=9,6$ и экстрагируют гексаном. К экстракту добавляют диметилформамид, упаривают и анализируют. Чтобы определить фенциклидин и его метаболит моногидроксипроизводное, объекты (мочу и плазму крови по 1 мл) подвергают гидролизу, затем доводят pH до 11,8 и экстрагируют 2 мл смеси бутилхлорида и метанола (9:1). Органический растворитель упаривают и проводят дериватизацию с помощью БСТФА – N,O-бис-(триметилсилил) – трифтороацетамида. Полученные дериваты анализируют. Время удерживания фенциклидина – 3,17 мин. Получаемые характеристические ионы с соотношениями m/z , приведенными выше. Предел обнаружения фенциклидина – 0,58 нг/мл.

Высокоэффективная жидкостная хроматография. Идентификацию фенциклидина проводят с помощью ВЭЖХ по удерживаемому объему и спектральным отношениям при нескольких длинах волн. Полученные данные сравнивают с таковыми стандартных растворов (табл. 39).

Количественное определение

Для количественного определения фенциклидина используют метод ВЭЖХ. Определение проводят методом добавок, внешнего или внутреннего стандарта. Расчет содержания фенциклидина проводят по формулам, приведенным ранее в разделе 8.1.

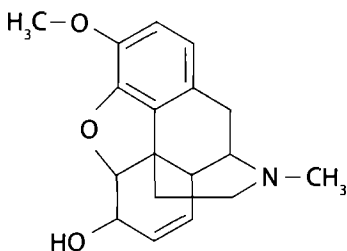
8.9. Опиаты и опиоиды

8.9.1. Алкалоиды мака снотворного и их синтетические аналоги

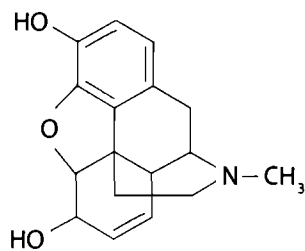
Термин «опиаты» объединяет природные алкалоиды мака снотворного: морфин, кодеин – и полусинтетические производные морфинанового ряда: этилморфин, героин и др.

В группу опиоидов относят различные синтетические вещества, оказывающие однотипное действие с опиатами, причем механизм действия является сходным. Однако наряду с индивидуальными субстанциями опийных алкалоидов или полусинтетических производных морфинанового ряда химику приходится анализировать случаи отравления исходным сырьем, вытяжками из маковой соломки, маковых семян и опия. В этих случаях много информации могут дать результаты определения сопутствующих алкалоидов и других веществ. Поэтому в данном разделе рассмотрены не только опиаты, но и другие вещества.

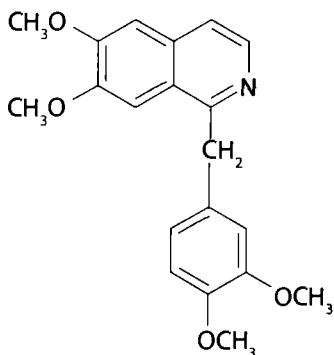
Производящее растение – мак снотворный (*Papaver somniferum*, семейство *Papaveraceae*) содержит несколько десятков алкалоидов, главными из которых являются морфин, кодеин, наркотин, папаверин и тебаин.



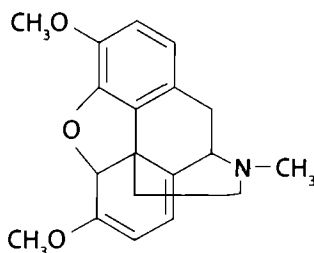
кодеин



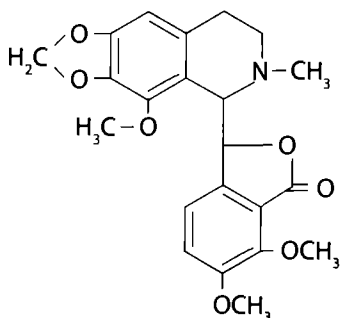
морфин



папаверин

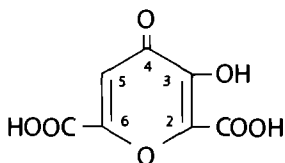


тебаин



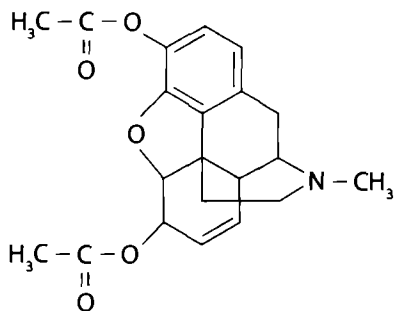
носкапин (наркотин)

Кроме того, в составе опия характерным компонентом является меконовая кислота, которая в химико-токсикологическом анализе служит основным критерием выявления причины отравления: опиумом, опиоидом или индивидуальным алкалоидом.

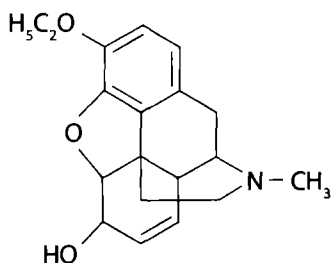


3-окси-4-пирон-2,6-дикарбоновая кислота
(меконовая кислота)

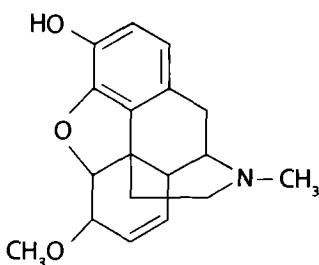
Полусинтетические производные морфия – героин, этилморфин (дионин), орипавин



диацетилморфин (героин)



этилморфин (дионин)



орипавин

Токсикологическое значение опиатов

Прежде всего, необходимо остановиться на токсикологическом значении опия. Опий, наиболее доступный для наркоманов продукт, представляет собой сгущенный млечный сок, получаемый из незрелых головок мака снотворного. Высушенный сок является опиум-сырцом. В состав опия-сырца входит более 50 алкалоидов, содержание которых доходит до 20% общей массы. Остальную часть составляют углеводы, кислоты, жиры, аминокислоты.

Опий как таковой принимают в виде смеси для курения. Чаще всего из него готовят вытяжки для внутривенного введения. Опий действует на организм подобно опиоиду.

Опиоид получают следующим образом. Водную вытяжку из опия обрабатывают раствором щелочи. При этом часть алкалоидов выпадает в осадок, который отделяют и обрабатывают хлороводородной кислотой. Щелочной фильтрат экстрагируют органическим растворителем и органическую фазу взбалтывают с хлороводородной кислотой. Обе кислые вытяжки объединяют, выпаривают досуха.

Таким образом, опнопон представляет собой смесь гидрохлоридов алкалоидов опия. В его состав входят 48–50% морфина и 32–35% других алкалоидов. Это порошок от кремового до желто-коричневого цвета, хорошо растворимый в воде. Водный раствор при взбалтывании сильно пенится. Медицинские показания для применения опнопона такие же, как и для морфина. При отравлении опиумом и опнопоном проявляются признаки, характерные для морфина.

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

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

Объектами исследования при отравлении опиумом (опнопоном) являются: желудок с содержимым, почки, моча, печень с желчными пузырями, селезенка, легкие в случае ингаляционного отравления.

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

Морфин – один из основных представителей группы наркотических анальгетиков, используемых в медицинской практике. Это сильное болеутоляющее средство, действие которого обусловлено стимуляцией μ -, δ -, и χ -опиатных рецепторов. Морфин оказывает противошоковое действие при травмах, которое объясняется понижением возбудимости болевых центров. Снотворное действие морфина проявляется при принятии больших доз. Медицинская промышленность выпускает морфин в виде порошка во флаконах по 0,3 г, таблеток по 0,01 г, 1% раствора в ампулах и шприц-тюбиках по 1 мл. При длительных болевых симптомах применяют пролонгированные лекарственные формы, содержащие морфина сульфат. Это таблетки по 0,01, 0,03, 0,06, 0,1 и 0,2 г («МСТ Континус») и капсулы «М-Элон».

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

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

Малые дозы морфина (5–10 мг) урежают и повышают глубину дыхания, возникает эйфория, оживляются фантазии, острее становится восприятие, выполнение умственной и физической работы сопровождается иллюзией легкости, затрудняется концентрация внимания, уменьшается двигательная активность. Внешний вид морфиниста характеризуется преждевременным старением, трофическими расстройствами, кожа становится сухой, землисто-серого цвета, зубы лишаются эмали, появляется карнес, зрачки сужа-

ются, вместо вен определяются плотные тяжи, лицо одутловатое, нарушается функция желудочно-кишечного тракта.

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

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

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

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

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

Кодеина фосфат по характеру действия и показаниям аналогичен кодеину (содержит 80% кодеина основания). Он применяется при лечении детей раннего возраста.

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

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

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

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

Папаверин – алкалоид опийного мака. В настоящее время его получают синтетическим путем и применяют в виде гидрохлорида. Папаверин оказывает сосудорасширяющее и спазмолитическое действие. В больших дозах уменьшает возбудимость сердечной мышцы и замедляет внутрисердечную проводимость, проявляет слабый седативный эффект. Имеет небольшое токсикологическое значение.

Наркотин (носкапин) – алкалоид, входящий в состав опия и опнопона. Наркотин в медицинской практике применения не находит. Он не обладает наркотическим и анальгезирующим действием.

зирующим эффектом, не вызывает привыкания. Имеет судебное и судебно-медицинское значение. Обнаружение его во внутренних органах, биологических жидкостях или в курстарно изготовленных наркотических средствах является одним из доказательств отравления опиум или опнопом.

Полусинтетические опиаты

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

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

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

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

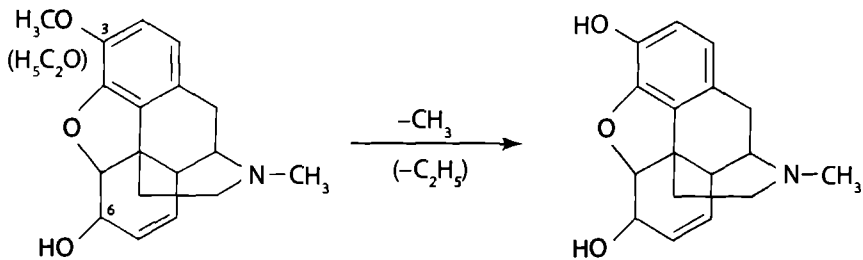
После прекращения приема наркотика характерно эмоциональное напряжение, раздражительность, зрачки расширяются, глаза слезятся, наблюдается слюнотечение, потливость, «гусиная кожа», мышцы спины, рук и ног напрягаются, возникает физическая слабость, аритмия, тахикардия, тошнота, рвота, тремор, появляются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

Смесь героина с кокаином (спидболл) используют для внутривенного введения и курения. Присутствие двух веществ усиливает действие на организм каждого из них. Постоянное курение спидболла вызывает болезнь горла, эмфизему легких, бронхиты, респираторные заболевания, теряется интерес к еде и сну, привыкание к наркотику очень быстрое.

Следует отметить, что группа морфинановых анальгетиков постоянно расширяется, и в ближайшем будущем химику, возможно, придется решать новые задачи с новыми опиатами.

Кодеин, этилморфин

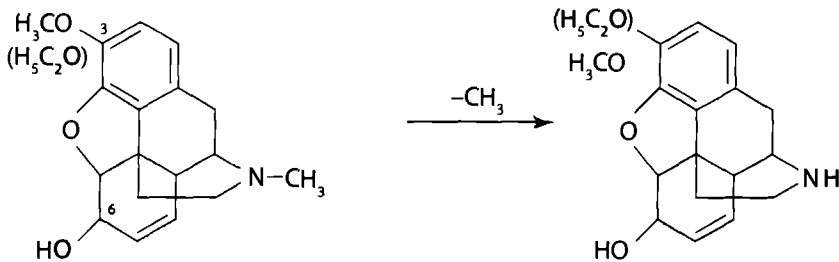
I фаза – O-деалкилирование:



кодеин (этилморфин)

морфин (5–15%)

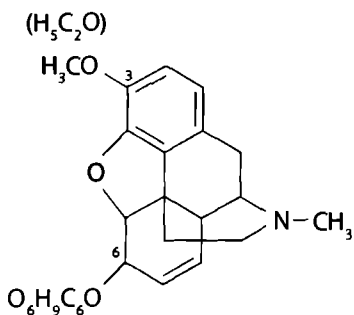
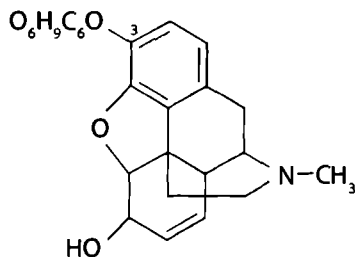
N-деалкилирование:



кодеин (этилморфин)

норкодеин (норэтилморфин), 10–20%

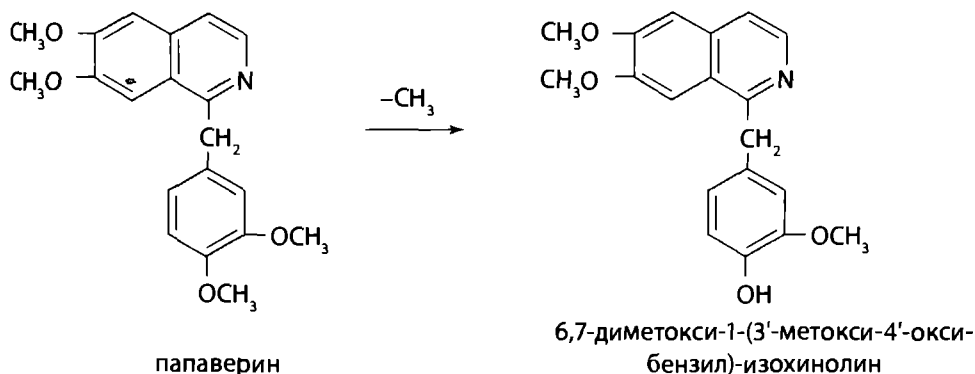
II фаза – образование глюкуронидов:

кодеин-6-O-глюкуронид (35–46%)
(этилморфин-6-O-глюкуронид)

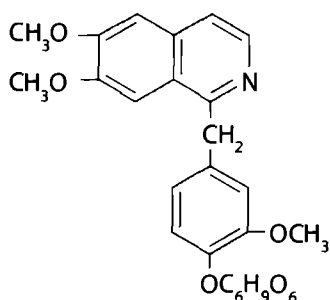
морфин-3-O-глюкуронид (5–13%)

При метаболизме *папаверина* вначале отщепляется метильная группа в положении 4 бензольного кольца. Во II фазе метаболизма образуются конъюгаты с глюкуроновой кислотой.

I фаза – деметилирование:

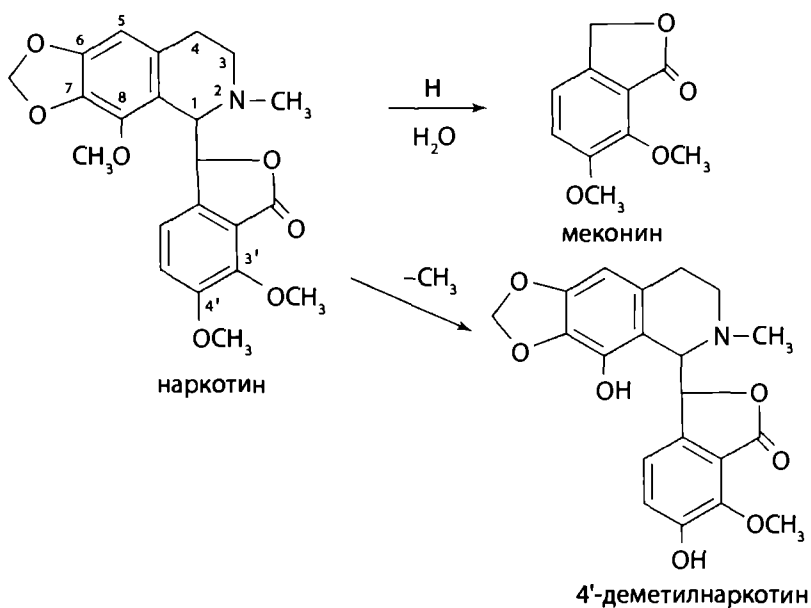


II фаза – образование глюкуронидов:

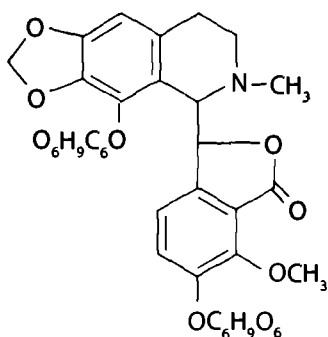


Наркотин подвергается восстановлению с образованием меконина и деметилированию в положениях 4 и 8 (I фаза), а затем присоединяет глюкуроновую кислоту к деметилированным продуктам (II фаза).

I фаза – восстановление и деметилирование:



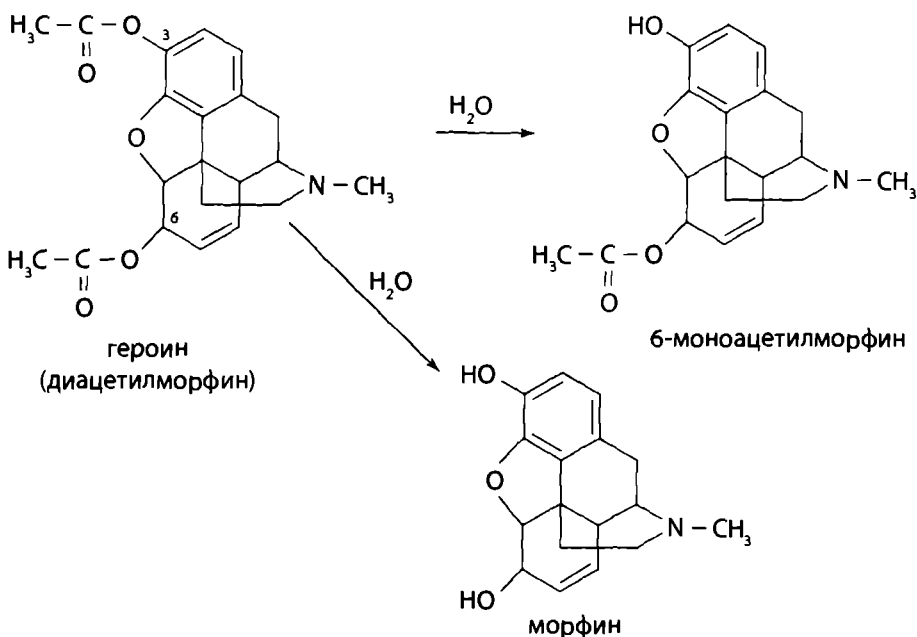
II фаза – образование глюкуронидов:



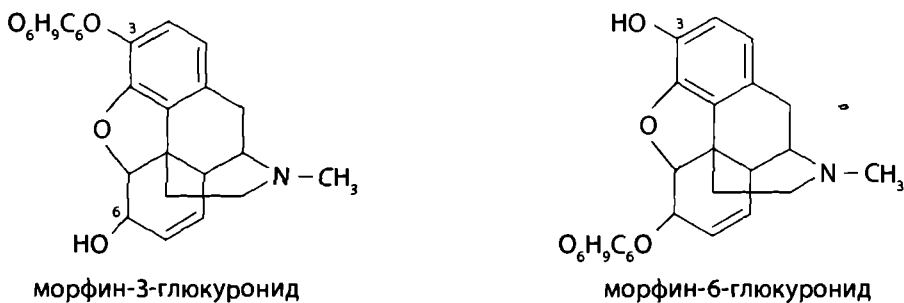
диглюкуронид наркотина

Героин в крови в I фазе метаболизма гидролизуется, образуя 6-моноацетилморфин и морфин, и затем к свободному гидроксигруппе присоединяется глюкуроновая кислота (II фаза)

I фаза – гидролиз:



II фаза – конъюгация с глюкуроновой кислотой



Физические свойства

Морфин. Основание морфина – белое или желтоватое вещество, слабо растворимое в воде, эфире, спирте, хлороформе. Соли морфина (ацетаты, гидрохлориды, сульфаты, тартраты) растворимы в спирте и воде, нерастворимы в эфире.

Кодеин. Основание кодеина хорошо растворимо в воде, эфире, хлороформе, спирте. Соли кодеина (гидрохлорид, фосфат, сульфат) хорошо растворимы в воде и плохо растворимы в спирте.

Папаверин. Основание папаверина – белый порошок, хорошо растворим в спирте и хлороформе. Соли папаверина (гидрохлориды) растворимы в воде и хлороформе, нерастворимы в эфире. Сульфат папаверина растворим в воде и спирте.

Наркотин. Основание наркотина нерастворимо в воде, но хорошо растворимо в хлороформе. Соли наркотина способны легко гидролизироваться.

Героин – это белая или коричневая пудра, хорошо растворимая в воде и спирте.

Этилморфина гидрохлорид – это белый кристаллический порошок без запаха, горького вкуса. Он хорошо растворим в воде и этиловом спирте и плохо растворим в хлороформе и эфире.

Все вещества проявляют основные свойства (см. табл. 40).

При **изолировании из биологических объектов** в хлороформный экстракт из водной вытяжки при $pH=2-3$ переходят частично папаверин, наркотин. Хлороформом из раствора с $pH=8-10$ экстрагируются морфин, кодеин, этилморфин, наркотин и папаверин. Общими методами, из-за плохой растворимости в хлороформе, морфин изолируется в количестве 1–2%. При анализе трупного материала на морфин был предложен хроматографический метод, основанный на использовании катионита СДВ-3 и элюировании сорбированного морфина 5% раствором аммиака (изолируется до 20% морфина), и метод Крамаренко (можно изолировать до 50% морфина).

При проведении общего ТСХ-скрининга (см. раздел 7.1.2) извлечений из кислого и щелочного растворов папаверин, наркотин, морфин, кодеин, этилморфин, героин обнаруживаются в виде оранжевых пятен при обработке пластинки реактивом Драгендорфа.

При проведении аналитического скрининга с использованием общеалкалоидных осадительных реактивов вещества данной группы образуют аморфные осадки (см. раздел 7.1.8).

С реактивом Марки на хроматографической пластинке или в фарфоровой чашке с сухим остатком все вещества дают характерное окрашивание.

Для обнаружения конкретного соединения из группы производных фенантренизохинолина, бензилизохинолина используют реакции окрашивания, микрориспалоскопические реакции, хроматографию в тонком слое сорбента, методы ГЖХ, УФ-спектрофотометрию, ИК-спектроскопию, хроматомасс-спектрометрию, ВЭЖХ, иммунохимические методы и др.

Хроматография в тонком слое сорбента. Остаток после испарения экстракта из водной вытяжки при $pH=2$ и $pH=8-10$ наносят на стартовые линии хроматографических пластинок марки «Силуфол», «Сорбфил», «Кизельгель-60 (G)», содержащие флуоресцирующую добавку. Одновременно на пластинку наносят растворы «стандартов» в метаноле с концентрацией 1 мг/мл морфина, кодеина и других опиатов в количестве 5–10 мкл. В качестве частных систем растворителей для опиатов чаще всего используют системы толуол – ацетон – этанол – 25% раствор аммиака (45:45:7:3) или этилацетат – метанол – 25% раствор аммиака (85:10:5). Камеру насыщают парами системы путем обертывания внутренней ее части смоченной в системе фильтровальной бумагой. После подъема системы на высоту 10 см пластинку высушивают и выдерживают в термостате при 120°C в течение 10 мин с целью удаления следов аммиака.

Для проявления пятен на пластинке используют (последовательно):

- освещение УФ-светом при длине волны 254 нм – регистрируют пятна по отсутствию флуоресценции;
- обработку реактивом Драгендорфа – обнаруживают оранжевые пятна на желтом фоне;
- обработку подкисленным раствором йодплатината калия – пятна опиатов темнеют, а пятна морфина переходят в сине-фиолетовый цвет.

Таблица 40

Значения R_f производных изохинолина, бензилизохинолина

Вещество	R_f
Морфин	6,17 и 10,0
Кодеин	6,05
Папаверин	8,09
Наркотин	7,83
Героин	7,80
Этилморфин	8,20

Таблица 41

Результаты реакций опиаатов со специальными реактивами

Исследуемое вещество	Окраска, возникающая при добавлении реактива			
	Манделина	Марки	Фреде	Эрдмана
Героин	фиолетовая	красная → фиолетовая	фиолетовая → грязно-зеленая → розовая	—
Морфин	фиолетовая	красно-фиолетовая	фиолетовая	красная → желтая
Кодеин	зеленая → синяя	синие-фиолетовая → зеленая	зеленая → синеватая	—
Этилморфин	зеленая	синяя → синие-фиолетовая	зеленая → синяя	—
Наркотин	красная → бурая → фиолетовая	фиолетовая → зеленая → желтая	синие-зеленая, при t° → вишнево-красная	красная → фиолетово-красная
Папаверин	синие-фиолетовая	розовая → фиолетовая	зеленая	красная

В указанных условиях опиааты, их метаболиты и аналоги хорошо разделяются между собой. Значение величин R_f зависит от лабораторных условий (температуры, влажности и др. параметров).

Реакции окрашивания. Часть хлороформных экстрактов, полученных из объектов исследования, распределяют на фарфоровых чашках, испаряют до получения сухих остатков и наносят по 2–3 капли реактивов, образующих характерное окрашивание с большинством опиаатов. Полученную окраску фиксируют сразу и затем наблюдают ее изменение (переход в другое окрашивание).

Основными реактивами окрашивания для опийных алкалоидов и их аналогов являются реактивы Манделина, Марки, Фреде, Эрдмана (табл. 41).

Кроме использования специальных реактивов проводят характерные реакции окрашивания на отдельные вещества.

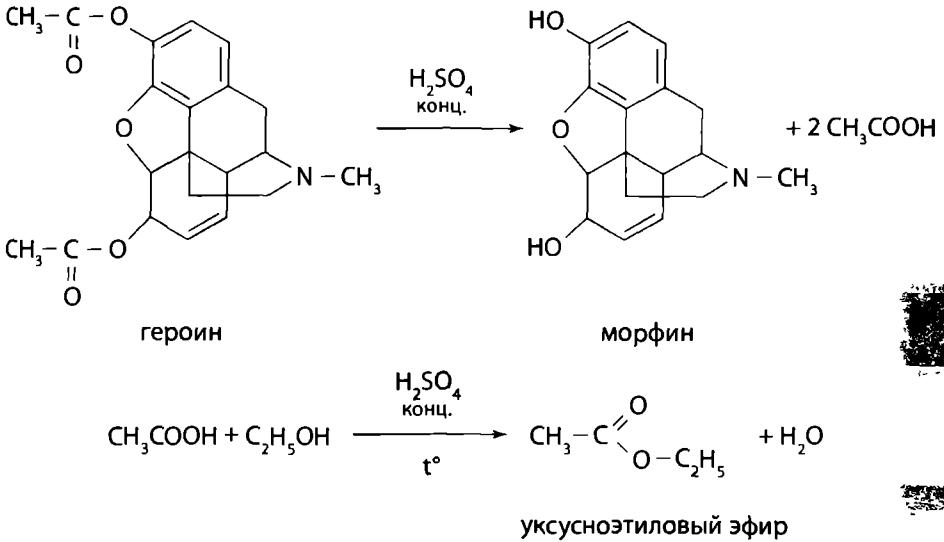
Морфин

- При добавлении к остатку, содержащему морфин, хлорида железа(III) наблюдают синее окрашивание за счет свободного фенольного гидроксила в положении 3.
- При добавлении к остатку 1–2 капель концентрированной азотной кислоты морфин дает кроваво-красное окрашивание, переходящее в оранжево-желтое.
- Часть экстракта из объекта испаряют до сухого остатка, который растворяют в 1 мл 10% раствора гидроксида натрия. Полученный щелочной раствор осторожно по стенкам пробирки переливают в раствор диазотированной сульфаниловой кислоты. На месте соприкосновения двух растворов появляется красное окрашивание.

Героин (субстанция)

- При добавлении к наркотическому средству концентрированной серной кислоты наблюдают образование синего окрашивания.
- При добавлении к наркотическому средству концентрированной азотной кислоты наблюдают образование желтого окрашивания.

- Реакция этерификации. К части исследуемого наркотического средства добавляют 1 мл концентрированной серной кислоты, несколько капель этилового спирта и нагревают – ощущают характерный запах уксусноэтилового эфира (яблочной эссенции).



Микрокристаллоскопические реакции. Для проведения реакций хлороформный экстракт из объекта испаряют на предметных стеклах до сухого остатка, добавляют 1–2 капли 0,1 М раствора хлороводородной кислоты и каплю соответствующего реактива. Смесь выдерживают во влажной камере 10–15 мин – наблюдают образование кристаллического осадка с характерной формой кристаллов для каждого вещества. В качестве реактивов используют хлорид ртути(II), хлорид кадмия, соль Рейнеке, пикролоновую кислоту, цианид натрия и др. (см. рис. 53–58).

Высокоэффективная жидкостная хроматография. Преимуществом метода ВЭЖХ для анализа опиатов (особенно в моче) является возможность определения основных метаболитов – глюкуронидов и исключения стадии гидролиза при пробоподготовке.

Разделение опиатов и их метаболитов проводят в условиях прямого и обращенно-фазового анализа в режиме изократического и градиентного элюирования. Например, в варианте прямофазного анализа в режиме градиентного элюирования используют прибор «Милихром А-02» и исследование проводят в условиях, описанных ранее (см. раздел 8.3). Идентифицируют вещества по удерживаемому объему (времени удерживания) и по спектральным отношениям с использованием нескольких длин волн (см. табл. 42).



Рис. 53. Кристаллы морфина с солью Рейнеке



Рис. 54. Кристаллы папаверина с хлоридом кадмия.



Рис. 55. Кристаллы кодеина с пикролоновой кислотой

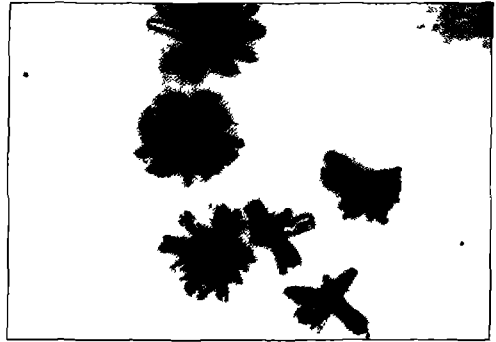


Рис. 56. Кристаллы папаверина с цианидом натрия



Рис. 57. Кристаллы морфина с хлоридом кадмия



Рис. 58. Кристаллы морфина с хлоридом ртути(II)

Таблица 42

Хроматографические характеристики опиатов

Вещество	Объем удерживания, мкл	Спектральные отношения S_i/S_{210}						
		220	230	240	250	260	280	300
Морфин	739	0,596	0,233	0,164	0,077	0,021	0,058	0,006
Кодеин	1013	0,667	0,234	0,195	0,114	0,027	0,062	0,005
Этилморфин	1243	0,701	0,249	0,198	0,116	0,028	0,063	0,006
Папаверин	1689	0,894	1,174	1,598	2,603	1,134	0,278	0,335
Героин	1502	0,365	0,218	0,110	0,020	0,027	0,077	0,001

Полученные параметры удерживания и спектральные отношения должны совпадать с параметрами стандартных образцов веществ.

ИК-спектроскопия в анализе опиатов. Остаток после испарения экстракта органического растворителя из объекта, очистки с помощью ТСХ растирают с кристаллами бромиды калия и регистрируют ИК-спектр. Для каждого из веществ наблюдают несколько наиболее важных характерных полос поглощения (табл. 43). Полосы поглощения исследуемого вещества должны совпадать с полосами поглощения стандартных веществ, приведенных в специальных атласах ИК-спектров.

Иммунные тесты для опиатов и других наркотических веществ. Используются для быстрого обнаружения опиатов в моче. Они представляют собой наборы полосок, на которых меченый антиген ковалентно связан с бумажной полоской в тестовой зоне. Для анализа требуется небольшой объем мочи (достаточно 150 мкл). В настоящее время используется более 10 видов иммунных тестов. Анализ может проводиться вне лаборатории. Он получил название «on-line» или «on-site», т.е. «на месте». Тестовая полоска опускается в образец мочи, и через несколько минут фиксируется результат.

Таблица 43

Характеристические волновые числа в ИК-спектрах опиатов

Вещество	Полосы поглощения, см ⁻¹
Морфин	805, 1243, 1448, 945, 1086, 833
Кодеин	1052, 1268, 1500, 1111, 793, 934
Героин	1245, 1764, 1178, 1215, 911, 1736
Папаверин	1507, 1068, 1273
Наркотин	1745, 1276, 1038

Таблица 44

Индексы удерживания опиатов

Вещество	Индекс удерживания	Вещество	Индекс удерживания
Этилморфин	2410	Морфин	2450
Папаверин	2848	Наркотин	3165

Этот способ анализа прост в выполнении и показывает большой процент сходимости с лабораторными иммунными методами анализа – ПФИА, ИФА и ГХ/МС. Однако они, как и лабораторные методы, неспецифичны и требуют подтверждения другими методами.

УФ-спектрофотометрия. Остаток после испарения хлороформного экстракта очищают с помощью тонкослойной хроматографии, как описано в разделе 6.4. Очищенные вещества элюируют с пластинки этиловым спиртом или 0,1 М растворами гидроксида натрия, серной или хлороводородной кислот. Регистрируют спектры поглощения элюатов с помощью спектрофотометра в области 200–320 нм. Опииаты обнаруживают максимумы светопоглощения в интервале длин волн 281–313 нм. Например, в этанольном растворе у морфина максимум светопоглощения обнаруживается при 287 нм, у кодеина – при 286 нм, у героина – при 281 нм, у наркотина – при 291 и 310 нм. В растворе морфина в 0,1 М хлороводородной кислоте максимум светопоглощения обнаруживают при 285 нм, у кодеина – при 211 и 285 нм, у героина – при 278 нм, у папаверина – при 250, 284 и 310 нм. При проведении анализа результаты сравнивают со спектрами поглощения растворов стандартных веществ.

Газожидкостная хроматография. Анализ проводят после очистки извлечений из объекта с помощью ТСХ. Обнаружение опиатов и их аналогов основано на измерении соответствующих параметров – времени и индекса удерживания (табл. 44).

При анализе извлечений из мочи после гидролиза глюкуронидов и сульфатов (в процессе пробоподготовки) и экстракции проводят дериватизацию путем ацетилирования или силилирования. Полученные дериваты анализируют. Разделение проводят на кварцевых капиллярных колонках с неполярными или слабополярными фазами, реже на набивных колонках также с неполярными (типа SE-30 или OV-1) или среднеполярными (OV-17) фазами. Детектор чаще всего пламенно-ионизационный, газ-носитель – азот. В качестве внутреннего стандарта рекомендован налорфин.

ГХМС в анализе опиатов (по Е.К.Еремину). Метод используется для идентификации и количественного определения опиатов в варианте масс-спектрометрии электронного удара.

Детектор масс-селективный, колонки кварцевые капиллярные с привитыми неполярными или малополярными стационарными фазами: 100% диметилсиликон, 95% метилсиликон или 5% фенилсиликон. Температура термостата колонок программируется с начальной 50–150°C до конечной 280–300°C. Температура интерфейса – 250–290°C. Газ-носитель – гелий со скоростью 1,8 мл/мин.

Для идентификации анализа ведут в режиме сканирования, для количественного определения – в режиме детектирования выбранных ионов. Для заключения об обнаружении определенного вещества необходимо совпадение времен удерживания всех выбранных ионов, а также соответствие интенсивностей этих ионов величинам, полученным для стандартных веществ (допускается отклонение не более $\pm 20\%$).

При количественном определении (см. табл. 45) выбирают один «базовый» («характеристический») ион. Расчеты ведут по калибровочному графику, выражающему

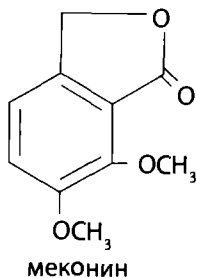
Характеристические полосы масс-спектра электронного удара

Вещество	m/z*
Морфин	42, 44, 124, 162, 215, 268, 284, 285 , 286
Кодеин	42, 59, 69, 124, 162, 229, 299 , 300
Героин	42, 43, 59, 204, 229, 282, 341 , 342
Норморфин	81, 82, 110, 148, 150, 201, 271 , 272
Норкодеин	81, 110, 115, 168, 164, 215, 285 , 286

* «Базовый» молекулярный ион выделен

зависимость отношения площадей «количественного иона» анализируемого вещества (АВ) и внутреннего стандарта (ВС) от отношения концентраций АВ и ВС.

Анализ биологических объектов на наличие меконовой кислоты и меконина



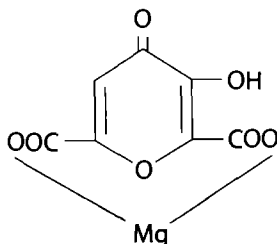
Анализ проводится в том случае, если в процессе исследования объекта (трупного материала, остатков пищи, мочи, рвотных масс) обнаружены морфин, кодеин, другие алкалоиды опия и подозревается отравление опиум.

Изолирование из объекта. Биологический объект настаивают со спиртом, подкисленным хлороводородной или серной кислотами. Вытяжку сливают, упаривают до небольшого объема и делят на 2 части. Одну часть исследуют на меконовую кислоту, вторую – на меконин.

Испытание на меконовую кислоту. Раствор выпаривают досуха на водяной бане. Сухой остаток растворяют в воде, нагревают до кипения и добавляют избыток оксида магния, фильтруют и подкисляют 10% раствором хлороводородной кислоты.

Для обнаружения меконовой кислоты используют реакцию с хлоридом железа(III) и УФ-спектрофотометрию.

После изолирования меконовая кислота в растворе будет находиться в виде магниевой соли:



Реакция с хлоридом железа(III). К 1–2 мл полученного раствора прибавляют 2–3 капли 1% раствора хлорида железа(III). Наблюдают появление кроваво-красного окрашивания, которое не исчезает при нагревании, но обесцвечивается при добавлении кислоты.

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

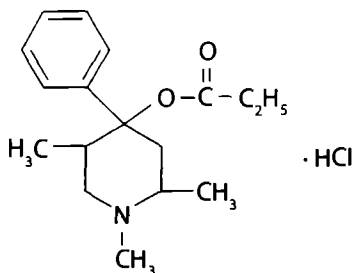
Испытание на меконин. 1/2 часть раствора экстрагируют бензолом. Бензол отделяют от водной фазы и выпаривают досуха. Полученный остаток исследуют на наличие меконина.

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

8.9.2. Опииоды

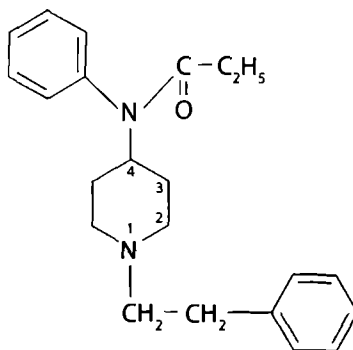
К опиоидным анальгетикам относят фармакологические аналоги морфина: промедол, трамадол, метадон и фенциклидин. Все они обладают сильным анальгетическим действием, но одновременно с этим вызывают привыкание (фенциклидин рассмотрен ранее среди галлюциногенов).

Указанные вещества проявляют анальгезирующую активность в дозах от нескольких мкг до 20 мг.



промедол

1,2,5-триметил-4-пропионилокси-4-фенилпиперидина гидрохлорид

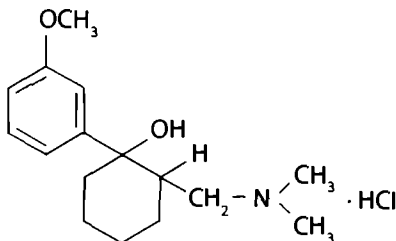


фентанил

1-(2-фенилэтил)-4-(N-пропионил-фениламино)-пиперидин

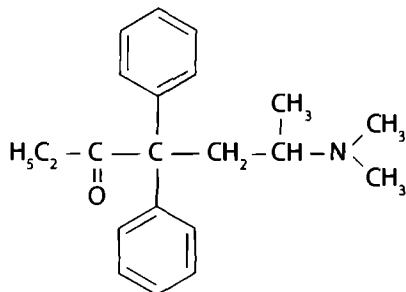
Промедол является опиоидным анальгетиком, активность которого ниже морфина в 2–4 раза. В отличие от морфина он слабее угнетает дыхательный центр. Его используют при травмах и различных заболеваниях, сопровождающихся болевыми ощущениями. Применяют промедол в виде таблеток по 0,025 г или в виде 1% и 2% растворов подкожно.

Фентанил оказывает сильное анальгезирующее действие. Назначают в виде 0,005% раствора по 1–3 мл при сильных болях.



трамал

2-диметиламинометил-1-(3'-метокси-фенил)-циклогексан-1-ола гидрохлорид



метадон

6-диметиламино-4,4-дифенил-3-гептанон

Трамадол (трамал) дает сильный и быстрый анальгетический эффект, продолжающийся 3–5 ч. Применяют в капсулах по 0,05 г, в виде суппозиториев по 0,1 г или в виде 5% раствора по 1–2 мл.

Метадон существует в двух изомерных формах. У левовращающего изомера (лево-метадона) анальгезирующее действие примерно в 4 раза сильнее, чем у морфина. В некоторых зарубежных фармакопеях приводится рацемический метадон.

Токсикологическое значение

При частом применении **промедола** развивается привыкание и болезненное пристрастие (наркомания). Промедол входит в список №2 Постоянного Комитета по контролю наркотиков, который предусматривает применение промедола с медицинскими целями под особым контролем.

При приеме **фентанила** в дозе 50–100 мкг наступает анальгезия и потеря сознания. При регулярном применении фентанила развивается толерантность и физическая зависимость. Фентанил и его производные имеют перекрестное замещение с морфином и обладают наркотической активностью. Опииные наркоманы воспринимают фентанил как заменитель героина со сходными эффектами. В подпольных лабораториях синтезированы различные производные фентанила, которые превосходят его по активности в тысячу раз и более.

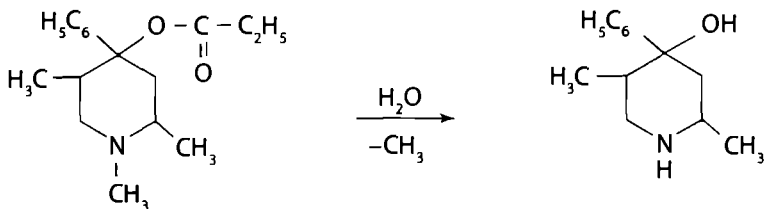
Трамал вызывает развитие толерантности и физиологической зависимости при длительном приеме терапевтических доз. Он имеет низкую наркотическую активность. Однако имеются сведения о немедицинском использовании больших доз трамала лицами с опиатной зависимостью. При передозировке наблюдаются тахикардия, постуральная гипотензия, коллапс, редко судороги. Он быстро и полностью всасывается из ЖКТ.

Метадон применяется для лечения лиц с героиновой зависимостью, хотя его использование не является бесспорным и отвергается многими врачами-наркологами. Метадон имеет сильную наркотическую активность, ее потенциал и длительность эйфорического действия сопоставимы с морфином. Смертельные случаи отравления наблюдались при приеме 50 мг метадона.

Метаболизм опиоидов

В организме **промедол** подвергается гидролизу и деметилированию с последующим образованием глюкуронидов.

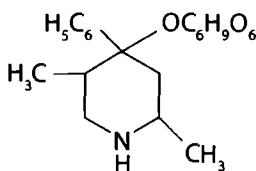
I фаза – гидролиз и деметилирование:



промедол

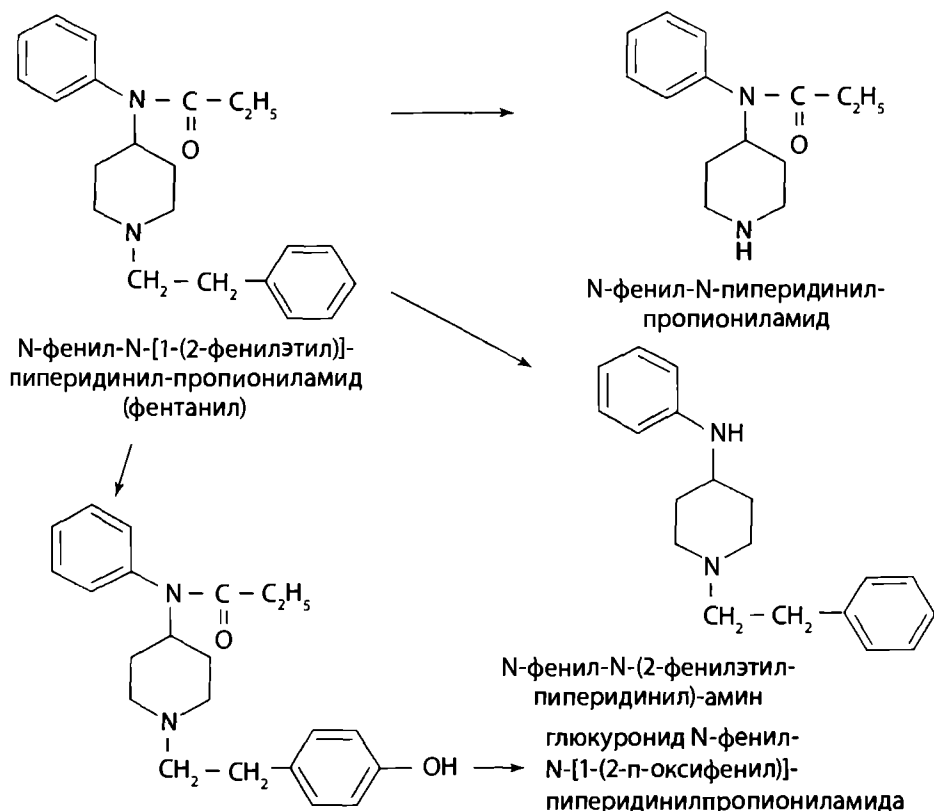
2,5-диметил-4-гидрокси-4-фенилпиперидин

II фаза – образование глюкуронидов:

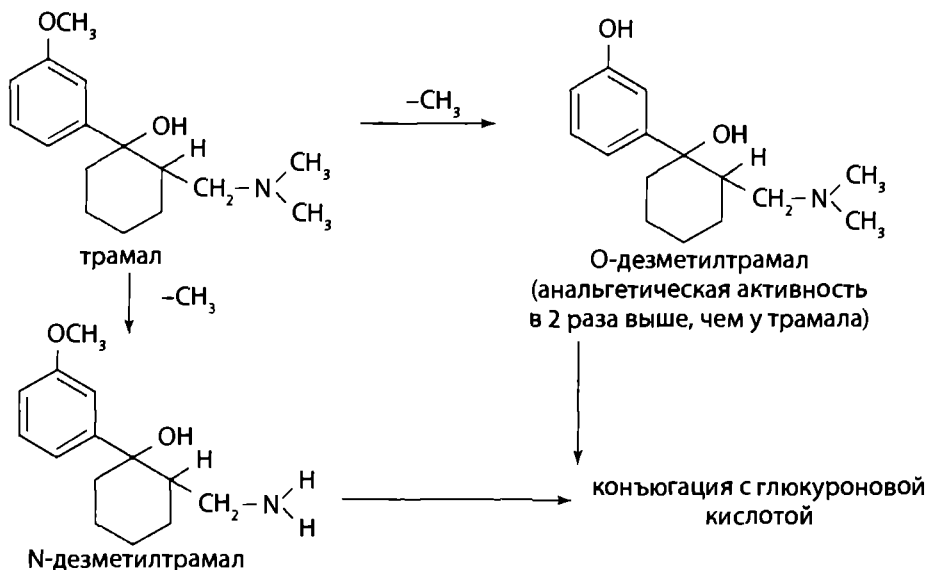


глюкуронид 2,5-диметил-4-гидрокси-4-фенилпиперидин

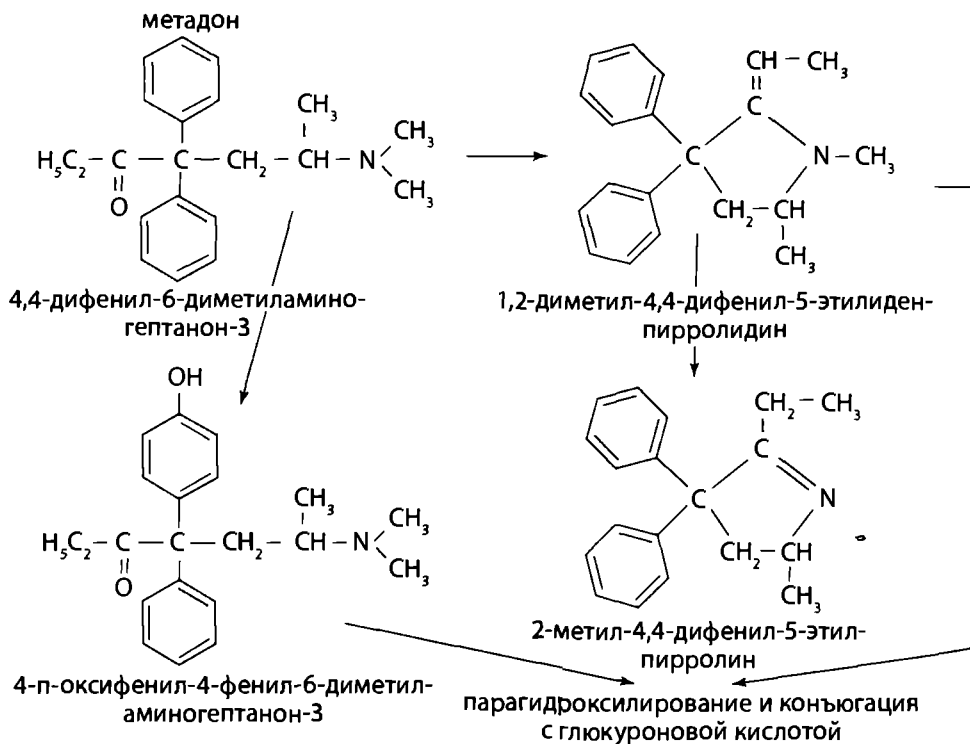
Фентанил является липофильным веществом, поэтому быстро проникает через мембраны и распределяется по всем тканям организма. После внутривенного введения фентанила в плазме крови находится не более 10% введенной дозы. Механизм метаболизма фентанила и его аналогов сходен. На первой стадии происходит отщепление фенилалкильного заместителя от атома азота пиперидинового кольца или гидролиз амидной группы. Частично может происходить гидроксирование фенильного, пиперидинового или пропионильного радикалов.



После перорального приема **трамала** в дозе 100 мг пик концентрации в крови в 260–410 нг/мл достигается через 30–60 мин (по некоторым данным через 1,6–3 ч). Через 12 ч концентрация уменьшается до 50–80 нг/мл и через 24 ч до 10–15 нг/мл. Метаболизм трамала происходит по пути деметилирования и гидроксирования. Во второй фазе проходит конъюгация гидроксильных производных с глюкуроновой или серной кислотами.



При оральном применении *метадона* в дозе 15 мг максимальная концентрация в крови обнаруживается в течение 2–4 ч и достигает 70–85 нг/мл. Интервал концентрации в плазме и скорость ее изменения сильно зависят от индивидуальных особенностей организма. Метаболизм метадона происходит по пути деметилирования с последующей циклизацией. Другие пути метаболизма сводятся к гидроксированию фенильных радикалов. В виде нативного соединения метадон через 24 ч выводится в количестве примерно 33%, в виде основных метаболитов около 50% дозы. Неконъюгированные соединения составляют 75% введенной дозы. Часть метадона выводится через кишечник.



Физико-химические свойства

Промедол выпускается в виде гидрохлорида, представляет собой белый кристаллический порошок без запаха, легко растворим в воде, спирте, хлороформе, нерастворим в диэтиловом эфире. Промедол является слабым основанием, $pK_a=5,20$.

Фентанил – белый кристаллический порошок, очень мало растворим в воде, растворим в метаноле, этаноле и хлороформе.

Трамал выпускается в виде гидрохлорида, представляет собой белый или кремоватый мелкокристаллический порошок, легко растворим в воде, растворим также в метаноле, этаноле и хлороформе.

Метадон выпускается в виде гидрохлорида. Это белый кристаллический порошок горького вкуса, растворим в воде, спирте и хлороформе, нерастворим в диэтиловом эфире.

Методы изолирования и определения

Для изолирования опиоидов из биологических жидкостей применяют жидкость-жидкостную экстракцию при значении $pH > 7$, твердофазную экстракцию в специальных патронах. После испарения растворителя-экстрагента проводят исследования с использованием химических и физико-химических методов.

Хроматография в тонком слое сорбента. Для обнаружения промедола рекомендуется система растворителей этилацетат – этанол – 25% раствор аммиака (9:1:0,5). Используют хроматографические пластинки «Сорбфил». R_f для промедола равно 0,69.

Метадон анализируют, используя систему растворителей бензол – этанол – диэтиламин (9:1:1). R_f для метадона равно 0,80

Для обнаружения трамала рекомендованы системы растворителей: толуол – этанол – триэтиламин (9:1:1), R_f 0,74, и метанол – 25% раствор аммиака (100:1), R_f 0,55.

Пятна на пластинках предложено детектировать путем просматривания в УФ-лучах (254 нм) – на месте расположения опиоидов наблюдают гашение флуоресценции. При последующей обработке пластинок реактивом Драгендорфа пятна исследуемых веществ окрашиваются в оранжевый цвет.

Реакции окрашивания. Эти реакции проводят с сухими остатками, полученными после испарения экстракта из объекта. К сухим остаткам добавляют реактив и наблюдают образовавшуюся окраску:

- при добавлении **реактива Марки** промедол дает красно-пурпурное окрашивание, трамал – грязно-коричневое, переходящее в грязно-зеленое, метадон – розово-красное, переходящее в интенсивно флуоресцирующее;
- при добавлении **концентрированной серной кислоты** трамал образует ярко-желтое окрашивание,
- при добавлении **реактива Либермана** метадон образует оранжевое окрашивание;
- при добавлении **реактива Манделина** (смесь концентрированной серной кислоты и ванадата аммония) метадон образует зеленое, переходящее в голубое окрашивание;
- при добавлении **реактива Фреде** (смесь концентрированной серной кислоты и молибдата аммония) метадон дает серо-коричневое окрашивание;
- при добавлении **1% раствора лимонной кислоты в уксусном ангидриде** и при нагревании на водяной бане фентанил образует красно-фиолетовое окрашивание.

Метод ВЭЖХ. Для анализа используют условия, описанные при обнаружении опийных алкалоидов. Идентификацию веществ проводят по величинам удерживаемого объема и спектральным отношениям при нескольких длинах волн (см. табл. 46).

Газовая хроматография с масс-спектральным детектированием. Для анализа опиоиды изолируют из объекта жидкость-жидкостной экстракцией. После испарения органического растворителя рекомендуется проводить дериватизацию выделенных веществ с помощью уксусного или перфторуксусного ангидрида. Анализ проводят, используя хроматомасс-спектрометрию электронного удара. Сканирование масс-спектров ведут в диапазоне от 31 до 550 дальтон (дальтон – атомная единица массы, которая равна 1/12 массы атома нуклида ^{12}C). В таблице 47 представлены получаемые данные.

Таблица 46

Хроматографические характеристики опиоидов

Вещество	Удерживаемый объем, мкл	Спектральные отношения S_i/S_{10}						
		220	230	240	250	260	280	300
Промедол	1882	0,219	0,011	0,010	0,017	0,019	0,001	0,001
Трамал	1566	0,442	0,416	0,028	0,040	0,111	0,185	0,003
Фентанил	1949	0,304	0,126	0,042	0,019	0,020	0,001	0,001

Таблица 47

Газохроматографические и масс-спектральные характеристики трамала, метадона и их метаболитов

Вещество	Время удерживания, мин	Характеристические ионы, m/z
Трамал	7,26	58, 115, 128, 121, 245
Метаболиты трамала	7,17, 6,88	
Метадон	6,41	57, 72, 86, 165, 223, 294, 309
Метаболиты метадона	5,59, 6,11, 5,73, 6,54	

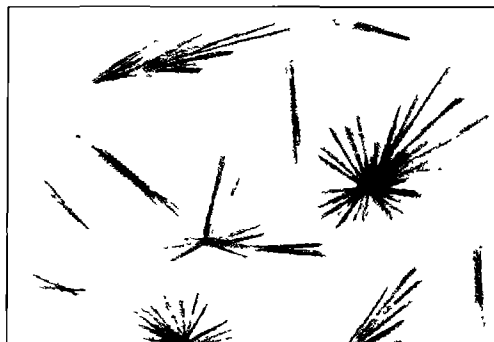


Рис. 59. Кристаллы промедола с ализариновым красным.

Микрокристаллоскопическая реакция на промедол. Остаток после удаления органического растворителя обрабатывают 1–2 каплями 0,1 М раствора хлороводородной кислоты и смешивают с одной каплей 0,2% водного раствора ализаринового красного. Через 15–20 мин наблюдают образование сростков из игольчатых и узкопластинчатых кристаллов (рис. 59).

8.9.3. Количественное определение опиатов и опиоидов

Для количественного определения опиатов и опиоидов используют методы ВЭЖХ, УФ-спектрофотометрии, ГЖХ, ГХ/МС, иммунохимические и фотоэлектроколориметрические методы.

Метод ВЭЖХ. Анализ проводится в условиях, приведенных ранее для лекарственных и наркотических веществ. Для расчетов содержания исследуемых соединений используют метод добавок, методы внешнего и внутреннего стандарта.

Метод добавок. Проводят анализ экстракта из мочи и параллельно той же пробы с добавкой в нее 0,2 мл 0,11 мкг/мл стандартного раствора соответствующего опиата (морфина, кодеина, папаверина и т. д.). После получения на хроматограмме пиков исследуемого вещества и «стандарта» концентрацию опиата рассчитывают по формуле, приведенной в разделе 8.1.

Метод внешнего стандарта. Параллельно с анализом экстракта из объекта проводят анализ стандартного раствора соответствующего опиата в одном масштабе регистрации.

После получения пиков на хроматограмме концентрацию исследуемого вещества рассчитывают по формуле, приведенной в разделе 8.1.

Метод внутреннего стандарта. К пробе исследуемого объекта до начала пробоподготовки добавляют в качестве «внутреннего стандарта» налорфин. Затем проводят изолирование, очистку извлечений и в полученном остатке определяют опиат с помощью ВЭЖХ по приведенной ранее формуле в разделе 8.1.

УФ-спектрофотометрия. Используется после очистки извлечений из объекта от эндогенных соединений с помощью ТСХ или твердофазной экстракции. Анализ ведут при длинах волн, соответствующих максимумам светопоглощения найденного опиата. Расчет концентрации проводят по калибровочному графику.

ГЖХ. Количественное определение опиатов и их аналогов проводят традиционным способом путем измерения высот (площадей) пиков исследуемого вещества и «внутреннего стандарта». Для расчета количества опиата используют калибровочный график.

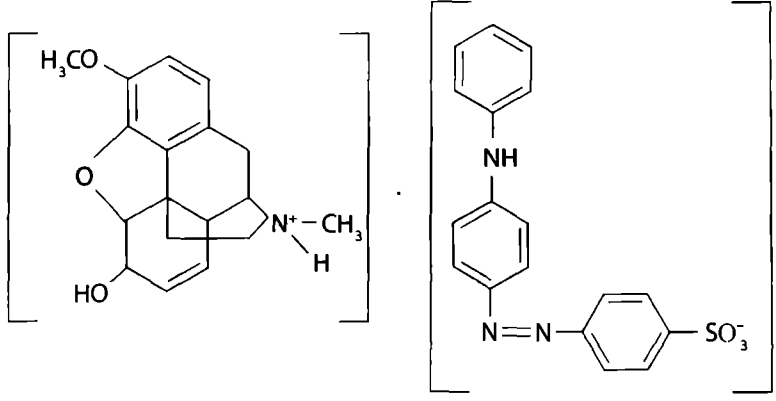
Иммунохимические методы. Из описанных ранее иммунохимических методов для количественного определения опиатов чаще всего используют поляризационный иммуноанализ на приборах фирмы «Эббот» ТДХ/ТДХ-FL_x. Особенностью приборов является автоматический режим расчета концентрации с использованием калибровочных графиков.

Фотоколориметрические методы. Среди фотоколориметрических методов для количественного определения опиатов и их аналогов предложены метод непосредственной и экстракционной фотометрии.

Фотоколориметрический метод определения морфина (метод В. Ф. Крамаренко). Сухой остаток после испарения извлечения из объекта растворяют в 2 мл воды очищенной. В мерной колбе смешивают 3 мл 0,11% раствора силиката калия (K₂SiO₃), 2 мл 0,5 М раствора хлороводородной кислоты и 2 мл 5% раствора молибдата аммония. Через 3 мин к полученной смеси реактивов добавляют исследуемый раствор остатка и 5 мл 6% раствора аммиака. Раствор окрашивается в синий цвет. Оптическую плотность измеряют при красном светофильтре в кювете 3 мм. Расчеты ведут, используя калибровочный график.

Метод позволяет определить от 0,2 до 4 мг морфина в исследуемой пробе.

Экстракционно-фотоколориметрический метод определения кодеина. 1 мл раствора остатка извлечения из объекта вносят в делительную воронку, прибавляют 9 мл ацетатной буферной смеси (рН=4,6), 5 мл 0,1% водного раствора тропеолина 00 и повторно экстрагируют 5 мл хлороформа. Хлороформные экстракты объединяют и объем доводят до 50 мл. К 5 мл полученного раствора прибавляют 20 мл хлороформа и 2,5 мл 1% раствора концентрированной серной кислоты в метиловом спирте. Оптическую плотность полученного раствора, окрашенного в фиолетово-красный цвет, определяют, используя фотоэлектроколориметр, зеленый светофильтр и кювету 10 мм. Расчет концентрации ведут по калибровочному графику.



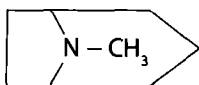
ионный ассоциат кодеина с тропеолином 00

Метод позволяет определить от 0,2 до 2,0 мг кодеина в пробе.

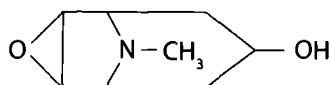
Аналогичные методы экстракционной фотоколориметрии предложены для количественного определения этилморфина (с бромфеноловым синим при $\text{pH}=2,86$), папаверина (с эозинатом натрия при $\text{pH}=4,5$), промедола, морфина (с тропеолином 00 при $\text{pH}=4,6$).

8.10. Производные тропана

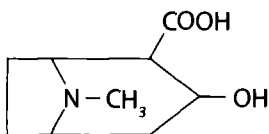
Тропан представляет собой конденсированную систему, состоящую из пирролидинового и пиперидинового циклов. Производные тропана распространены в основном в растениях семейства пасленовых и эритроксиловых. Природные алкалоиды подразделяют на производные спиртов тропина (3-гидрокситропан), скопина (6,7-эпокси-3-гидрокситропин) и экгонина (3-гидрокси-2-карбокситропан).



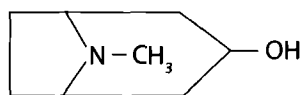
тропан



скопин

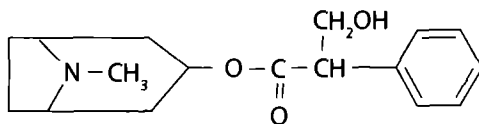


экгонин



тропин

В медицинской практике применяют *«Атропина сульфат»* и различные препараты красавки.



атропин

тропиновый эфир d,l-троповой кислоты

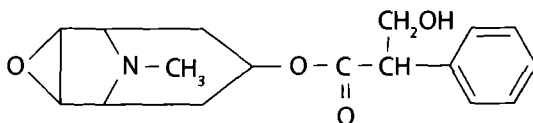
Из листьев и травы красавки производят настойку, густой и сухой экстракты, входящие в различные лекарственные формы (таблетки, свечи) и комбинированные препараты («Бекарбон», «Бесалол», «Белалгин», «Бепасол», «Белластезин», «Таблетки желудочные с экстрактом красавки», «Беллатаминал», «Беллойд», «Бетиол», «Анузол», препарат «Солутан»). Порошок листьев красавки входит в состав «Астматол» и «Астматина».

Атропина сульфат применяют в качестве антагониста холиноэргетиков. Он способен блокировать м- и н-холинорецепторы. Блокируя м-холинорецепторы, атропин делает их нечувствительными к ацетилхолину. Атропина сульфат также находит применение в качестве активного антидота при отравлении холиномиметическими и антихолинэстеразными веществами, в том числе и фосфорорганическими соединениями.

Атропина сульфат применяют широко в глазной практике для расширения зрачка с диагностической целью (исследование глазного дна, определение истинной рефракции и т.д.), а также при паркинсонизме, при различных патологических состояниях, сопровождающихся повышением тонуса блуждающего нерва, при болях, связанных со спазмами гладкой мускулатуры.

Атропин оптически неактивен, так как является рацематом. Левовращающий изомер — гиосциамин активнее атропина в 2 раза.

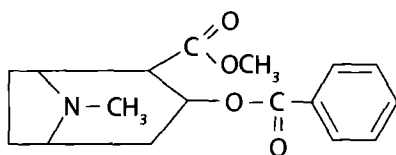
Скополамин – алкалоид, содержащийся вместе с гиосциамином в красавке, белене, дурмане, скополии.



скополамин
скопиновый эфир-d-l-троповой кислоты

Применяется в медицинской практике в виде скополамина гидробромида в качестве спазмолитического средства. Скополамин действует на периферические холинреактивные системы: вызывает расширение зрачков, паралич аккомодации, учащение сердечных сокращений, расслабление гладких мышц (bronхов, ЖКТ), уменьшение секреции пищеварительных и потовых желез. Он способен за счет центрального холиномиметического действия давать седативный эффект, уменьшать двигательную активность, проявлять снотворное действие. Его используют в психиатрической практике как успокаивающее средство, в неврологии для лечения паркинсонизма, как противорвотное и успокаивающее средство при морской и воздушной болезни. Применяется внутрь в растворах, подкожно, местно в разовых дозах 0,00025–0,0005 г. Известны таблетки «Аэрон», содержащие скополамин камфорнокислый. Кроме того, в медицинской практике находят применение синтетические производные тропана: гоматропина гидробромида, тропацин и тропafen. Их токсикологическое значение значительно меньше по сравнению с указанными выше веществами.

Кокаин (кока, мараф, кокс, благородный, белый) – главный алкалоид листьев *Erythroxylon coca* (семейство *Erythroxylaceae*), произрастающего в Перу, Боливии, Эквадоре и других странах. Содержание кокаина в листьях доходит до 1,5%, причем молодые листья его содержат до 2%. Синтетический кокаин был получен из экгонина.



кокаин

Кокаин – сложный эфир спиртокислоты экгонина с метиловым спиртом и бензойной кислотой. В медицинской практике кокаина гидрохлорид иногда применяют в качестве местноанестезирующего средства для анестезии конъюнктивы глаза, слизистых оболочек гортани, носа, мочевыводящих путей.

Токсикологическое значение

Отравления атропином чаще всего наблюдаются при употреблении частей растений белладонны, белены и дурмана. Ядовиты все части растения: стебли, листья, цветы, семена, корни. Во все времена белладонна была известна как наиболее ядовитое растение. В средние века белладонна считалась, наряду с беленой, волшебной травой и была составной частью колдовских мазей и напитков.

Отравления частями растений чаще всего встречается у детей дошкольного и младшего школьного возраста. 5–20 зерен красавки, дурмана или белены способны вызвать отравление. Мелкие семена этих растений по внешнему виду практически не отличаются от семян мака и поэтому привлекают детей.

Клинические симптомы отравления проявляются в сухости и жжении во рту, в носу, глотке, жажде, расстройстве глотания и речи (охриплость, беззвучность голоса), тошноте,

рвоте, резком расширении зрачков, не реагирующих на свет. У пострадавших отмечаются покраснение лица, одышка, кожа становится сухой, красной, горячей со scarлатиноподобной сыпью. Характерно речевое и двигательное возбуждение, атаксия, головная боль, бред, зрительные и обонятельные галлюцинации, неадекватный смех, плач, иногда буйное состояние. Авиценна более 1000 лет назад писал: *«Белена – яд, который причиняет умопомешательство, лишает памяти и вызывает удушье и бесноватость»*. Свойство белены вызывать галлюцинации использовалось в средние века в составе «мази ведьм», в которую она входила в виде экстракта плодов красавки. Ядовитые свойства белены отражены в народной поговорке *«что ты, баба, белены объелась»*, имея в виду возбуждающее действие на организм этого растения.

При попадании токсических доз алкалоидов в организм после возбужденного состояния наблюдаются судорожные приступы, потеря сознания, кома, одышка, сменяющиеся чейн-стоксовым дыханием, цианозом, частым пульсом, понижением артериального давления. Смертельная доза – 0,1 г атропина для взрослого человека. Смерть наступает при явлениях асфиксии от паралича дыхательного центра. Картина вскрытия малохарактерна.

Отравления скополамином в большинстве случаев связаны с приемом лекарственных препаратов. В отличие от атропина стадия возбуждения при отравлении слабо выражена. Токсические дозы через несколько минут вызывают потерю сознания и кому. При более умеренных формах наступает помешательство, потеря уверенности в себе, галлюцинации, отсутствует самокритика. После выздоровления полная амнезия. Смертельная доза скополамина – 0,1 г. Известны аллергические реакции при введении в организм скополамина и его препаратов.

Кокаин – сильнодействующий стимулятор ЦНС. Он способен изменять сознание, снимать усталость и стимулировать работу различных систем организма (аналогично амфетаминам). В древней цивилизации жрецы использовали листья кока для вхождения в транс при религиозных действиях, а позже люди жевали листья кока, чтобы улучшить самочувствие, снять усталость и чувство голода.

Распространение кокаина как наркотического средства приняло угрожающий характер во всем мире в 1986–1999 годы, когда он появился «на улицах» в нелегальной коммерческой торговле. За счет передозировки число смертельных исходов значительно возросло. Кокаин был отнесен к числу особо опасных наркотиков. В настоящее время кокаин включен в список №2 Конвенции ООН по наркотикам, что означает возможность его применения по определенным медицинским показателям при международном и внутреннем контроле.

Формы использования кокаина в «уличной» торговле:

- кокаина гидрохлорид;
- кокаин-основание – «крэк»;
- смесь кокаина и героина – «спидболл». Эта смесь обладает особенно высоким наркотическим действием.

Указанные формы использования кокаина могут содержать примеси сахара, стимуляторов (амфетамин, кофеин), анестетиков (лидокаин, прокаин). В таких формах содержание кокаина может быть менее 10%.

Кокаин в международном обороте наркотиков – продукт высокого качества с содержанием кокаина гидрохлорида 89–90%. При нелегальной продаже он разбавляется до 30% содержанием путем смешивания с парацетамолом, кофеином, лидокаином, прокаином, бензокаином, маннитолом, лактозой, глюкозой, крахмалом, содой, борной кислотой и др.

Другим широко используемым наркоманами продуктом является «крэк» (Crack, Rock). Название это средство получило за счет характерного потрескивания кристаллов при нагревании. Он используется для курения. Его получают из кокаина гидрохлорида путем экстракции эфиром подщелоченных растворов. Выделенное кокаин-основание представляет собой кристаллы или гранулы и содержит до 90% кокаина. При высокой температуре испаряется, что и используется для курения.

Основное действие кокаина связано с его местноанестезирующим и сосудорасширяющим свойствами. Кокаин вызывает все виды анестезии – поверхностную, инфильтрационную, проводниковую и спинномозговую. При попадании на слизистые оболочки кокаин быстро достигает нервных окончаний, что способствует утрате болевой, затем тепловой и тактильной чувствительности.

Действие кокаина на ЦНС проявляется в виде опьяняющего веселья, галлюцинаций, позже появляются бред, страх, понижение слуха, вкуса, зрения, конвульсии и паралич. Желание испытать эйфорию и стимулирующее действие приводит к болезненному припадку – кокаиному.

Кокаин принимают обычно путем вдыхания наркотика через нос или внутривенного введения. Нюханье кокаина влечет за собой вначале катар полости носа, позже – хронические язвенные процессы, доходящие до перфорации носовой перегородки. Состояние опьянения развивается вскоре после введения наркотика и продолжается 1–3 ч. Затем наступает спад активности, выраженные депрессивные переживания, чувство усталости, апатии, опустошенности.

Систематическое применение кокаина истощает организм. Падает трудоспособность, снижаются волевые качества, позже память ослабевает, круг интересов сужается, нарушается сон, который прерывается кошмарными сновидениями. Человек становится раздражительным, отмечены приступы страха, беспокойства, мания преследования. Все это приводит к правонарушениям и суициду.

Особенно опасны кокаиновые психозы, которые протекают по форме кокаиновой параноиды и характеризуются наплывом зрительных галлюцинаций, упорной бессонницей, помрачением сознания. Организм человека очень чувствителен к кокаину. Доза 0,01–0,03 г вызывает эйфорию, а доза 0,05 г при быстром всасывании – смертельное отравление. Смерть наступает в течение нескольких минут вследствие паралича дыхательного центра.

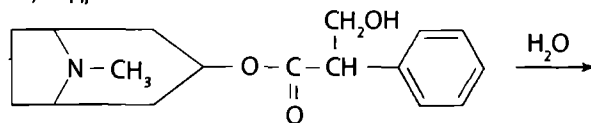
Всасывание и пути метаболизма

Алкалоиды красавки быстро всасываются слизистыми желудочно-кишечного тракта и другими слизистыми, например конъюнктивой.

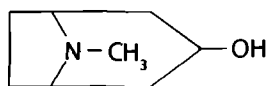
Атропин в организме подвергается в I фазе метаболизма гидролизу с образованием спирта тропина и троповой кислоты в присутствии атропинэстеразы. Во II фазе метаболизма образуются глюкурониды. Эти метаболиты выделяются в течение 48 ч. Часть атропина (до 50%) выводится с мочой в неизмененном виде.

I фаза

а) гидролиз

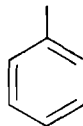


атропин



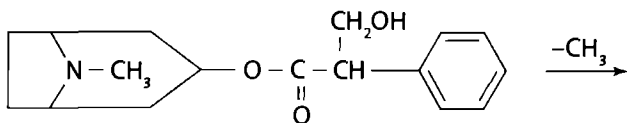
тропин

HOOC-CH-CH₂OH

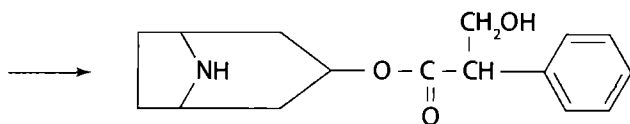


троповая кислота

б) деметилирование

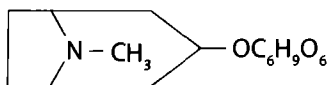


атропин

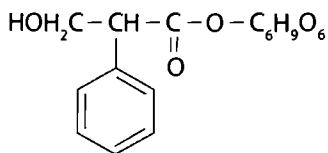


норатропин

II фаза – образование глюкуронидов



глюкуронид тропина

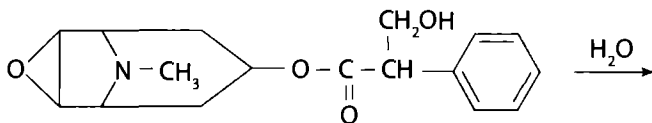


глюкуронид троповой кислоты

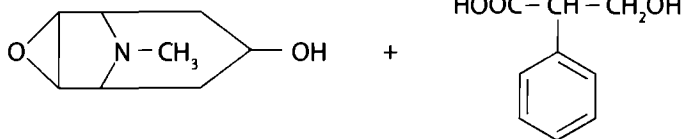
Скополамин в печени подвергается гидролизу до спирта скопина и троповой кислоты. За счет деметилирования у атома азота скополамин образует норскополамин и норскопин. Во II фазе метаболизма метаболиты и скополамин образуют хорошо растворимые глюкурониды

I фаза

а) гидролиз



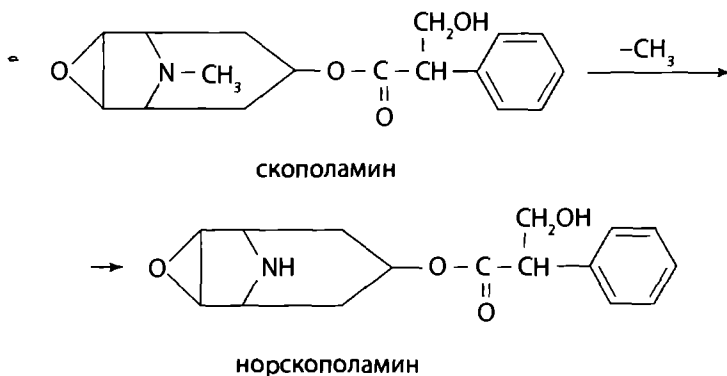
скополамин



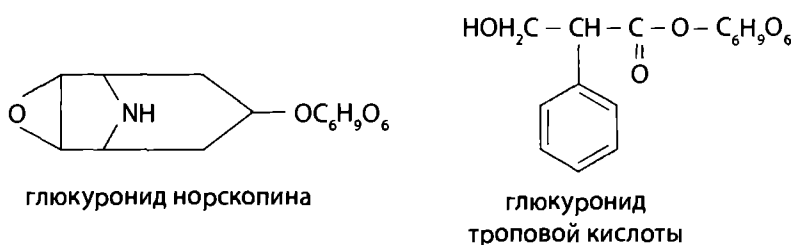
скопин

троповая кислота

б) деметилирование



II фаза – образование глюкуронидов

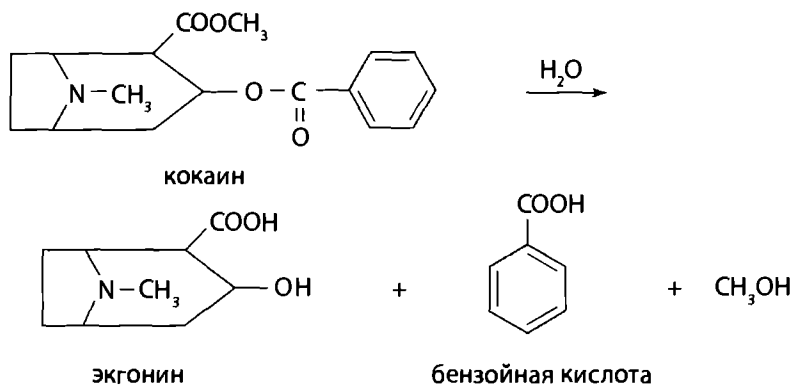


Кокаин. При курении кокаин всасывается быстро. Кокаин и его метаболит норкокаин как липофильные соединения накапливаются в жировых депо. Они легко преодолевают гематоэнцефалический и плацентарный барьеры. Бензоилэксгонин и экгонин – высокополярные соединения.

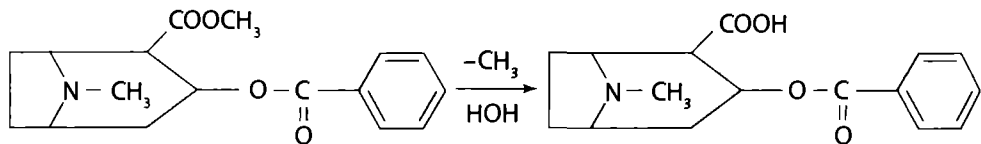
В организме кокаин почти полностью разрушается. В I фазе метаболизма проходит гидролиз с образованием бензоилэксгонина, а затем экгонина и бензойной кислоты и деметилирование с образованием норкокаина. При курении и употреблении спиртных напитков могут образоваться и ряд других метаболитов. Во II фазе метаболизма образуются глюкурониды – конъюгаты с глюкуроновой кислотой. До 5% введенного в организм кокаина выводится в неизменном виде, а большая часть – в виде метаболитов через почки.

I фаза

а) гидролиз

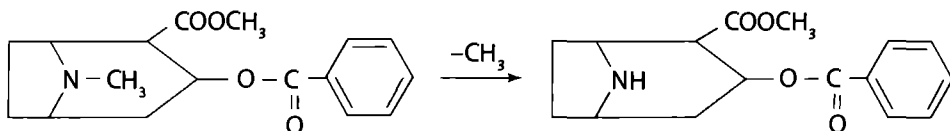


б) деметилирование



кокаин

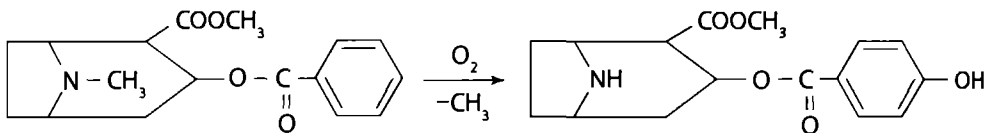
бензоилэконин (главный метаболит)



кокаин

норкокаин
(активный метаболит)

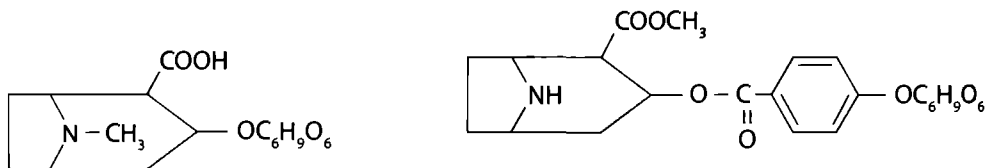
в) гидроксирование



кокаин

гидроксипроизводное норкокаина

II фаза – образование глюкуронидов



глюкуронид экгонина

глюкуронид гидроксипроизводного
норкокаина

Физико-химические свойства

Соли алкалоидов (сульфаты, гидрохлориды) – белые кристаллические вещества без запаха. Они легко растворимы в воде и спирте, малорастворимы в хлороформе. Основания алкалоидов – бесцветные призматические кристаллы, хорошо растворимые в этиловом спирте, бензине, хлороформе, подкисленной воде. Атропин, скополамин и кокаин – вещества со слабо основными свойствами (рКа атропина равно 10,0; рКа кокаина 8,7).

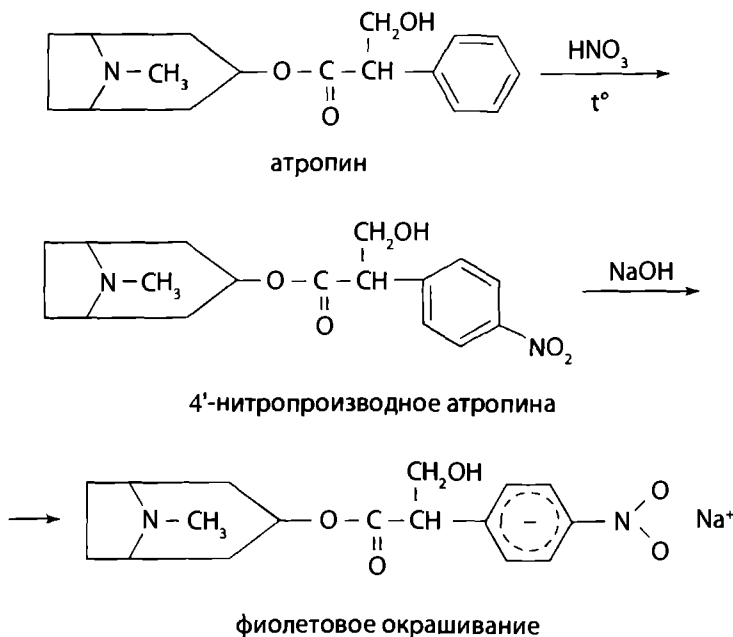
При **изолировании** из биологических объектов атропин, скополамин и кокаин экстрагируются хлороформом из водных вытяжек из объекта при pH=8–10.

При проведении общего **ТСХ-скрининга** алкалоиды – производные тропана и экгоина обнаруживаются на хроматографических пластинках в виде оранжевых пятен при обработке их реактивом Драгендорфа (см. раздел 7.1.2).

При проведении реакций с *общеалкалоидными осадительными реактивами* эти алкалоиды образуют, в основном, аморфные осадки (см. раздел 7.1.8).

Для *обнаружения* в извлечениях индивидуальных веществ используют химические, микрокристаллоскопические реакции, фармакологические пробы на животных, ВЭЖХ, УФ-спектрофотометрию, ИК-спектроскопию, хроматографию в тонком слое сорбента, газовую хроматографию и ГХ/МС.

Реакция Витали–Морена на атропин и скополамин. Для проведения реакции часть хлороформного извлечения из объекта испаряют в фарфоровой чашке, добавляют 1 мл концентрированной азотной кислоты и нагревают. При этом образуются 4'-нитропроизводные, которые под влиянием раствора щелочи в ацетоне приобретают фиолетовое окрашивание



Реакция неспецифична. Кроме атропина и скополамина эту реакцию дают вератрин, стрихнин, аминазин и другие вещества, но при их наличии в объекте окраска имеет иной оттенок и исчезает быстрее, чем окраска за счет атропина. Предел обнаружения – 1 мкг атропина в пробе.

Реакция с п-диметиламинобенальдегидом и серной кислотой. К исследуемому раствору добавляют 3–5 капель 0,5% раствора п-диметиламинобенальдегида в концентрированной серной кислоте. При взбалтывании и последующем нагревании на водяной бане в течение 5–10 мин появляется красное окрашивание, переходящее в вишнево-красное, а затем в фиолетовое.

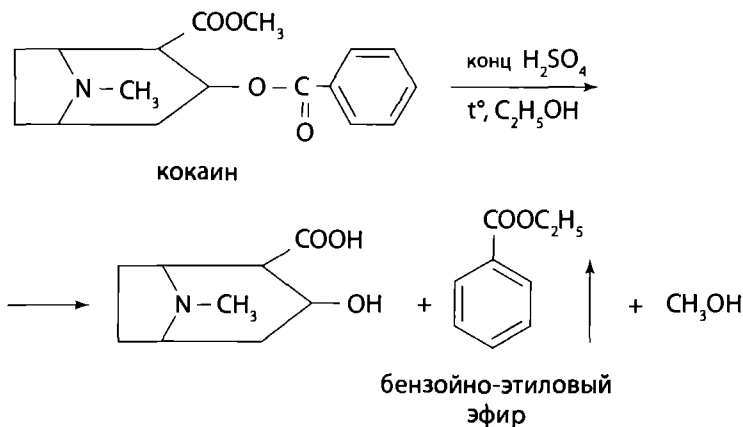
При наличии в извлечении морфина и кодеина также появляется красное окрашивание, но окраска не переходит в фиолетовую.

Эту реакцию используют для отличия атропина и скополамина от кокаина, особенно в случае исследования наркотических средств.

Реакция Скотта на кокаин. При добавлении к остатку после испарения извлечения из объекта или к образцу наркотического средства 5 капель 2% раствора тиоцианата кобальта, смешанного с глицерином (1:1) – появляется синее окрашивание, которое исчезает при добавлении 1–2 капель концентрированной хлороводородной кислоты. Если к окрашенному раствору добавить несколько капель хлороформа, его слой окрашивается при встряхивании в синий цвет.

Реакция с молибдатом аммония на скополамин. При добавлении к остатку после испарения извлечения из объекта молибдата аммония и серной кислоты появляется темно-синее окрашивание

Реакция образования бензойно-этилового эфира характерна для кокаина. К нескольким крупинкам исследуемого вещества или к сухому остатку экстракта из объекта прибавляют 2 мл концентрированной серной кислоты и 2 мл этилового спирта. Смесь нагревают на водяной бане 5 мин. Появляется характерный запах бензойно-этилового эфира. Этот запах ощущается более четко, если полученную жидкость разбавить 5–10 кратным объемом холодной воды очищенной.



Эту реакцию не дают атропин и скополамин

Реакция с солью Рейнеке на атропин. К сухому остатку извлечения из объекта добавляют каплю 0,1 М раствора хлороводородной кислоты и рядом каплю 1% свежеприготовленного раствора соли Рейнеке. При соединении этих растворов образуется осадок сиреневого цвета. Под микроскопом видны сростки кристаллов с ромбовидными концами (рис. 60).

Предел обнаружения – 0,1 мкг атропина в пробе

Реакция с пикриновой кислотой на атропин. При добавлении к сухому остатку капли 0,1 М раствора хлороводородной кислоты и капли 0,5% раствора пикриновой кислоты через 15–20 мин образуются кристаллы светло-желтого цвета в виде пластинок и сростков из них (рис. 61).

Предел обнаружения – 5 мкг атропина в пробе

Реакция с перманганатом калия на кокаин. К сухому остатку добавляют каплю 10% хлороводородной кислоты и выпаривают досуха, а затем наносят на остаток каплю 1%

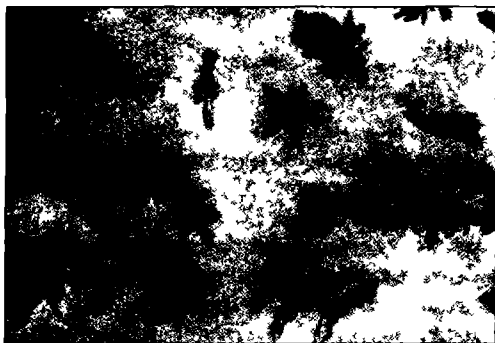


Рис. 60. Кристаллы атропина с солью Рейнеке



Рис. 61. Кристаллы атропина с пикриновой кислотой



Рис. 62. Кристаллы кокаина с перманганатом калия



Рис. 63. Кристаллы кокаина с платинохлороводородной кислотой

Рис. 64. Кристаллы атропина со стифинной кислотой

раствора перманганата калия. Через 10–20 мин наблюдают появление красно-фиолетовых кристаллов в форме прямоугольных пластинок и сростков из них (рис 62)

Предел обнаружения – 4 мкг кокаина в исследуемой пробе

Реакция с платинохлороводородной кислотой на кокаин. К сухому остатку, полученному после выпаривания хлороформного экстракта, прибавляют каплю 0,1 М раствора хлороводородной кислоты и каплю 10% раствора платинохлороводородной кислоты. Кокаин образует светло-желтые кристаллы, имеющие форму перистых дендритов (рис 63)

Предел обнаружения – 3,3 мкг кокаина в исследуемой пробе

Реакция со стифинной кислотой на атропин. К сухому остатку, полученному после выпаривания хлороформного экстракта, прибавляют каплю 0,1 М раствора хлороводородной кислоты и каплю 5% раствора стифинной кислоты. Атропин образует характерные кристаллы из прямоугольных пластинок и сростки из них (рис 64)

Хроматография в тонком слое сорбента. На хроматографическую пластинку наносят извлечение из объекта и рядом по 7–10 мкг «стандартов» атропина, скополамина и кокаина. Пластинку помещают в систему растворителей хлороформ – ацетон – диэтиламин в соотношении 50:30:2. После продвижения системы растворителей на 10 см выше стартовой линии пластинку вынимают, высушивают на воздухе и обрабатывают реактивом Драгендорфа, модифицированным по Мунье. Кокаин, атропин и скополамин проявляются на пластинке в виде розово-бурых пятен со значениями $R_f = 0,64 \pm 0,01$, $0,26 \pm 0,01$ и $0,44 \pm 0,01$ соответственно. Окраска пятен и их положение на пластинке должны полностью совпадать с таковыми «стандартов»

ИК-спектроскопия. К остатку после испарения хлороформного экстракта из объекта или к нескольким мг исследуемого образца наркотического средства добавляют 1 каплю 25% раствора аммиака и 1 мл диэтилового эфира (или пентана). В агатовую ступку по-

Таблица 48

Волновые числа в ИК-спектре производных тропана и экгоина

Вещество	Волновые числа ИК-спектра, см ⁻¹
Атропин	1720, 1035, 1153
Скополами	1725, 1041, 1165, 1060
Кокаин	1275, 1700, 1106, 1728, 710, 1040, 1280

Таблица 49

Хроматографические характеристики

Вещество	Объем удерживания, мл	Спектральные отношения S_2/S_{210}						
		220	230	240	250	260	280	300
Атропин	1333	0,464	0,151	0,031	0,020	0,022	0,000	0,001
Кокаин	1651	2,244	4,115	3,200	0,772	0,257	0,287	0,002
Бензоил – экгоин (метаболит)	1327	2,215	3,973	3,061	0,761	0,245	0,269	0,002

мешают порошок бромида калия и добавляют к нему эфирный экстракт. Затем смесь высушивают в сушильном шкафу при 50–60°C досуха. Остаток прессуют и используют для регистрации ИК-спектра. В ИК-спектре обнаруживают характерные волновые числа для атропина, скополамина или кокаина (табл. 48).

Полученные значения волновых чисел должны соответствовать стандартным образцам

Высокоэффективная жидкостная хроматография. Остаток после испарения хлороформного экстракта растворяют в подвижной фазе и вводят в хроматограф. Анализ проводят по методике, описанной в разделе 8.3. Обнаружение атропина, кокаина и бензоилэкгоина проводят по времени удерживания (объему удерживания) и по спектральным отношениям при нескольких длинах волн (табл. 49)

Полученные результаты сравнивают с данными по атласам ВЭЖХ-спектров и при совпадении параметров удерживания делают вывод об обнаружении определенного соединения

Газожидкостная хроматография. Для обнаружения производных тропана и экгоина предложена методика, описанная С.К.Ереминым при ГЖХ-скрининге веществ кислотного, нейтрального и слабоосновного характера из мочи (3% SE-30 на хромосорбе W-HP-80–100 меш). Идентификацию веществ ведут по времени удерживания или по индексам удерживания. В приведенных автором условиях индекс удерживания для атропина – 2173, для кокаина – 2175. Полученные при анализе исследуемого объекта результаты должны совпадать с индексами удерживания в соответствии с приложением к данному хроматографу.

УФ-спектрофотометрия. Проводится после очистки извлечений (чаще всего с помощью ТСХ, раздел 6.4) Исследуемые вещества элюируют с пластинки с помощью 0,1 М раствора серной кислоты. В УФ-спектре в области 200–320 нм обнаруживают следующие максимумы светопоглощения: для атропина – 252, 258, 264 нм; для скополамина – 251, 257, 263 нм; для кокаина – 233, 275 нм.

Хроматомасс-спектральный анализ. Обнаружение проводится по времени удерживания и характеристическим ионам для каждого соединения. Время удерживания может колебаться в зависимости от условий опыта, поэтому перед каждым анализом проводят исследование растворов стандартных веществ. Например, по методикам и на оборудовании фирмы «Хьюлетт Паккард» для кокаина характеристические ионы при ГХ/МС 303, 272, 181 m/z. При анализе волос и ногтей данным методом можно надежно выявить кокаин на уровне 0,5 нг/мг.

Фармакологические пробы на животных. Атропин, скополамин и кокаин способны расширить зрачок при закалывании в глаз животных. Извлечение из объекта, после

очистки и переведения оснований алкалоидов в соли, закапывают в один глаз кошки (второй глаз является контрольным) Через 20–60 мин наблюдают расширение зрачка, особенно при ярком освещении (см. раздел 7.2.6, рис. 21). Это исследование имеет подтверждающее значение.

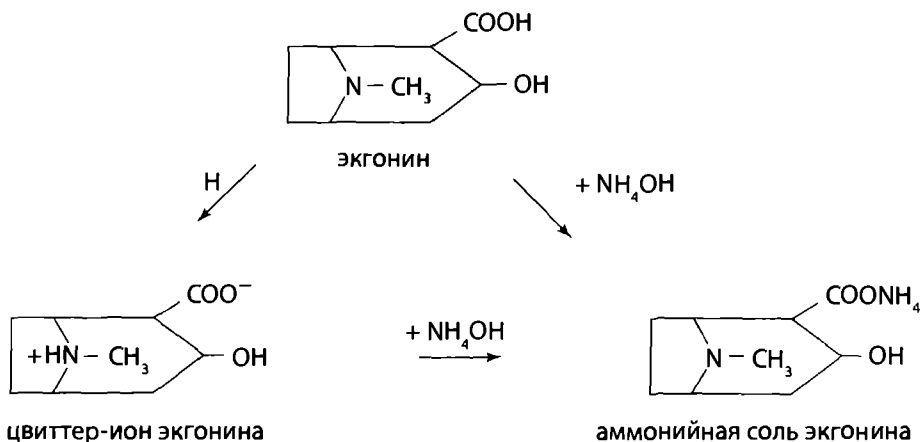
Анализ изъятых частей растений из содержимого желудка. При обнаружении в содержимом желудка частей растений (корешки, частички листьев, стеблей) их исследуют методом фармакогностического анализа с использованием микроскопии по соответствующим методикам. Под микроскопом обнаруживают характерные признаки для каждого вида растений, содержащих тропановые алкалоиды (как пример – см. раздел 7.2.7, рис. 26). Этот вид анализа для данной группы соединений является подтверждающим при построении заключения об обнаружении в исследуемом объекте производных тропана.

Анализ трупного материала на кокаин

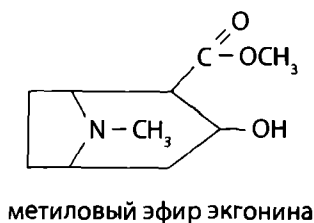
Кокаин можно обнаружить в трупном материале только при приеме значительных количеств вещества и в том случае, когда исследование проводится вскоре после смерти. По данным некоторых авторов, им удавалось обнаружить кокаин спустя 14 дней (но не более) после гибели организма. Это связано с тем, что кокаин в организме легко гидролизуется. В результате гидролиза образуется бензоилэргонин, который под влиянием ферментов печени переходит в экгонин и бензойную кислоту.

При изолировании алкалоидов объекты подкисляют щавелевой или серной кислотами до $\text{pH}=2-3$. В этих условиях экгонин существует в форме цвиттер-иона. Последующее подщелачивание на второй фазе изолирования раствором аммиака перед экстракцией хлороформом до $\text{pH}=8-10$ приводит к образованию аммонийной соли по карбоксильной группе.

Соли экгонина нерастворимы в хлороформе, поэтому в процессе экстракции они не извлекаются ни при $\text{pH}=2-3$, ни при $\text{pH}=8-10$. Это позволяет отделить алкалоид от продуктов деструкции.



Для **изолирования** экгонина перед проведением экстракции его переводят в метиловый эфир, экстрагируют его хлороформом и проводят исследование.



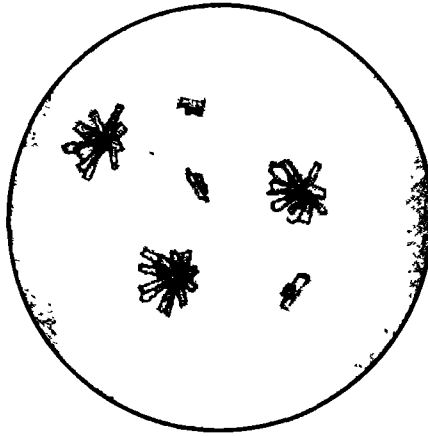


Рис. 65. Кристаллы метилового эфира экгонина с фосфорно-молибденовой кислотой.

Для обнаружения экгонина используют микрокристаллическую реакцию.

Реакция с фосфорно-молибденовой кислотой. При добавлении к остатку, полученному после испарения хлороформного экстракта, раствора фосфорно-молибденовой кислоты $H_7 [P (Mo_2O_7)_6] \cdot nH_2O$ образуются сферические сростки из желто-зеленых призматических кристаллов (рис. 65).

Предел обнаружения – 0,05 мг экгонина в исследуемой пробе.

Количественное определение

Для количественного определения атропина, скополамина и кокаина используют ВЭЖХ, ГЖХ, ГХ/МС. При больших количествах может быть использован один из фотометрических методов.

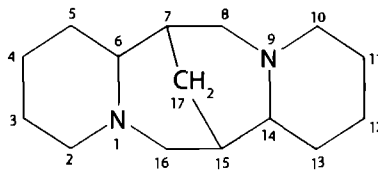
Метод ВЭЖХ проводится в условиях, описанных ранее. Используют метод добавок, методы внутреннего и внешнего стандарта. В качестве внутреннего стандарта применяют их изомеры или гомологи. Расчет концентрации атропина, кокаина проводят по формулам, приведенным в разделе 8.1.

Метод ГЖХ проводится в условиях, описанных ранее в разделе 7.1.6.1. Расчет концентрации атропина, скополамина или кокаина проводят по высоте или площади полученных пиков на хроматограмме исследуемого вещества и внутреннего стандарта с использованием калибровочных графиков.

Метод ГХ/МС. В качестве внутренних стандартов используют аналоги, меченные изотопами, и расчеты ведут по отношению m/z анализируемого вещества к m/z стандарта по калибровочным графикам.

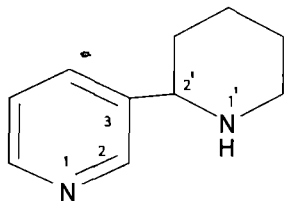
8.11. Производные пиридина и пиперидина

В этой группе веществ, имеющих токсикологическое значение, наряду с двумя лекарственными веществами, будет рассмотрен природный алкалоид никотин, который не имеет особого медицинского значения. Формулы веществ приведены ниже.

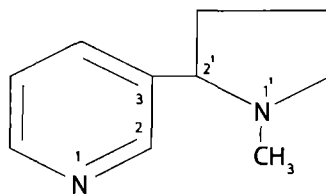


пахикарпин

Пахикарпин является правовращающим изомером, $[\lambda]_D = +17^\circ$.



3-(2'-пиперидил)-пиридин
(анабазин)



3-(N-метил-2'-пирролидил)-пиридин
(никотин)

Медицинское применение

Анабазин применяется в виде гидрохлорида. В малых дозах анабазина гидрохлорид предложен в качестве средства, облегчающего отвыкание от курения. Выпускается в таблетках по 0,003 г, которые рекомендуют принимать по одной таблетке 8 раз в день.

Пахикарпин применяют в виде гидрохлорида, главным образом при спазмах периферических сосудов. Одной из важных особенностей пахикарпина является его способность повышать тонус и усиливать сокращение мускулатуры матки. При облитерирующем эндартериите применяют по 0,05–0,1 г 2–3 раза в день. В случае применения пахикарпина для стимулирования родовой деятельности применяют внутримышечно или подкожно по 2–4 мл 3% раствора. Выпускают в таблетках по 0,1 г и 3% раствор в ампулах по 2 мл.

Никотин в медицинской практике не используется, но иногда находит применение в сельском хозяйстве в виде различных препаратов.

Токсикологическое значение

Раствор **анабазина сульфата** (40%) используют для опрыскивания растений (виноградники, лесные, плодово-ягодные, овощные, бобовые культуры), а также для борьбы с вшивостью и стригучим лишаем у животных. Анабазин способен сохранять токсическое действие длительное время (до 16 лет).

Анабазин токсичен для теплокровных животных и человека. Он относится к соединениям н-холинимиметического действия. Он поражает центральную и вегетативную нервную системы, сначала возбуждает, затем парализует. При попадании анабазина *per os* возникают головные боли, одышка, понос, желтуха, выпадение волос, тахикардия, расстройство слуха. Затем – потеря сознания, судороги и остановка дыхания. Известны случаи смертельного отравления анабазином при всасывании его через неповрежденную кожу. Патологоанатомическая картина отравления анабазином нехарактерна.

Пахикарпин – алкалоид, содержащийся в софоре толстоплодной (*Sophora raphusarpa*). Пахикарпин легко всасывается из кишечника. В токсических дозах блокирует передачу импульсов в вегетативных узлах и нервно-мышечную передачу на уровне синапсов поперечно-полосатой мускулатуры. Признаки отравления проявляются через 0,5–3 ч: слабость, головокружение, тошнота, рвота, боли в нижней части живота, помрачение сознания, похолодание рук и ног, ортостатический коллапс, тахикардия, клонико-тонические судороги, остановка дыхания и сердечной деятельности. Смерть наступает через 2–10 ч. Смертельная доза – 1–2 г. Известны случаи использования пахикарпина при проведении криминальных абортов.

Патолого-морфологическая картина неспецифична. На вскрытии обнаруживают неравномерное полнокровие внутренних органов, признаки асфиксии, дистрофические изменения в миокарде, печени, почках.

Никотин – алкалоид, содержащийся в листьях табака (*Nicotiana tabacum*). В различных сортах табака никотин содержится в количестве от 0,3 до 7%.

Никотин стимулирует центральные и периферические н-холинреактивные системы организма. При курении быстро всасывается и оказывает ряд н-холинстимулирующих эффектов, способствующих привыканию к курению табака. Табакокурение человечеству известно давно. В России оно получило распространение в конце XVII – начале XVIII века. В настоящее время сотни миллионов людей подвержены этому виду токсикомании. В табачном дыме содержится до 2% оксида углерода(II), пиридин, производные фенола, а также канцерогенные соединения и смолы. Число больных с раковыми и предраковыми состояниями среди курильщиков в 20 раз больше по сравнению с остальным населением. В среднем количество никотина в папиросе – 4–7 мг. В дыхательные пути попадает 2–3 мг и всасывается при курении ~1 мг никотина, который оказывает заметное пагубное воздействие на центральную нервную, периферическую системы и сосуды сердца. Мотивом к началу курения у подростков является подражание. Обычно первые затяжки сопровождаются неприятными ощущениями, исчезновение которых считают началом никотиновой токсикомании. Очень быстро у курящих возникает толерантность и курение доходит до 1–2 пачек сигарет в день. Отмечено появление психической зависимости, физическая зависимость выражена слабо. Абстинентный синдром сопровождается нарушением сна, изменением настроения с преобладанием вспыльчивости, раздражительности, потливости, тахикардией, кашлем. Явления абстиненции проходят в течение 3–7 дней, а психическая зависимость сохраняется долгое время (несколько месяцев).

При длительном воздействии никотина курильщики испытывают неприятные ощущения в области сердца, боли в надчревной области. У них возникает бронхит, склонность к простудным заболеваниям, повышается предрасположенность к раку легких, развитию склероза сосудов сердца, головного мозга, инфаркта миокарда. За счет попадания слюны со следами никотина в желудок возникают изжога, гастриты, язвы, боли. Все это значительно сокращает продолжительность жизни.

В 1970 г. ВОЗ обратилась к национальным органам здравоохранения с призывом более активно вести борьбу с табакокурением. Это обращение поддержали большинство государств, в том числе и Россия. Во многих странах реклама табачных изделий и курение в общественных местах запрещены, на пачках с сигаретами указывают вредные последствия курения. В результате таких мер в мире значительно снизилось число курящих.

Никотин в виде основания хорошо всасывается через слизистые оболочки и кожу. Он является одним из самых ядовитых растительных алкалоидов. Смертельные исходы возможны при попадании в организм для взрослых около 40–50 мг, для детей – 10 мг. При приеме токсических доз внутрь отмечают головокружение, головную боль, расстройство зрения и слуха, бледность лица, расширение зрачков, онемение кожных покровов, зуд кожи, повторную рвоту, понос, тахикардию, подергивание мышечных групп, переходящее в клонико-тонические судороги. Смерть наступает быстро, сердце останавливается в диастоле. На посмертном обследовании обнаруживают явления асфиксии, расширенные зрачки, цианоз лица и слизистых, признаки спазма бронхов. Никотин в органах сохраняется довольно долго. Хронические отравления отмечены на предприятиях при вдыхании воздуха, содержащего табачную и махорочную пыль при производстве и сушке табака.

Пути метаболизма

Из препаратов группы пиридина и пиперидина пути метаболизма приводятся на примере никотина.

В I фазе метаболизма никотин подвергается метилированию (атом азота в положении 1 пиридинового кольца), деметилированию у атома азота пироллидинового кольца (положение 1'), окислению до котинина и с разрывом пироллидинового кольца и образованием карбоксильной группы.

Во II фазе метаболизма продуктов окисления образуются конъюгаты с глюкуроновой кислотой.

(см. раздел 7.1.2) никотин, анабазин и пахикарпин обнаруживаются на хроматографических пластинках в виде оранжевых пятен при обработке реактивом Драгендорфа.

С *общеалкалоидными, осадительными реактивами* алкалоиды, производные пиридина и пиперидина образуют аморфные или кристаллические осадки.

При проведении *аналитического скрининга* используют реакции с ванилином или пероксидом водорода.

Реакция с ванилином. К раствору остатка, после испарения хлороформного экстракта из щелочного раствора, добавляют кристаллик ванилина и 1–2 капли концентрированной хлороводородной кислоты. При наличии в остатке анабазина или никотина наблюдают появление красной или вишнево-красной окраски.

Реакция с пероксидом водорода. К раствору остатка, после испарения хлороформного экстракта, добавляют 1 мл пероксида водорода и 2–3 капли концентрированной серной кислоты. При наличии в остатке анабазина или никотина появляется красное или шоколадно-коричневое окрашивание.

Для обнаружения индивидуальных веществ используют хроматографию в тонком слое сорбента, микрокристаллоскопические и цветные реакции, УФ-спектрофотометрию и фармакологические испытания.

Обнаружение анабазина и никотина

Реакция с реактивом Драгендорфа. На предметное стекло наносят несколько капель хлороформного экстракта из объекта и выпаривают досуха. К сухому остатку прибавляют каплю 0,1 М раствора хлороводородной кислоты и каплю реактива Драгендорфа. Предметное стекло выдерживают во влажной камере в течение 20–30 мин. Появляется осадок оранжевого цвета и под микроскопом (рис. 66) сростки, состоящие из оранжево-красных кристаллов с остроконечными концами (анабазин) или сростки кристаллов, напоминающих по виду летящих птиц, букву К или Х (никотин).

Эту реакцию некоторые авторы предлагают выполнять, используя летучесть никотина (Ю.А.Горный). Остаток после удаления хлороформного экстракта из щелочного раствора переносят в тигель и закрывают стеклом с висючей каплей реактива Драгендорфа. Тигель подогревают. Основание никотина за счет летучести взаимодействует с реактивом Драгендорфа. Наблюдают кристаллы в виде сростков, напоминающих букву Х или летящих птиц (рис. 66А).

Кристаллы с реактивом Драгендорфа образуют другие азотсодержащие вещества. Йодвисмутат анабазина отличается по форме от кристаллов других веществ. Предел обнаружения анабазина по реакции с реактивом Драгендорфа – 1 мкг препарата в исследуемой пробе.

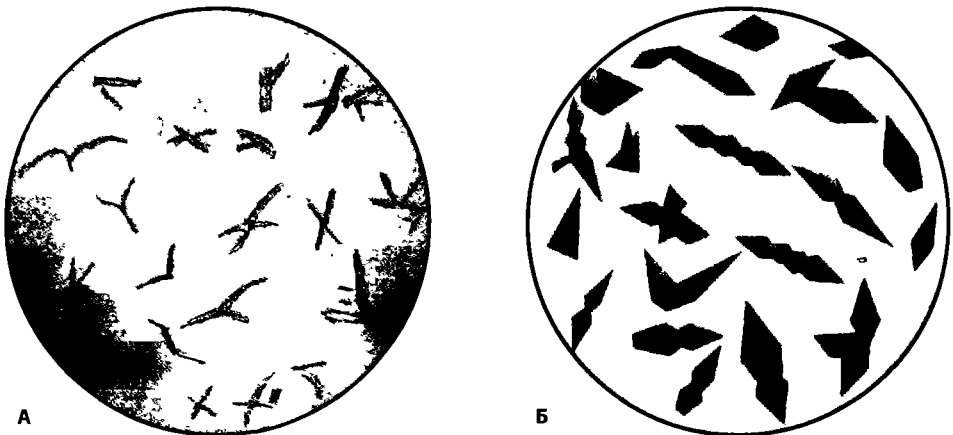


Рис. 66. Кристаллы никотина (А) и анабазина (Б) с реактивом Драгендорфа.

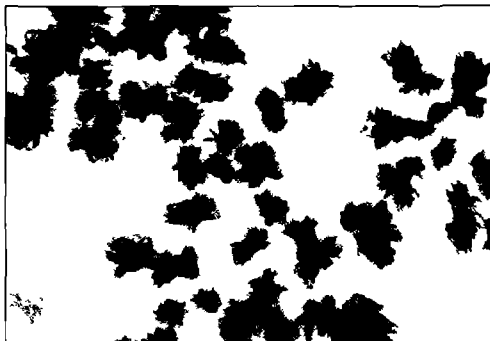


Рис. 67. Кристаллы никотина с солью Рейнеке

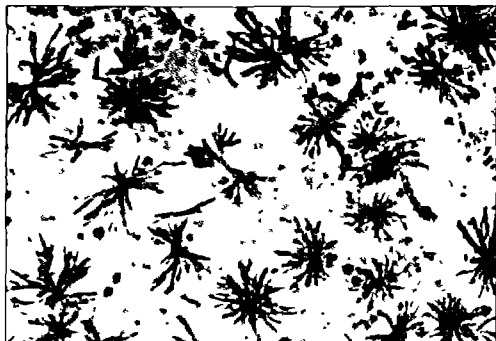


Рис. 68. Кристаллы анабазина с золотохлороводородной кислотой.



Рис. 69. Кристаллы никотина с пикриновой кислотой



Рис. 70. Кристаллы пахикарпина с раствором иода в йодиде калия (реактив Бушарда).

Реакция с солью Рейнеке. На предметное стекло наносят часть хлороформного экстракта из объекта и испаряют досуха. К сухому остатку добавляют каплю 0,1 М раствора хлороводородной кислоты и каплю 1% раствора соли Рейнеке. Через несколько минут под микроскопом наблюдают сростки, состоящие из мелких игольчатых кристаллов (анабазин) или сростков призматических кристаллов (никотин, рис. 67). Реакция неспецифична.

Реакция с золотохлороводородной кислотой на анабазин. На предметном стекле испаряют несколько капель хлороформного экстракта из объекта, остаток растворяют в капле 0,1 М раствора хлороводородной кислоты и прибавляют каплю золотохлороводородной кислоты. Через несколько минут наблюдают образование призматических кристаллов, собранных в сростки (рис. 68).

Реакция с пикриновой кислотой. К нескольким каплям раствора остатка после испарения хлороформного экстракта прибавляют 2 капли насыщенного раствора пикриновой кислоты. Наблюдают образование желтого кристаллического осадка (анабазин) и сростки кристаллов из тонких игл (никотин) (рис. 69). Реакция неспецифична.

Хроматография никотина и анабазина в тонком слое сорбента. Для обнаружения анабазина и никотина с помощью ТСХ рекомендованы Е.А. Грязновой пластинки со слоем силикагеля, импрегнированного 0,5 М раствором гидроксидов калия и система растворителей хлороформ – этанол (9:1). На пластинку наносят извлечение из объекта и растворы стандартных веществ (анабазина и никотина). После проявления в системе растворителей и высушивания пятна на пластинке обнаруживают путем опрыскивания реактивом Драгендорфа. Цвет пятен и значения величин R_f (для анабазина $0,58 \pm 0,02$, для никотина $0,76 \pm 0,02$) должны совпадать с таковыми «стандартов».

УФ-спектрофотометрия для обнаружения анабазина и никотина. Методика обнаружения предложена Е.А. Грязновой. Для очистки извлечений рекомендуется исполь-

Элюировать ТСХ. Анабазин и никотин с пластинок элюируют дважды хлороформом и затем проводят рекстракцию оснований алкалоидов из элюатов 0,5 М раствором хлороводородной кислоты. Такой вариант очистки извлечений позволяет получить достаточно чистые рекстракты (фоновое поглощение составляло 0,03–0,05) и четко обнаружить хорошо выраженные максимумы светопоглощения при 256 нм (анабазин) и 260 нм (никотин).

Фармакологическое испытание на никотин. На спинку лягушки наносят очищенное с помощью ТСХ извлечение из объекта. Лягушка через 30–60 мин принимает характерную позу (см. раздел 7.2.6, рис. 22). Используется как подтверждающая проба.

Обнаружение пахикарпина

Реакция с реактивом Бушарда. На предметное стекло наносят несколько капель хлороформного экстракта из раствора с $\text{pH}=8-10$ и выпаривают досуха. Сухой остаток растворяют в 1–2 каплях 0,1 М раствора хлороводородной кислоты и добавляют 1–2 капли реактива Бушарда. Через 5–10 мин под микроскопом наблюдают сростки из золотисто-зеленых кристаллов (см. рис. 70).

Реакция с тиоцианатом кобальта. На предметное стекло наносят несколько капель хлороформного экстракта из раствора с $\text{pH}=8-10$ и выпаривают досуха. К сухому остатку добавляют 1–2 капли 0,1 М раствора хлороводородной кислоты и 1–2 капли реактива – тиоцианата кобальта. Через несколько минут наблюдают образование голубых кристаллов в виде дендритов (рис. 71).

Предел обнаружения составляет 1,5 мкг пахикарпина в исследуемой пробе.

Реакция с меднойодидной комплексной солью. При добавлении к сухому остатку раствора реактива образуются крупные пучки из желтых кристаллов.

Предел обнаружения – около 25 мкг пахикарпина в исследуемой пробе.

Реакция с пикриновой кислотой. При нанесении на сухой остаток, после испарения хлороформного экстракта из раствора с $\text{pH}=8-10$, капли 0,5% раствора пикриновой кислоты при наличии пахикарпина образуются сростки и призмы желто-зеленого цвета.

Открываемый минимум – 5 мкг пахикарпина в исследуемой пробе.

Реакция с золотохлороводородной кислотой и бромидом калия. К остатку на предметном стекле добавляют каплю реактива, состоящего из 5% раствора золотохлороводородной кислоты (HAuCl_4), концентрированной хлороводородной кислоты и ацетона (1:1:1) и 3–4 кристаллика бромида калия. При наличии пахикарпина наблюдают образование красного осадка, состоящего из кристаллических сростков (рис. 72).

Предел обнаружения составляет 20 мкг пахикарпина в исследуемой пробе.

Хроматография в тонком слое сорбента. На хроматографическую пластинку со слоем силикагеля КСК наносят часть хлороформного экстракта и «стандарт» – раствор пахикарпина. Пластинку помещают в систему растворителей хлороформ – диэтиламин



Рис. 71. Кристаллы пахикарпина с тиоцианатом кобальта.



Рис. 72. Кристаллы пахикарпина с золотохлороводородной кислотой и бромистым калием.

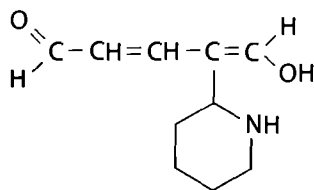
в соотношении 9:1. Пахикарпин на пластинке обнаруживают в виде оранжевого пятна после обработки реактивом Драгендорфа. Значение R_f пятен из экстракта и «стандарта» должны совпадать (0,74±0,02).

Количественное определение

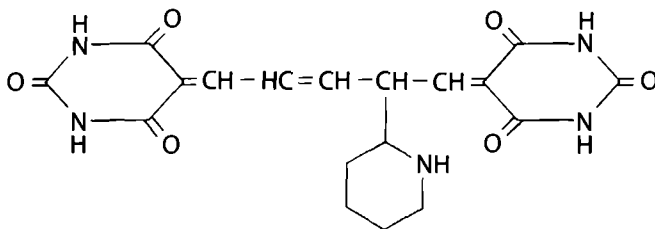
Для количественного определения анабазина, никотина, пахикарпина предложены ВЭЖХ, фотоколориметрический и экстракционно-фотоколориметрический методы.

Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии. Определение никотина и анабазина проводят после очистки извлечений, используя методы добавок, внутреннего и внешнего стандарта. Расчет количества алкалоидов в извлечении ведут по соответствующим формулам (см. раздел 8.1).

Фотоэлектроколориметрический метод определения анабазина. Часть хлороформного экстракта насыщают газообразным хлороводородом и выпаривают досуха. Сухой остаток растворяют в 1 мл воды, прибавляют 2 мл 1% раствора цианида калия (яд!) и 5 мл 1% водного раствора хлорамина Б. При этом образуется производное глутаминового альдегида.



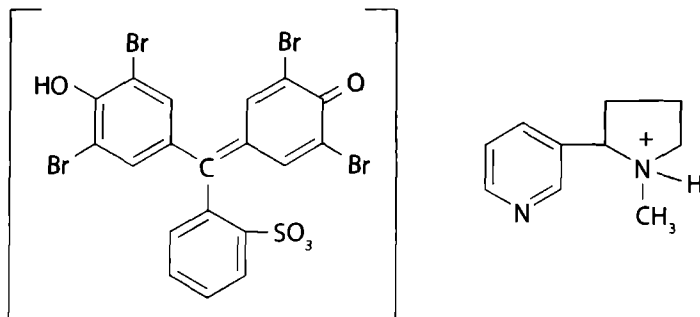
Жидкость взбалтывают и через 5 мин прибавляют 10 мл 0,5% водного раствора барбитуровой кислоты. Образуется краситель, имеющий желто-оранжевую окраску.



Оптическую плотность окрашенного раствора определяют с помощью ФЭК-М с зеленым светофильтром в кювете 10 мм. Расчет количества анабазина проводят по калибровочному графику

Экстракционно-фотоколориметрический метод определения никотина и анабазина (предложен Е.А.Грязновой). Остаток после испарения хлороформного экстракта из щелочного раствора растворяют в 9 мл универсального буферного раствора с рН=3,5, добавляют 5 мл 0,1% раствора бромфенолового синего и 10 мл хлороформа. Взбалтывают 3 раза, добавляя каждый раз по 10 мл хлороформа. Хлороформные экстракты, окрашенные в желтый цвет, объединяют и общий объем доводят хлороформом до 50 мл. Оптическую плотность измеряют с помощью фотоэлектроколориметра в кювете с толщиной слоя 10 мм с фиолетовым светофильтром. Расчет концентрации анабазина и никотина проводят по калибровочному графику.

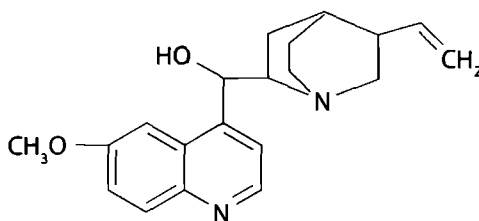
Образующийся в реакции комплекс никотина (анабазина) с бромфеноловым синим можно представить следующей формулой:



ионный ассоциат бромфенолового синего и никотина

8.12. Производные хинолина

Основным веществом из группы производных хинолина, имеющим токсикологическое значение, является хинин.



3-винилхиноклидил(5)-6'-метоксихинолил (4')

Источником получения алкалоидов производных хинолина является кора хинного дерева (виды *Cinchona*, семейство *Rubiaceae*), содержащая около 25 алкалоидов. Хинное дерево произрастает в Южной Америке и культивируется на острове Ява. Хинная кора используется как противомаларийное средство с начала XVII века. Основным алкалоидом хинной коры является хинин.

В медицинской практике находят применение соли хинина: хинина гидрохлорид, хинина дигидрохлорид, хинина сульфат. Эти соли содержат 72–82% хинина основания. Препараты хинина назначают как противомаларийные средства в дозе 1,0–2,0 г в сутки (хинина сульфат и хинина гидрохлорид) и по 1–2 мл 25–50% раствора хинина дигидрохлорида парентерально.

Токсикологическое значение. При попадании в организм хинин вызывает изменение состояния ЦНС и сердечно-сосудистой системы, мускулатуры матки. Соли хинина быстро всасываются из ЖКТ, выводятся с мочой и частично с калом.

Токсическое действие хинина проявляется в сильной головной боли, шуме в ушах, поносе, кожных высыпаниях, расстройстве слуха и зрения вплоть до полной слепоты за счет токсического действия на зрительный нерв. Вследствие перегрузки печеночных клеток желчным пигментом (непрямой билирубин), хинин вызывает гемолитический криз и желтуху, особенно у лиц с наследственной недостаточностью глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в эритроцитах. Хинин обладает кардиотоксическим действием в дозе 2 г и более. Он вызывает замедление проводимости, экстрасистолию и коллаптоидное состояние.

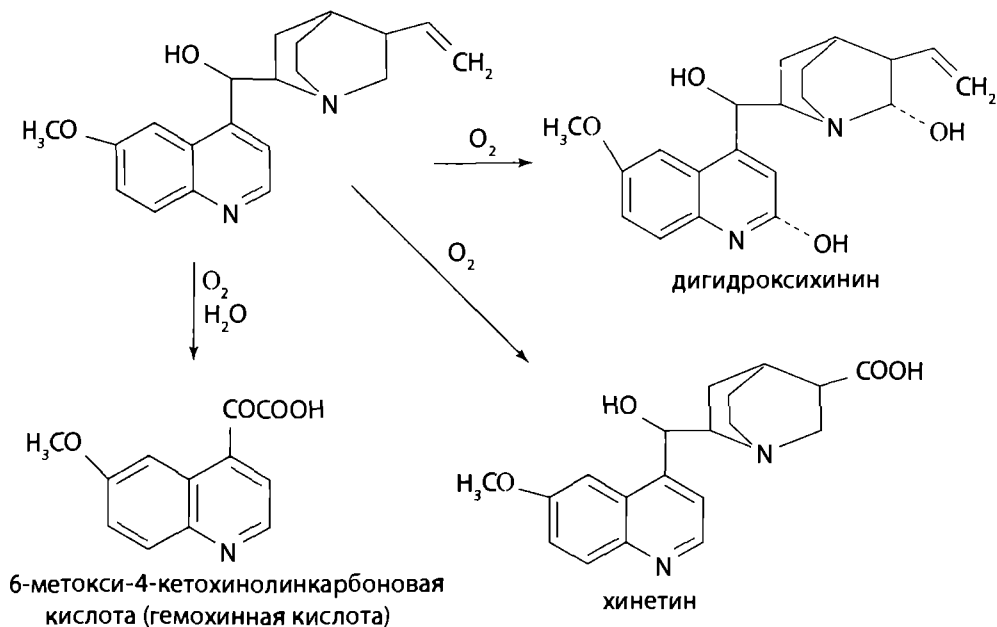
Хинин стимулирует сокращение матки. В количестве 4–6 г и более он использовался для криминального прерывания беременности.

При остром отравлении хинином появляются симптомы расстройства функции желудочно-кишечного тракта, нарушение зрения, поражение сердечно-сосудистой системы. Смерть наступает за счет кардиотоксического действия или угнетения дыхания.

Патологоморфологическая картина при отравлении хинином неспецифична. Обычно отмечают признаки острой смерти с асфиксическими проявлениями, отек и набухание головного мозга, отек легких.

Пути метаболизма хинина

В первой фазе метаболизма проходят реакции окисления и гидроксирования. Во второй фазе образуются глюкурониды с продуктами окисления хинина за счет карбоксильных групп (хинетин и гемохинная кислота) и гидроксильных групп.



Объекты анализа:

- желудок, тонкий кишечник с содержимым;
- печень, почки;
- кровь, моча.

Физико-химические свойства. Основание хинина – это белый кристаллический порошок, горького вкуса, растворимый в этиловом спирте, хлороформе, диэтиловом эфире, малорастворим в воде. Соли хинина (сульфаты, хлориды) растворимы в этиловом спирте, хлороформе, воде, слабо в эфире.

Изолирование и анализ. Как вещество основного характера хинин экстрагируется хлороформом из растворов с $\text{pH}=10\text{--}12$.

При проведении *ГЖХ-скрининга* лекарственных и одурманивающих веществ в моче хинин обнаруживают по индексу удерживания, который в предлагаемых условиях (см. раздел 7.1.6.1) составляет 2809.

При проведении *ТСХ-скрининга* хинин обнаруживается на хроматографической пластинке в виде светящихся пятен голубого цвета при обработке раствором серной кислоты и облучении УФ-лучами (см. раздел 7.1.2).

Таблица 50

Хроматографические характеристики хинина

Объем удерживания, мкл	Спектральные отношения S_{λ}/S_{210}						
	220	230	240	250	260	280	300
1343	0,600	0,391	0,591	0,944	0,332	0,046	0,095

При испытании с помощью *общееалкалоидных, осадительных реактивов* хинин образует аморфные осадки со многими из них

Для обнаружения хинина используют хроматографию в тонком слое сорбента, ВЭЖХ, ИК-спектроскопию, УФ-спектрофотометрию, химические реакции с образованием окрашенных соединений и микрокристаллоскопический метод.

Хроматография в тонком слое сорбента. Для обнаружения хинина с помощью ТСХ используют пластинки с закрепленным слоем силикагеля КСК, системы растворителей хлороформ – диоксан – ацетон – 25% раствор аммиака (45.47,5:5:2,5) или эфир – ацетон – 25% раствор аммиака (40:20:2). На линию старта хроматографической пластинки наносят несколько капель хлороформного экстракта из раствора с pH=10–12 и каплю раствора «стандарта» (0,01% раствор хинина в хлороформе). После того как система растворителей поднимется на высоту 10 см выше линии старта, пластинку вынимают, высушивают и опрыскивают 10% раствором серной кислоты. При просмотривании обработанной пластинки в УФ-лучах отмечают светящиеся голубым светом пятна. Затем пластинку обрабатывают реактивом Драгендорфа. Места светящихся пятен окрашиваются в оранжевый цвет.

R_f хинина в 1-й системе растворителей равно $0,25 \pm 0,01$, во 2-й системе – $0,39 \pm 0,01$. Цвет пятен и значения R_f должны быть одинаковыми у «стандарта» и извлечения из объекта

Высокоэффективная жидкостная хроматография. Экстракты из щелочных растворов очищают с помощью ТСХ и хинин элюируют, используя подвижную фазу. Обнаружение хинина в элюатах проводят по времени (объему) удерживания и по спектральным отношениям при нескольких длинах волн (табл. 50).

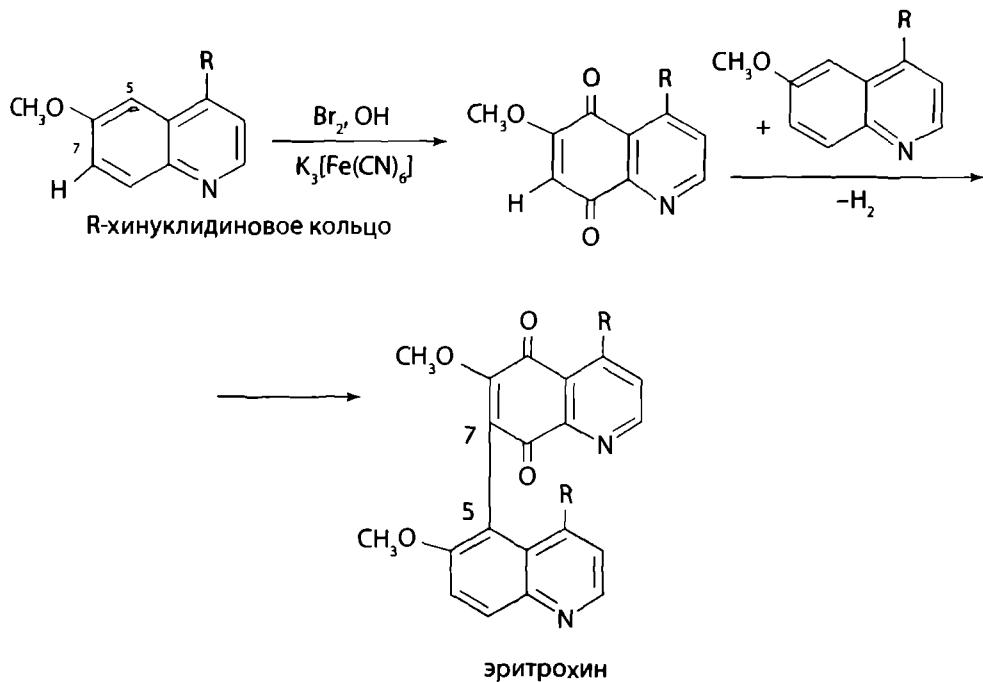
ИК-спектроскопия. После очистки извлечения из объекта и испарения экстракта остаток растирают с бромидом калия, прессуют и регистрируют ИК-спектр. В спектре обнаруживают характерные для основания хинина пики с волновыми числами 1235, 1510, 1030 и 1619 см^{-1} . Полученные значения должны совпадать с данными по анализу «стандарта» и с каталогом – атласом ИК-спектров для хинина.

УФ-спектрофотометрия. При наличии хинина в очищенном извлечении из объекта и при растворении его в этиловом спирте обнаруживают максимумы светопоглощения при 236, 278 и 332 нм, в 0,1 М растворе серной кислоты – при 250, 316 и 346 нм.

Реакция флуоресценции. Хлороформный экстракт из объекта выпаривают и остаток растворяют в 4–5 мл 0,1 М раствора серной кислоты. При облучении полученного раствора УФ-лучами наблюдают яркую голубую флуоресценцию, которая может менять цвет в зависимости от pH среды (см. раздел 7.2.4).

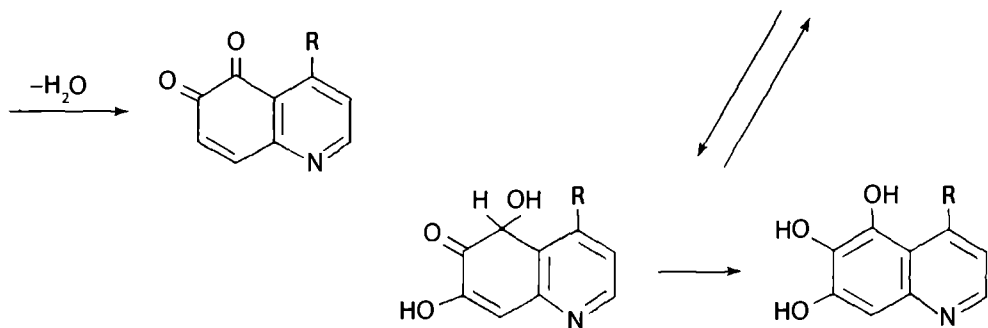
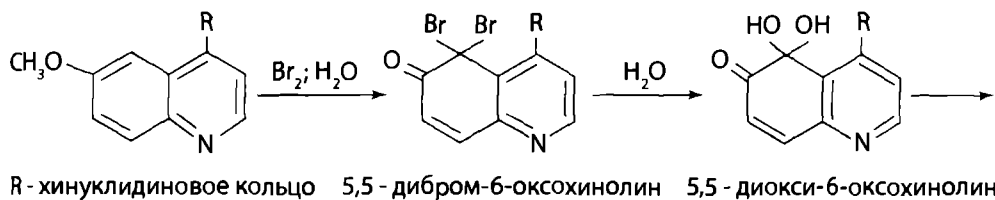
Реакция образования эритрохина. Часть хлороформного экстракта из раствора с pH=10–12 выпаривают досуха, прибавляют 1 мл воды очищенной, слабо подкисляют серной или уксусной кислотой, добавляют 1 каплю бромной воды и 1 каплю 10% гексацианоферрата(III) калия. После взбалтывания смесь подщелачивают 25% раствором аммиака – наблюдают розовое или красно-фиолетовое окрашивание

При действии бромной воды хинин окисляется до 5,8-хинолинхинона, который при взаимодействии с неокисленным хинином образует эритрохин через 5 и 7 углеродные атомы. Эта реакция в 10 раз чувствительнее талейохинной, однако окраска быстро исчезает.



Реакция образования талейохина. Для ее выполнения часть хлороформного экстракта из объекта выпаривают досуха, остаток растворяют в воде очищенной и добавляют по каплям бромную воду до слабого желтого окрашивания. При добавлении к смеси нескольких капель аммиака появляется ярко-зеленая окраска.

Вначале происходит окисление и галогенирование хинолинового кольца. При этом образуется 5,5-дибром-6-оксохинолинпроизводное, которое в дальнейшем подвергается гидратации, изомеризации. В результате получается оксооловый краситель зеленого цвета.



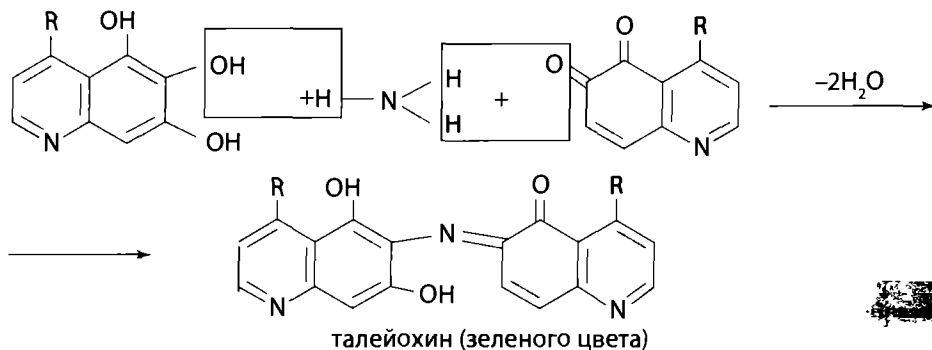


Рис. 73. Кристаллы хинина с тиоцианатом аммония

Реакция с тиоцианатом аммония. К сухому остатку после испарения хлороформного экстракта из раствора с $\text{pH}=10\text{--}12$ добавляют каплю реактива. Через несколько минут наблюдают образование крупных сростков и пучков из игольчатых кристаллов (рис. 73).

Количественное определение

Для количественного определения хинина в извлечениях из объекта используют ВЭЖХ и люминесцентный анализ.

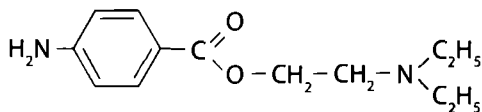
Высокоэффективная жидкостная хроматография. Определение ведут после очистки извлечений из объекта и используют метод добавок, метод внутреннего стандарта и метод внешнего стандарта. Расчет количества хинина в объекте ведут по соответствующим формулам (см. раздел 8.1).

Люминесцентный анализ. Используют способность хинина флуоресцировать при облучении его сернокислых растворов УФ-лучами при длине волны 254 нм. Часть очищенного хлороформного экстракта выпаривают досуха, очищают с помощью ТСХ и хинин с пластинки элюируют 10% раствором серной кислоты. Интенсивность флуоресценции определяют с помощью флуориметра. Расчет концентрации хинина в объекте проводят, используя калибровочный график.

Оба метода количественного определения хинина отличаются высокой чувствительностью.

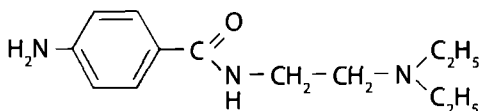
8.13. Производные *p*-аминобензойной кислоты

Производные *p*-аминобензойной кислоты составляют довольно большую группу лекарственных средств. Однако наиболее широкое применение в практике находят прокаи́н и прокаи́намид. Этим и определяется их токсикологическое значение.



прокаин (новокаин)
(основание)

β-диэтиламиноэтиловый эфир п-аминобензойной кислоты



прокаинамид (новокаинамид)
(основание)

β-диэтиламиноэтиламид п-аминобензойной кислоты

Прокаин относится к числу местноанестезирующих средств. Его применяют в медицинской практике для спинномозговой и инфильтрационной анестезии в виде 0,25–0,5% водных растворов.

Прокаинамид – антиаритмическое средство. Он способен оказывать местноанестезирующее действие. В медицинской практике прокаинамид применяется при расстройстве сердечного ритма по 0,5–1,0 г внутрь или в вену по 5–10 мл 10% водного раствора.

Токсикологическое значение

Отравления прокаином и прокаинамидом связаны с их медицинским применением (передозировка, аллергические реакции).

Прокаин в токсических дозах вызывает возбуждение, а затем паралич ЦНС. Клиническая картина характеризуется нервно-психическими нарушениями (психомоторное возбуждение, клонико-тонические судороги, паралич поперечно-полосатой мускулатуры, потеря сознания); сердечно-сосудистыми расстройствами (снижение артериального давления, вплоть до коллапса); изменениями дыхания (снижение частоты и амплитуды). Эти явления связаны с усилением центрального стимулирующего действия вещества, его угнетающего влияния на вазомоторные и бульбарные центры. Появляются кожные сыпи, головокружение, диспепсические явления.

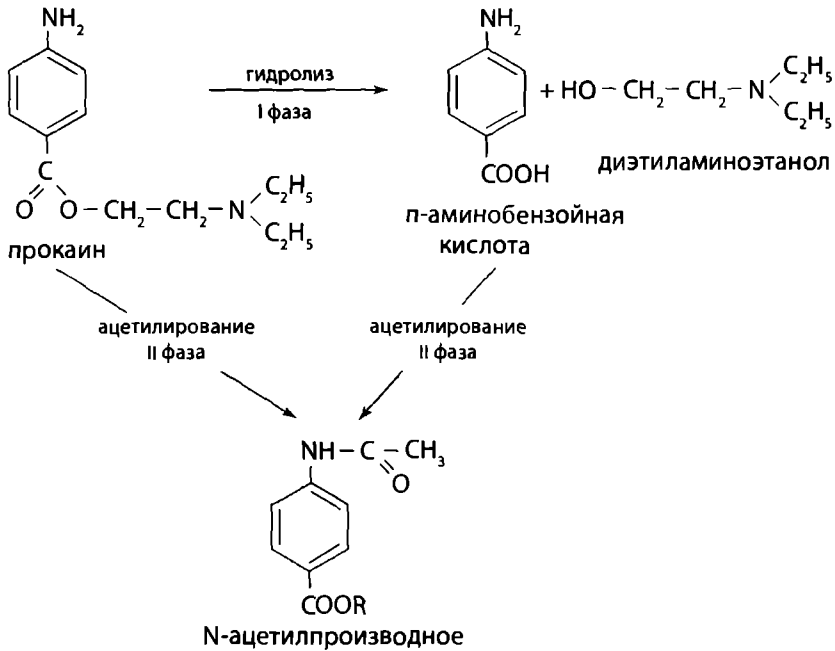
В метаболизме прокаина участвует фермент прокаинэстераза печени, при поражении которой время гидролиза увеличивается и возрастает токсичность прокаина.

Прокаинамид более стоек в организме, чем прокаин, и медленнее метаболизируется. При приеме больших доз прокаинамида возникает тошнота, рвота за счет раздражающего действия на слизистую оболочку желудка и двенадцатиперстной кишки, где обычно происходит полная резорбция вещества. Со стороны сердечно-сосудистой системы наблюдается снижение артериального давления. При аллергической реакции возникают кожные сыпи, отек кожи и слизистых оболочек, медимекаментозная лихорадка, явления бронхоспазма, психомоторное возбуждение.

Метаболизм производных п-аминобензойной кислоты

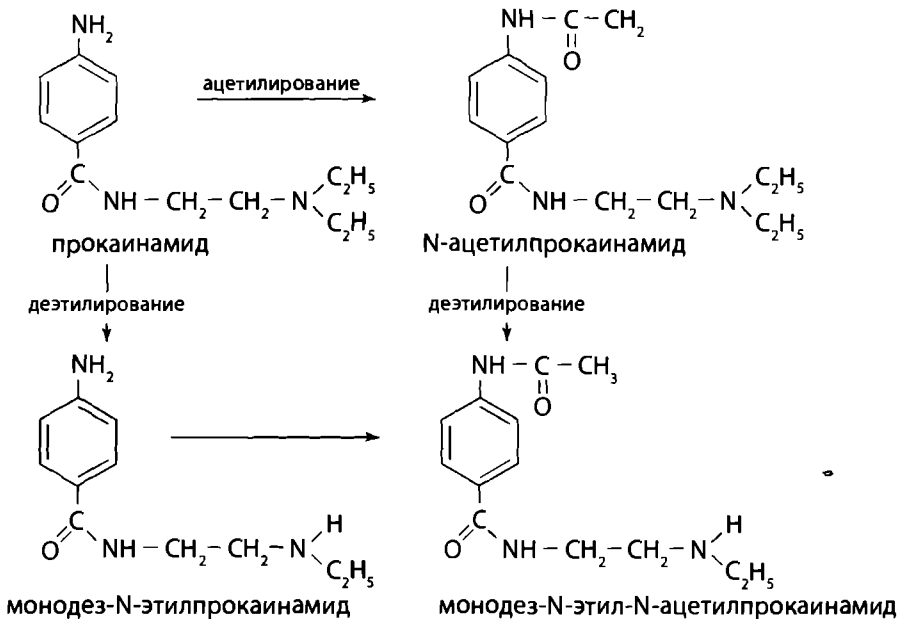
Прокаин в организме человека в I фазе метаболизма гидролизуется по эфирной группировке. В результате образуются п-аминобензойная кислота и диэтиламиноэтанол. Во II фазе метаболизма образуется конъюгат с уксусной кислотой по аминогруппе.

Прокаин



Прокаинамид

Прокаинамид в I фазе метаболизма в организме человека подвергается деэтированию у атома азота алкильного радикала. При этом отщепляется одна или две этильные группы. Во II фазе метаболизма прокаинамид и его деэтильные производные образуют конъюгаты с уксусной кислотой.



Объекты анализа: печень; почки; моча; кровь

Физико-химические свойства

Прокаин и прокаинамид выпускаются в виде гидрохлоридов. Прокаин – белый или бесцветный кристаллический порошок без запаха, горько-вяжущего вкуса. Прокаинамид – белый или белый с желтоватым или кремовым оттенком кристаллический порошок. Оба вещества хорошо растворимы в воде и спирте, в виде оснований растворимы в хлороформе и других органических растворителях.

Изолирование и определение

При изолировании из биологических объектов производные п-аминобензойной кислоты экстрагируются хлороформом из растворов с $\text{pH}=8-10$.

При проведении *ГЖХ-скрининга* прокаин обнаруживается по индексу удерживания, который равен 2022 (в условиях, описанных в разделе 7.1.6.1).

При проведении *ТСХ-скрининга* прокаин и прокаинамид на хроматографических пластинках образуют оранжевые пятна при обработке реактивом Драгендорфа (см. раздел 7.1.2).

При испытании с *общеалкалоидными, осадительными реактивами* прокаин и прокаинамид образуют осадки – аморфные и кристаллические.

Для обнаружения индивидуальных веществ используют ТСХ, ВЭЖХ, УФ-спектрофотометрию, ИК-спектроскопию, химические реакции, протекающие с образованием характерного окрашивания или определенной формы кристаллов.

Хроматография в тонком слое сорбента проводится в частной системе растворителей в присутствии «стандартов» – растворов прокаина и прокаинамида. Используют хроматографические пластинки с тонким слоем силикагеля и систему растворителей циклогексан – бензол – диэтиламин (75:15:10). Для обнаружения исследуемых веществ пластинку обрабатывают реактивом Драгендорфа (в модификации Мунье). Оба вещества проявляются в виде пятен оранжевого цвета. Значение R_f и цвет пятен в извлечениях из объекта и «стандартов» должны полностью совпадать.

Высокоэффективная жидкостная хроматография проводится после очистки с помощью ТСХ по общепринятой методике. Для анализа используют условия, описанные ранее для лекарственных и наркотических веществ (см. раздел 8.3). Идентифицируют вещества по времени (объему) удерживания и по спектральным отношениям при нескольких длинах волн (табл. 51).

УФ-спектрофотометрия. Очищенные остатки, после испарения хлороформного экстракта из щелочного раствора, растворяют в воде или 0,2 М растворе серной кислоты. Спектры поглощения растворов прокаина в воде имеют максимум при 290 нм, прокаинамида – при 278 нм; в 0,2 М растворе серной кислоты прокаина – при 228, 272 и 279 нм, прокаинамида – при 224 нм.

ИК-спектроскопия. Очищенный хлороформный экстракт испаряют до сухого остатка, растирают с бромидом калия, прессуют в диск, который используют для регистрации ИК-спектра. Прокаин обнаруживает пики с волновыми числами 1274, 1690 и 1605 см^{-1} .

Обнаружение прокаинамида по реакции с ванадатом аммония. К сухому остатку после испарения хлороформного экстракта из раствора с $\text{pH}=8-10$ добавляют 2–3 капли концентрированной серной кислоты и 0,01 г ванадата аммония. При нагревании смеси наблюдают вишнево-красное окрашивание при наличии в остатке прокаинамида.

Реакция прокаина с перманганатом калия. При добавлении к остатку, после испарения извлечения из объекта раствора перманганата калия, при наличии прокаина фиолетовая окраска исчезает.

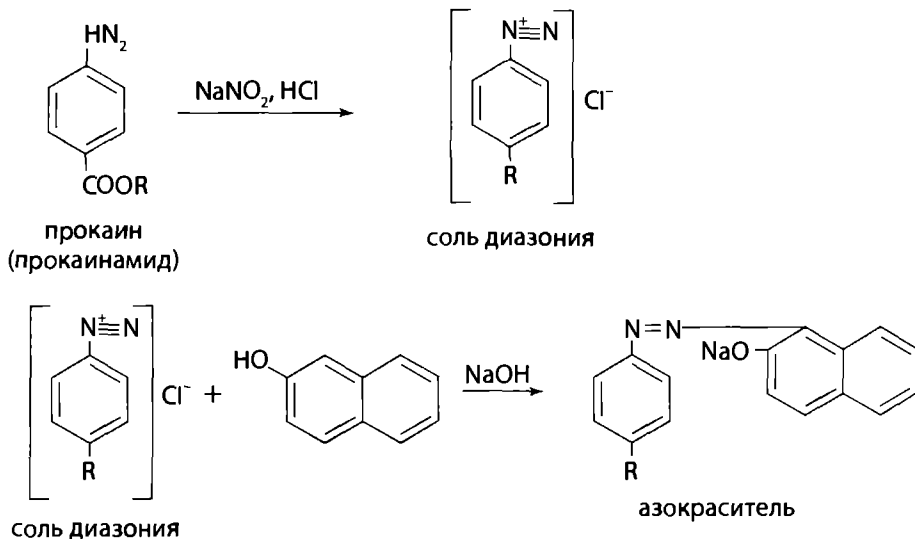
Таблица 51

Хроматографические характеристики прокаина и прокаинамида

Вещество	Объем удерживания, мкл	Спектральные отношения S_{λ}/S_{210}						
		220	230	240	250	260	280	300
Прокаин	1021	1,542	1,351	0,491	0,398	0,877	2,341	2,599
Прокаинамид	767	0,909	0,636	0,416	0,344	0,464	0,690	0,442

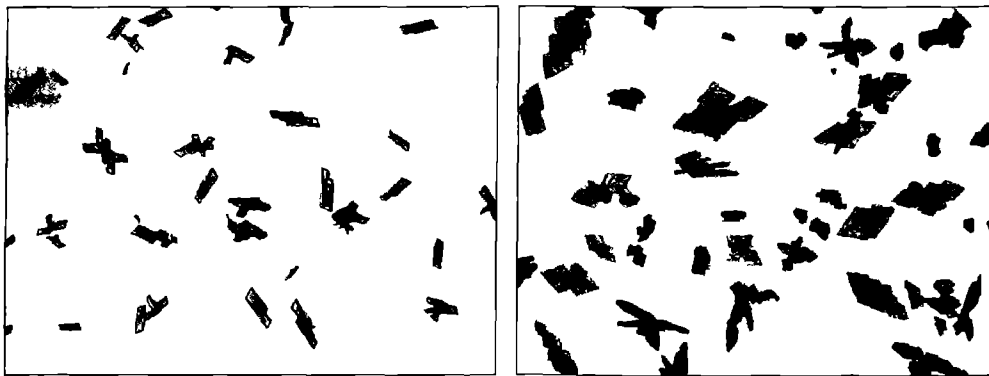
Обнаружение прокаина и прокаинамида по реакции образования азокрасителя.

Оба вещества содержат первичную ароматическую аминогруппу, за счет которой проходит реакция образования азокрасителя. К раствору остатка, после испарения хлороформного экстракта из щелочного раствора, добавляют 1% раствор хлороводородной кислоты, а затем по каплям прибавляют 1% раствор нитрита натрия до тех пор, пока не начнет окрашиваться в синий цвет йодкрахмальная бумажка. Через 5 мин жидкость подщелачивают 10% раствором гидроксида калия (натрия) до щелочной среды. К полученной смеси добавляют щелочной раствор β -нафтола. При наличии в извлечении прокаина или прокаинамида наблюдают образование красно-оранжевого окрашивания.



Реакция с реактивом Драгендорфа. При добавлении к сухому остатку капли 0,1 М раствора хлороводородной кислоты и капли реактива Драгендорфа образуется осадок, состоящий из характерных кристаллов. Прокаинамид образует кристаллы в виде прямоугольных пластинок светло-оранжевого цвета (рис. 74А), прокаин – сростки кристаллов оранжево-красного цвета (рис. 74Б).

Реакция прокаина с пикриновой кислотой. При добавлении к остатку капли 0,1 М раствора хлороводородной кислоты и 1–2 капель 0,5% раствора пикриновой кислоты при наличии в остатке прокаина образуются призматические кристаллы, которые при стоянии переходят в дендриты желто-зеленого цвета (рис. 75).



А

Б

Рис. 74. Кристаллы йодвисмутата прокаинамида (А) и прокаина (Б).

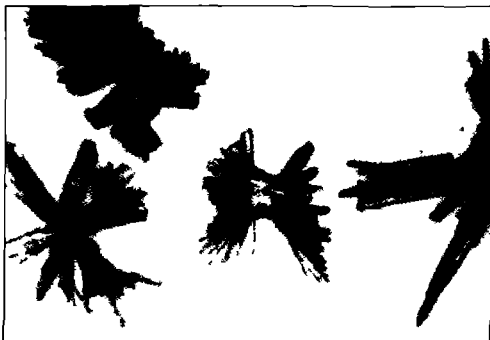


Рис. 75. Кристаллы прокаина с пикриновой кислотой

Рис. 76. Кристаллы прокаина со стифниновой кислотой

Реакция прокаина со стифниновой кислотой. При добавлении к сухому остатку капли 0,1 М раствора хлороводородной кислоты и 1–2 капель 5% раствора стифниновой кислоты при наличии в остатке прокаина через 15–20 мин образуются призматические кристаллы с точечным центром кристаллизации (рис. 76).

Количественное определение

Для количественного определения прокаина и прокаинамида в извлечениях из объектов предложены ВЭЖХ и фотоколориметрический метод.

Фотоэлектроколориметрический метод основан на реакции образования азокрасителя. Оптическую плотность измеряют с помощью фотоэлектроколориметра ФЭК-56 в кювете с толщиной слоя 10 мм при зеленом светофильтре. Раствор сравнения – смесь реактивов. Расчет количества прокаина и прокаинамида в извлечении и в объекте исследования проводят по калибровочному графику.

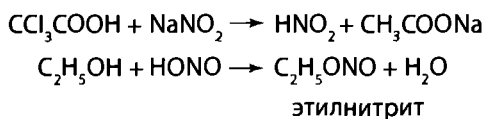
Высокоэффективная жидкостная хроматография. Анализ проводят после очистки извлечений из объекта исследования. Используют метод добавок, метод внутреннего или внешнего стандарта. Расчет концентрации прокаина и прокаинамида проводят по соответствующим формулам (см. раздел 8.1).

Глава 9. МЕТОДЫ ОБНАРУЖЕНИЯ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ «ЛЕТУЧИХ» ЯДОВ

К «летучим» ядам в токсикологической химии относят несколько групп химических соединений. Несмотря на различие в химическом строении, общим свойством является их летучесть при нагревании или способность перегоняться с водой. Способы изолирования «летучих» ядов были рассмотрены ранее. В данном разделе остановимся на способах их обнаружения и количественного определения. Учитывая летучесть данной группы соединений, наиболее приемлемым методом анализа является газожидкостный.

9.1. Обнаружение спиртов (C_1-C_5) с помощью газожидкостной хроматографии

В практике химико-токсикологического анализа стандартным и официально признанным методом определения спиртов является метод ГЖХ-анализа, основанный на дериватизации путем перевода их в более летучие соединения – алкилнитриты. Спирты непосредственно в исследуемом объекте (крови, моче) обрабатывают нитритом натрия в среде трихлоруксусной кислоты. Трихлоруксусная кислота осаждает белки крови, создает условия для образования эфиров (алкилнитритов). Химические реакции, происходящие при этом, можно представить на примере этанола следующим образом:



Методика: 0,5 мл исследуемой жидкости (крови, мочи) помещают в пенициллиновые флаконы, содержащие 0,5 мл 50% раствора трихлоруксусной кислоты, и энергично перемешивают. Флаконы фиксируют в специальном пенале, вносят в них с помощью медицинского шприца 0,35 мл 30% раствора нитрита натрия. Смесь встряхивают маятниковыми движениями и оставляют на 1 мин. Из каждого флакона путем прокола пробки отбирают 0,5 мл парогазовой фазы и вводят ее в дозатор хроматографа.

Условия анализа (по указаниям «Методического освидетельствования для установления факта употребления алкоголя и состояния опьянения»): газовый хроматограф ЛХМ-8МД, или «Цвет»; газ-носитель – гелий, скорость потока – 24 мл/мин; колонка металлическая с диаметром 3 мм, длиной 2 м; температура колонки – 60°C; твердый носитель – целит С-22 (фракция 60–80 меш.), модифицированный металлическим серебром; неподвижная фаза – полиэтиленгликоль-1500; соотношение неподвижной фазы к подвижной – 1:10. В качестве детектора используют катарометр или плазменно-ионизационный детектор (ПИД).

В практике химико-токсикологических лабораторий могут использоваться несколько иные условия анализа. Газом-носителем является азот, неподвижной фазой – смесь сквалана и полиэтиленгликоля-1500 в соотношении 70:30; твердым носителем – хромато-N-Sureg, модифицированный серебром; температура колонки – 50°C; температура испарителя – 100°C; температура детектора – 100°C; подвижная фаза – азот со скоростью 35 мл/мин; скорость диаграммной ленты – 600 мм/мин; детектор – ПИД.

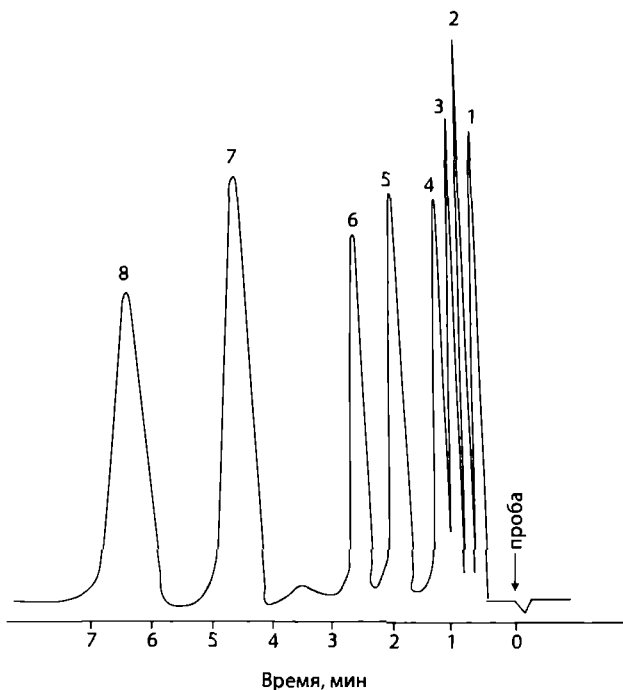


Рис. 77. Разделение алкилнитритов с помощью ГЖХ 1 – метилнитрит, 2 – этилнитрит, 3 – изопропилнитрит, 4 – пропилнитрит, 5 – изобутилнитрит, 6 – бутилнитрит, 7 – изоамилнитрит, 8 – амилнитрит

В процессе хроматографирования отмечают время выхода отдельных пиков. На рисунке 77 представлена хроматограмма разделения спиртов в виде алкилнитритов с помощью ГЖХ. Идентификацию вышедших из колонки веществ проводят по времени удерживания, которое рассчитывают от момента введения пробы в дозатор до момента появления максимума пика на хроматограмме.

С помощью метода ГЖХ можно определять этиловый спирт на уровне его естественного содержания в крови (моче). Этот метод нашел широкое применение также в анализе алкогольных напитков и спиртосодержащих жидкостей.

9.2. Газхроматографический метод обнаружения хлорорганических и ароматических углеводородов

Методика обнаружения разработана Московским городским бюро судебно-медицинской экспертизы и описана В.А.Мищихиным. Она основана на использовании парофазного анализа. Разделение веществ проводится на двух или четырех хроматографических колонках с неподвижными фазами различной полярности. В качестве детектора предложено использовать ПИД. При калибровке прибора и его поверке используется стандартная смесь хлорорганических и ароматических углеводородов.

Обнаружение ведут по следующей методике. В пенициллиновый флакон вносят 0,5 мл 0,2% раствора н-пропанола, 5 г измельченного биологического материала или 2 мл крови (мочи). Флакон закрывают резиновой пробкой, обкатывают алюминиевым колпачком и нагревают на водяной бане 10 мин при температуре 80°C. Медицинским шприцем отбирают 2 мл парогазовой фазы и вводят в хроматограф. Идентификацию веществ проводят относительно времени удерживания н-пропанола, которое принимают за 1.

Автором методики приведено относительное время удерживания на 4 колонках 32 наиболее часто встречающихся в практике химико-токсикологического анализа ве-

ществ, в том числе веществ, не относящихся к хлорорганическим, но на которые проводят ненаправленный анализ в соответствии с Приказом МЗ РФ №1021 (метиловый, изоамиловый, этиловый спирты, ацетон, формальдегид и др.).

Методика рекомендована для исследования на «летучие» яды следующих объектов: желудка с содержимым, печени, почек, кишечника, мозга, легких, мышц, сальника, крови и мочи.

Анализ «летучих» ядов по методике международной ассоциации токсикологов

В основе методики – парофазный анализ. Он рекомендован для анализа «летучих» ядов с температурой кипения до 150°C.

Предложено использовать: 2 хроматографические колонки диаметром 3 мм, длиной 1,5–3 м; сорбент в обеих колонках Carborack В АW (80–120 меш.); неподвижные жидкие фазы 6,6% Carbowax 20 М (колонка 1) и 0,3% Carbowax 20 М (колонка 2).

Сорбент Carborack В АW представляет собой графитированный уголь. Неподвижная жидкая фаза Carbowax 20 М – это полиэтиленгликоль, имеющий молекулярную массу 20 000.

В приведенных условиях на 2 колонках разделены и идентифицированы более 1000 различных «летучих» ядов (по индексам удерживания Ковача в гомологическом ряду алифатических спиртов).

Предложенная методика позволяет полностью исключить необходимость изолирования «летучих» ядов перегонкой с водяным паром.

9.3. Количественное определение «летучих» ядов с помощью газожидкостной хроматографии

Для расчетов количественного определения токсических веществ в извлечениях из биологических объектов используют метод абсолютной градуировки и метод внутреннего стандарта.

Метод абсолютной градуировки основан на предварительном определении зависимости между количеством введенного вещества и площадью или высотой пика на хроматограмме. В хроматограф вводят известное количество градуировочной смеси, определяют площади или высоты полученных пиков и строят график зависимости площади или высоты пика от количества введенного вещества. Затем анализируют исследуемый образец, измеряют площадь или высоту пика определяемого компонента и по градуировочному графику рассчитывают его количество.

Метод внутреннего стандарта основан на сравнении пика (по высоте или площади) анализируемого вещества с высотой или площадью пика образца известной концентрации. Площадь пика на хроматограмме устанавливают с помощью планиметра или умножением высоты пика на его полуширину.

Для целей химико-токсикологического анализа чаще всего используют метод внутреннего стандарта. Это позволяет избежать многих ошибок, так как исследуемое вещество и внутренний стандарт хроматографируются в абсолютно одинаковых условиях.

В качестве внутреннего стандарта используют при количественном определении «летучих» ядов пропиловый или изопропиловый спирт.

Количественное определение алифатических спиртов (C₁–C₂) с помощью ГЖХ. Во флакон вместимостью до 10 мл, содержащий 0,5 мл 50% раствора трихлоруксусной кислоты, вносят 0,5 мл раствора изопропилового спирта с концентрацией 4% (внутренний стандарт) и 0,5 мл исследуемой пробы (крови или мочи). Флакон закрывают резиновой пробкой, которую фиксируют. Содержимое флакона перемешивают и шприцем вводят 0,35 мл 30% раствора нитрита натрия, встряхивают и оставляют на 1 мин. Затем отбирают 0,5 мл парогазовой фазы и вводят в прибор. По полученной хроматограмме измеряют высоту (площадь) пиков «стандарта» и определяемых веществ (рис. 78).

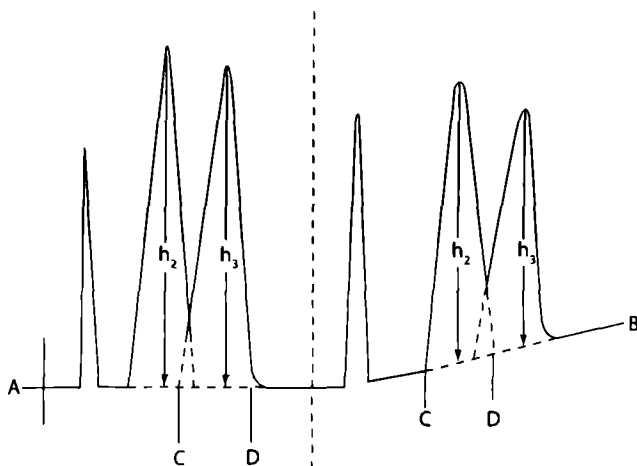


Рис. 78. Измерение высот пиков на хроматограмме. AB – основная линия хроматограммы, CD – основание пика; h_2 – высота пика этилнитрита, мм; h_3 – высота пика изопропилнитрита, мм.

Для расчета концентрации спирта и других «летучих» ядов в исследуемой пробе используют калибровочный график зависимости концентрации и соотношения высот (площадей) пика этанола («летучего» яда) к пику изопропанола (или пропанола). Калибровочный график строят ежедневно по 3–4 концентрациям анализируемого ядовитого вещества.

Удобнее пользоваться величиной f_R – фактора чувствительности или калибровочного коэффициента, который является постоянным для данной пары веществ на каждой колонке и зависит от летучести определяемых веществ в условиях опыта.

Калибровочный коэффициент рассчитывается по формуле:

$$f_R = \frac{\sum_{i=1}^n \frac{C_{r/n} \cdot h_{\text{вн.ст}}}{h_x}}{n},$$

где $C_{r/n}$ – концентрация спирта («летучего» яда), ‰; $h_{\text{вн.ст}}$ – высота пика внутреннего стандарта пропанола или изопропанола; h_x – высота пика определяемого спирта («летучего» яда); n – число измерений (обычно не менее трех).

Калибровочный коэффициент вводят в формулу расчета концентрации спирта («летучего» яда) в исследуемой пробе.

$$C_x = f_R \cdot \frac{h_x}{h_{\text{вн.ст}}} \cdot \beta,$$

где C_x – концентрация спирта («летучего» яда) в пробе, ‰; h_x – высота пика определяемого спирта («летучего» яда); $h_{\text{вн.ст}}$ – высота пика внутреннего стандарта; β – коэффициент пересчета водных растворов, на которых проводилось определение f_R на исследуемый объект; для крови $\beta=0,95$, для мочи $\beta=1,05$.

9.4. Обнаружение и определение «летучих» ядов с помощью химических реакций

Химический метод является сравнительно малочувствительным. В данном разделе химический метод анализа «летучих» ядов представлен в классических традициях.

Путем перегонки с водяным паром получают 3 порции дистиллята.

Первая порция дистиллята полностью используется для обнаружения синильной кислоты (HCN). Вторая и третья порции дистиллята, которые иногда объединяют, используются для определения других летучих ядовитых веществ.

9.4.1. Синильная кислота

Синильная (цианистоводородная) кислота – газ или бесцветная жидкость с температурой кипения 25,6°C, имеет запах горького миндаля, смешивается с водой и органическими растворителями. При –13°C затвердевает, образуя волокнистую, кристаллическую массу, является слабой кислотой (константа диссоциации равна $1,32 \cdot 10^{-9}$), ее соли легко гидролизуются

Токсикологическое значение синильной кислоты и ее солей

В свободном виде синильная кислота не встречается. Она входит в состав гликозида амигдалина. Амигдалин содержится в семенах горького и сладкого миндаля (*Amygdalus communis*), в косточках персиков (*Persica vulgaris*), абрикосов (*Armeniaca vulgaris*), сливы (*Prunus domestica*), вишни (*Cerasus vulgaris*), черешни (*Cerasus avium*) и других видах семейства *Rosaceae*.

Гликозид амигдалин под влиянием ферментов, кислот легко расщепляется на глюкозу, бензальдегид и синильную кислоту (см. раздел 4.3).

Абсолютной смертельной дозой для человека считается 40 г горького миндаля (содержание амигдалина достигает 8%) или 100 очищенных семян абрикосов, содержащих до 1 г амигдалина. Для детей эта доза составляет 10–12 семян.

Синильную кислоту, ее соли и производные применяют в лабораторном деле, гальванопластике, в сельском хозяйстве в качестве дератизаторов и дезинфицирующих средств, в кожевенной, текстильной, горной промышленности.

В медицинской практике применяют миндальное масло, которое получают прессованием семян сладкого и горького миндаля. Это прозрачная жидкость, без запаха, приятного вкуса. Назначается внутрь как легкое слабительное.

Все цианиды являются высокотоксичными соединениями. Смертельная доза синильной кислоты для человека составляет 0,05–0,1 г, солей – 0,15–0,25 г.

Синильная кислота может поступать в организм с вдыхаемым воздухом, всасываться через кожные покровы, через пищеварительный канал. Соли синильной кислоты поступают в организм через ЖКТ.

Попадая в организм, цианиды стабилизируют железо цитохромоксидазы в трехвалентном состоянии. В результате полностью нарушается клеточное дыхание. Наступает тканевая гипоксия, несмотря на то, что кровь насыщена кислородом. Наиболее чувствительны к дефициту кислорода клетки ЦНС. Кроме этого, цианиды нарушают деятельность более 20 ферментных реакций. Такое многогранное действие приводит к стремительному развитию интоксикации и быстрой смерти пострадавшего.

Отравления синильной кислотой могут быть молниеносными и замедленными. При остром молниеносном отравлении (прием большой дозы натошак) пострадавший непроизвольно вскрикивает, мгновенно теряет сознание, падает, изгибаясь дугой (опистонус). Эта форма отравления может длиться 3–5 мин, затем наступает смерть. При замедленной форме отмечаются боли в области сердца, царапанье в горле, мышечная слабость, тошнота, рвота, пошатывание, головокружение, головная боль, покраснение слизистых оболочек, кожи лица, жгучий горький вкус во рту, металлический привкус, онемение рта и зева, слюнотечение, одышка, учащенное дыхание, тонические и тетанические судороги, затем паралич, остановка дыхания и сердечной деятельности.

При патологоанатомическом исследовании обнаруживают признаки, характерные для смерти от асфиксии. Это вишнево-красный цвет трупных пятен, ушных раковин, губ, лица, внутренних органов, слизистой желудка за счет образования циангемагина. От полостей ощущается запах горького миндаля. В содержимом желудка могут быть

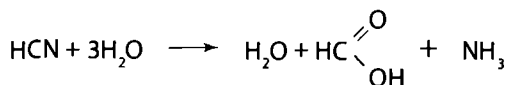
обнаружены частицы зерен (при отравлении зернами косточковых плодов) в виде белых крупинок и мелких коричневых чешуек оболочки.

Пути метаболизма синильной кислоты

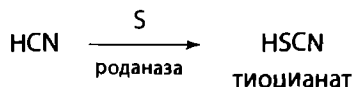
Метаболитом синильной кислоты является тиоцианат, который образуется при конъюгации цианидов с серой под влиянием фермента роданазы. Синильная кислота может связываться с метгемоглобином, образуя цианметгемоглобин, и с цистеином.

В органах трупа синильная кислота и цианиды довольно быстро разрушаются. Основными путями превращения синильной кислоты являются: гидролиз, в результате чего образуются аммиак, муравьиная кислота и ее аммониевая соль, которые являются эндогенными соединениями, в трупном материале проходит также конъюгация с серой с образованием тиоцианатов.

1. Гидролиз

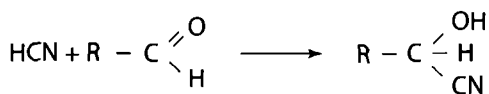


2. Образование тиоцианатов



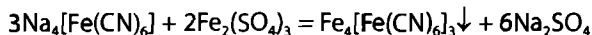
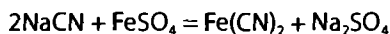
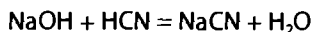
Это основной метаболит, он максимально образуется в течение 2 суток

3. Присоединение к веществам, содержащим альдегидную группу (сахарам)

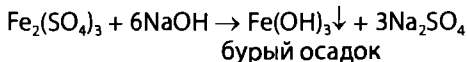
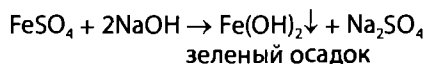


Обнаружение синильной кислоты в дистилляте

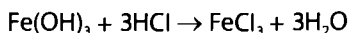
Реакция образования берлинской лазури. К части дистиллята (щелочной раствор) добавляют 1–3 капли 40% раствора сульфата железа(II), содержащего следы сульфата железа(III). Смесь взбалтывают, нагревают до кипения, охлаждают и добавляют 10% раствор хлороводородной кислоты до слабокислой реакции. Появление синего окрашивания, а затем синего осадка указывает, что в дистилляте обнаружена синильная кислота (цианиды).



Побочные реакции:



Кислота добавляется с целью растворения образовавшихся гидроксидов железа и нейтрализации избытка щелочи



Большой избыток кислоты может замедлить процесс образования берлинской лазури. При следовых количествах синильной кислоты синяя окраска раствора может появиться через 24–48 ч. Чтобы ускорить образование осадка, в исследуемый раствор можно добавить 5% раствор хлорида бария. При этом за счет присутствующих в растворе ионов SO_4^{2-} образуется осадок сульфата бария, который соосаждает берлинскую лазурь. *Заключение о нахождении синильной кислоты можно дать с полной уверенностью, если через 48 ч синяя окраска раствора и синий осадок не обнаружены.*

Оценка Реакция чувствительна (можно обнаружить 20 мкг синильной кислоты в 1 мл раствора), специфична. Осадок берлинской лазури может быть представлен судебно-следственным органам как доказательство, что синильная кислота обнаружена в объекте (реакция *Corpus delicti*).

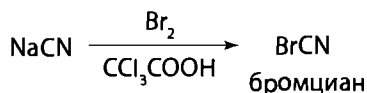
Реакция образования берлинской лазури на тест-бумаге. Часть дистиллята помещают в пробирку, добавляют 1 мл 10% раствора серной кислоты и плотно закрывают тест-бумагой, предварительно смоченной раствором сульфата железа (II), содержащего следы сульфата железа(III). Пробирку погружают на 15 мин в водяную баню, нагретую до 70°C. Затем тест-бумагу опускают в 25% раствор серной кислоты. Наблюдают образование пятна синего цвета (берлинская лазурь) на общем белом фоне.

Оценка Предел обнаружения составляет 0,3 мкг синильной кислоты в пробе. Реакция применима при анализе объектов, подвергшихся гнилоственному разложению.

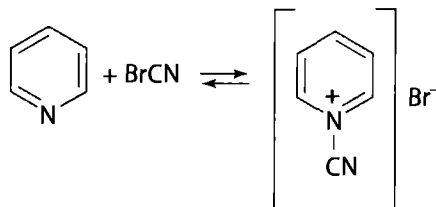
Реакция образования полиметинового красителя с помощью пиридин-бензидинового реактива. К части дистиллята добавляют 0,5 мл бромной воды, 1 мл 10% раствора трихлоруксусной кислоты, а затем 0,5 мл 0,5% раствора гидразина сульфата до обесцвечивания жидкости и дополнительно небольшой его избыток в объеме одной капли. В раствор вносят 3 мл пиридин-бензидиновой смеси – наблюдают образование оранжевого окрашивания, постепенно переходящего в красно-фиолетовое.

Реакция проходит по 4 стадиям.

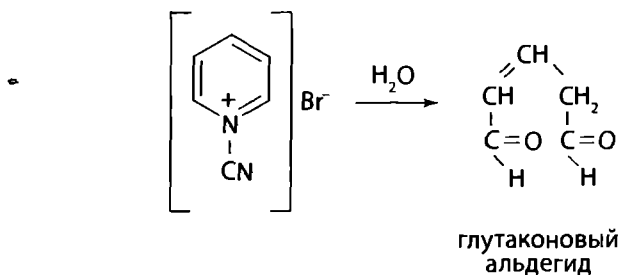
а) получение бромциана.



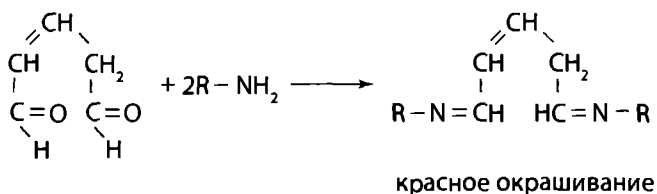
б) при добавлении пиридина образуется бромид цианпиридина:



в) в присутствии воды образуется глутаконовый альдегид:

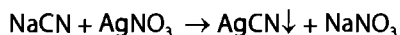


г) глутаконовый альдегид далее конденсируется с веществами, содержащими первичную аминогруппу (бензидин):



Оценка. Предел обнаружения составляет 0,2 мкг синильной кислоты в исследуемой пробе. Продукты гнилостного разложения биологического объекта не мешают ее определению.

Микрориспаллоскопическая реакция образования цианида серебра. Часть дистиллята испаряют и остаток переносят на предметное стекло. К сухому остатку добавляют каплю 10% раствора азотной кислоты, по одной капле 1% раствора метиленовой сини и 1% раствора нитрата серебра. Под микроскопом наблюдают образование кристаллов в виде длинных игл и ростков из них голубого цвета.



Оценка Предел обнаружения составляет 0,1 мкг синильной кислоты в исследуемой пробе. Реакция применима в присутствии продуктов гнилостного разложения объекта.

Количественное определение синильной кислоты проводится фотоколориметрическим и титриметрическим методами.

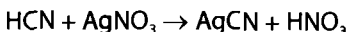
Фотоколориметрический метод предложен И.В.Герасимовым. Он основан на реакции образования полиметинового красителя с помощью пиридин-бензидинового реактива.

Методика. 1 мл первой порции дистиллята помещают в колориметрическую пробирку емкостью 10 мл, добавляют 1 мл 10% раствора трихлуксусной кислоты, перемешивают и по каплям до насыщения вносят раствор бромной воды до желтого не исчезающего окрашивания жидкости. Смесь оставляют при комнатной температуре на 5 мин. Затем по каплям добавляют 0,5% раствор гидразина сульфата до обесцвечивания жидкости и дополнительно еще 1 каплю того же реактива, перемешивают и прибавляют 2,5 мл пиридин-бензидинового реактива, перемешивают. Через 15 мин измеряют оптическую плотность полученного раствора с помощью ФЭК-М в кювете 5 мм при длине волны 530 нм. В качестве раствора сравнения используют смесь реактивов. Ошибка методики находится в пределах $\pm 5-6\%$.

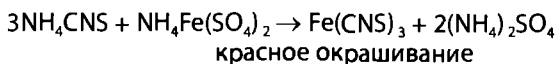
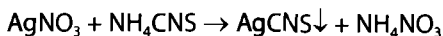
Несмотря на широкое внедрение инструментальных методов, титриметрические методы не теряют своего значения при некоторых химико-токсикологических исследованиях.

Аргентометрический метод (метод Фальгарда). Используется при содержании синильной кислоты > 1 мг в 100 г исследуемого объекта. Из навески объекта синильную кислоту изолируют с помощью перегонки с водяным паром. Дистиллят собирают в при-

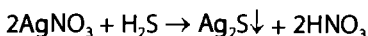
емник, в котором находится раствор нитрата серебра (концентрация раствора нитрата серебра подбирается в зависимости от количества синильной кислоты)



Непрореагировавший нитрат серебра оттитровывают раствором тиоцианата аммония, используя железоаммониевые квасцы в качестве индикатора



Этот метод нельзя использовать при анализе гнилостно-разложившегося объекта, так как при гниении биологического материала образуется сероводород, который также перегоняется с водяным паром и реагирует с нитратом серебра.



9.4.2. Формальдегид

Формальдегид – газообразное вещество, хорошо растворимое в воде. Имеет острый специфический запах. При температуре ниже 10°C формальдегид легко полимеризуется и образует полимер параформальдегид или параформ.

Формальдегид используется в промышленности для получения синтетического каучука, пластических масс, фенолформальдегидных смол, дублинии кож, консервировании анатомических препаратов, протравливании зерна, дезинфекции тары, при различных синтезах, в лакокрасочной и текстильной промышленности.

В медицинской практике применяют формалин – водный раствор, который содержит 36,5–37,5% формальдегида, – как дезинфицирующее и дезодорирующее средство для дезинфекции рук, обработки кожи ног при повышенной потливости (гель 3,7% и раствор 0,5%), дезинфекции инструментов (0,5% раствор), спринцеваний (1:2000–1:3000). Формальдегид входит в состав препаратов «Лизоформ», «Формагель», «Формалиновая мазь», «Формидрон».

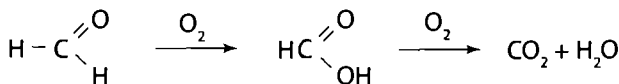
В организм формальдегид может попасть с вдыхаемым воздухом. Прием растворов формальдегида внутрь в большинстве случаев носит случайный характер.

При ингаляционных отравлениях формальдегид вызывает слезотечение, резкий кашель, чувство стеснения в груди, отек гортани, одышку, цианоз, боли, рвоту, некроз слизистой. Эти явления связаны с выраженным местным действием формальдегида на слизистые оболочки и ткани подобно едким ядам.

Общетоксическое действие характеризуется признаками поражения ЦНС: потерей сознания, судорогами. Наблюдается раздражение почек, печени за счет образования в результате метаболизма муравьиной кислоты.

Смертельная доза формальдегида находится в пределах 10–30 г. Обычно отравления наблюдаются при приеме формалина внутрь. При патологоанатомическом и гистологическом исследовании погибших наблюдаются гиперемия, ожоги, струпья, язвы, некроз слизистой пищевода, желудка, мышечного слоя, тромбозы сосудов, резкое полнокроевое головного мозга, некронефроз в почках, дистрофические изменения в печени и в других паренхиматозных органах.

Метаболизм формальдегида. Формальдегид выводится из организма частично в неизменном виде. Основная часть его окисляется до муравьиной кислоты, а затем до оксида углерода(IV):



муравьиная кислота

Объекты анализа на формальдегид:

- желудок, двенадцатиперстная кишка и часть тощей кишки с содержимым;
- головной мозг;
- печень;
- почки, моча.

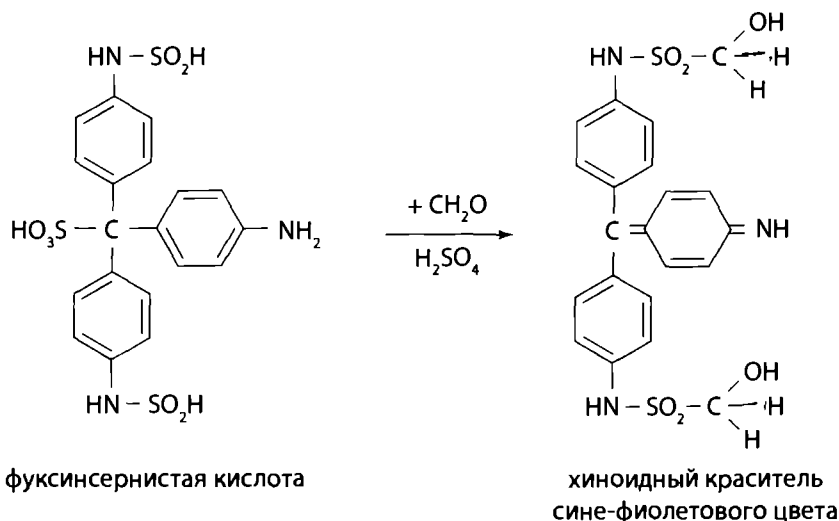
Для обнаружения формальдегида в дистилляте используются метод газожидкостной хроматографии (основной) и характерные химические реакции (подтверждающие).

Метод газожидкостной хроматографии. Для обнаружения формальдегида используют паровфазный анализ. При появлении на хроматограмме пика с параметрами удерживания, соответствующими формальдегиду-«стандарту» (см. раздел 9.2), его наличие подтверждают химическим методом.

Реакция с резорцином в щелочной среде. К 1 мл дистиллята добавляют 0,5 мл 10% раствора гидроксида натрия и 1 мл 1% раствора резорцина. В другой пробирке (контрольный опыт) смешивают 1 мл воды очищенной с вышеуказанными реактивами. Обе пробирки нагревают на водяной бане в течение 3–5 мин. В исследуемом дистилляте наблюдают образование малинового (или розового) окрашивания. В контрольном опыте за счет продуктов окисления резорцина может наблюдаться желто-зеленая или зеленая окраска.

Оценка. Предел обнаружения составляет 0,03 мкг формальдегида в пробе. Реакция неспецифична. Ее дают уксусный альдегид, алкилгалогениды, акролеин, фурфурол. Реакция имеет судебно-химическое значение при отрицательном результате.

Реакция с фуксинсернистой кислотой (реактив Шиффа). К 1 мл дистиллята добавляют 3 капли концентрированной серной кислоты и после охлаждения добавляют 1 мл фуксинсернистой кислоты. В присутствии формальдегида сразу или через 10–15 мин появляется синее или сине-фиолетовое окрашивание.



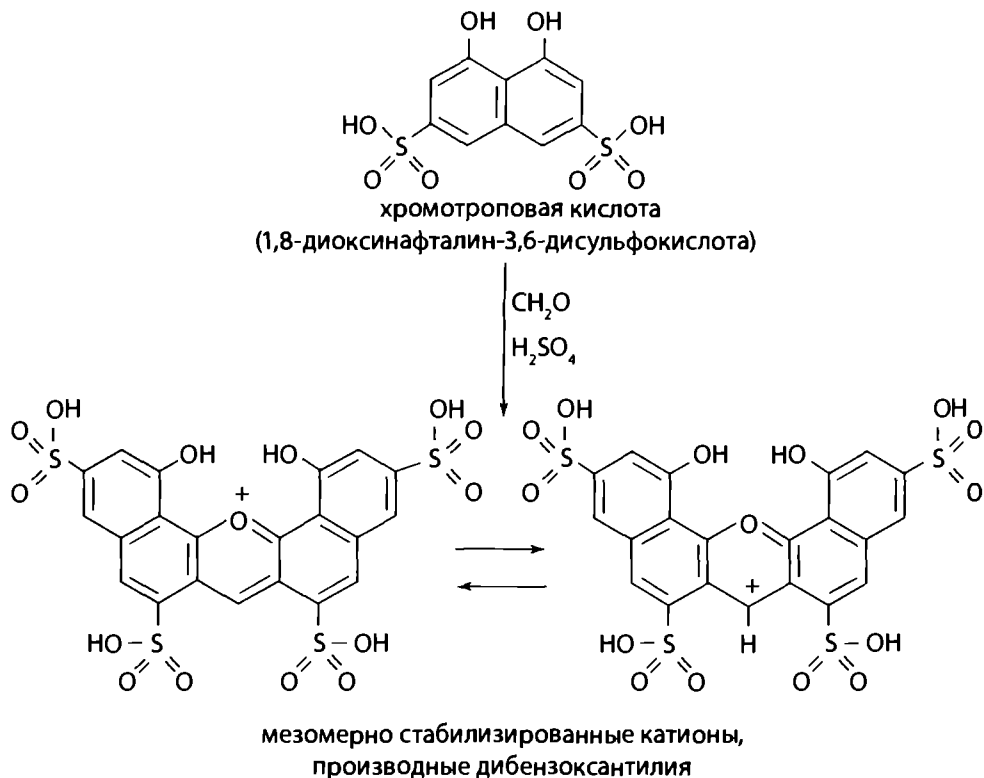
Окрашивание может появиться не только за счет присутствия в дистилляте формальдегида, но и под влиянием окислителей (оксидов азота, хлора, кислорода), повышенной температуры. Поэтому если окрашивание возникает через 30 мин и более, результат не должен рассматриваться как положительный.

Оценка. Реакция специфична для формальдегида в присутствии минеральных кислот. Предел обнаружения составляет 0,03 мкг формальдегида в пробе.

Реакция с кодеином в концентрированной серной кислоте. К 1 мл дистиллята добавляют 5 мл концентрированной серной кислоты. После охлаждения в смесь вносят несколько крупинок кодеина. Наблюдают сине-фиолетовое окрашивание.

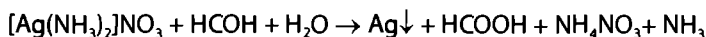
Оценка. Предел обнаружения составляет 0,02 мкг формальдегида в исследуемой пробе. Реакция используется в качестве подтверждающей.

Реакция с хромотроповой кислотой. К 1 мл дистиллята добавляют 0,2 мл 1% раствора хромотроповой кислоты в концентрированной серной кислоте, а затем 5 мл концентрированной серной кислоты и взбалтывают. Формальдегид с хромотроповой кислотой в присутствии концентрированной серной кислоты при нагревании до 60°C дает фиолетовое окрашивание. При этом образуются два мезомерно стабилизированных катиона, производные дибензоксантилия.



Оценка. Предел обнаружения составляет 1 мкг формальдегида в пробе. Реакция является подтверждающей.

Реакция образования «серебряного зеркала». В обезжиренную пробирку вносят 5 капель 1% раствора нитрата серебра и по каплям 10% раствор аммиака до растворения образовавшегося осадка. К полученному раствору добавляют 1 мл дистиллята и смесь осторожно нагревают на пламени горелки. Наблюдают на стенках пробирки налет металлического серебра («серебряное зеркало») или бурый осадок (черную муть) металлического серебра.



Оценка. Реакция чувствительна, позволяет обнаружить сотые доли микрограмма формальдегида в исследуемой пробе. Реакция неспецифична, используется как подтверждающая.

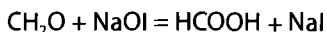
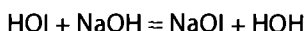
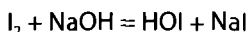
Количественное определение формальдегида

Газожидкостная хроматография. Определение проводят по методикам, описанным в разделе 9.2. Расчет концентрации формальдегида рекомендуется проводить по высоте или площади пика на хроматограмме, используя в качестве внутреннего стандарта

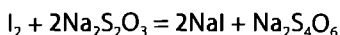
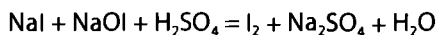
н-пропиловый спирт. При расчетах используют калибровочный коэффициент, который определяют предварительно при калибровке и поверке прибора газового хроматографа. Можно использовать калибровочный график, построенный с разными концентрациями формальдегида по той же методике.

Фотоколориметрический метод. Он основан на получении окрашенного соединения с фуксинсернистой или хромотроповой кислотами с последующим расчетом концентрации формальдегида в исследуемом объекте по калибровочному графику.

Йодометрическое определение формальдегида в дистилляте. Метод основан на окислении формальдегида в определенном объеме дистиллята йодом до муравьиной кислоты (в щелочной среде). К определенному объему дистиллята добавляют точно отмеренный объем титрованного раствора йода. Оставляют на 20 мин.



Через 20 мин раствор подкисляют 1 М раствором серной кислоты и выделившийся йод титруют раствором тиосульфата натрия (индикатор – крахмал).



Этот метод может быть использован при анализе дистиллятов, не содержащих веществ, реагирующих с йодом.

Удаление формальдегида из дистиллята. При обнаружении в дистилляте формальдегида, перед проведением реакций на другие «летучие» яды, его удаляют из всего объема дистиллята. С этой целью к дистилляту добавляют 4 мл 10% раствора нитрата серебра и 3% раствор гидроксида натрия до щелочной реакции. Смесь нагревают с обратным холодильником в течение 3–4 мин. Затем дистиллят перегоняют. К части полученного дистиллята добавляют растворы концентрированной серной кислоты и фуксинсернистой кислоты. Сине-фиолетового окрашивания не должно наблюдаться. С полученным раствором (дистиллятом) проводят реакции на «летучие» яды.

9.4.3. Этиловый спирт

Этиловый спирт (этанол, винный спирт) – бесцветная летучая жидкость с характерным запахом и жгучим вкусом, смешивается во всех отношениях с водой, диэтиловым эфиром и многими другими органическими растворителями. Температура кипения равна 78,4°С. Горит синеватым пламенем. Получают этиловый спирт из крахмалсодержащих продуктов (зерновых, картофеля), свеклы, патоки, фруктов, сахара и т.п. Полученный спирт-сырец очищают путем многократной ректификации и другими методами.

Этиловый спирт широко применяется в промышленности в качестве растворителя, является исходным продуктом для получения многих химических соединений, входит в состав спиртных напитков. Алкогольные напитки представляют собой смесь воды и этилового спирта с примесью других веществ, которые придают им характерный запах и вкус. К ним относятся альдегиды (уксусный, масляный, пропионовый), сложные эфиры (диэтиловый, муравьиноэтиловый, уксусноэтиловый), кислоты (муравьиная, пропионовая, масляная, валериановая), метиловый спирт, сивушное масло. Содержание примесей в алкогольных напитках фабричного изготовления строго регламентируется санитарными нормами и государственными стандартами. В кустарно и подпольно изготовленных алкогольных напитках содержание вредных примесей может составлять полтора и более процентов.

В медицинской практике этиловый спирт применяют преимущественно как наружное антисептическое и раздражающее средство для обтираний, компрессов и т.д. В раз-

личных разведениях его используют для изготовления настоек, экстрактов и различных лекарственных форм для наружного применения.

В организм человека этиловый спирт может поступать несколькими путями: через ЖКТ, при внутривенном и ректальном введении и при вдыхании его паров. В практике чаще всего встречается такой путь поступления, как прием внутрь спиртных напитков с высоким содержанием алкоголя (40–50%)

Злоупотребление этиловым спиртом приводит к зависимости от него и хроническому алкоголизму. Алкоголизм – одна из форм токсикомании. Она характеризуется пристрастием к употреблению напитков, содержащих этиловый спирт, развитием психической и физической зависимости, абстинентным синдромом, деградацией личности (психической, физической, социальной). Формирование зависимости от алкоголя имеет общие черты с механизмом зависимости от опиатов, кокаина и других наркотиков. Известны случаи, когда наркоманы, чтобы избавиться от наркотической зависимости, сознательно переходили на зависимость от алкоголя. В настоящее время известно, что зависимость от психоактивных веществ является полигенным заболеванием. Наследственная предрасположенность вызывается врожденной недостаточностью функции так называемой «системы награды мозга», которая расположена в его лимбических структурах. В этой системе имеются и функционируют различные нейромедиаторы, главным из которых является дофамин. Его дефицит способствует развитию депрессивного состояния. У больных, отягощенных алкоголизмом, наблюдается низкий уровень дофамина.

Алкоголизм – один из главных показателей напряженности социально-экономической ситуации в стране. Под влиянием алкоголя изменяется поведение человека, что отражается во многих жизненных ситуациях. Алкоголики нарушают трудовую дисциплину, чаще получают травмы на производстве, нарушают правила уличного движения, тонут при купании в нетрезвом виде, гибнут от охлаждения, совершают убийства, у них рождаются недоношенные, умственно отсталые дети и т.д.

Этиловый спирт быстро всасывается из ЖКТ. Примерно 20% принятого алкоголя всасывается в желудке, а 80% – в тонком кишечнике. На всасывание оказывает влияние характер пищи. Замедляет всасывание пища, богатая протеинами, жирами, крахмалом.

При приеме этилового спирта в токсических дозах может наступить острое смертельное отравление. Смертельной дозой считается 6–8 мл чистого этилового спирта на 1 кг массы тела. Эта доза может меняться в зависимости от чувствительности человека к спирту, крепости напитков, степени наполнения желудка пищевыми массами. Известны случаи смертельного исхода при приеме 100–150 мл чистого спирта и полного выздоровления после приема 600–800 мл.

Этиловый спирт при поступлении в организм действует на кору головного мозга. Наступает опьянение и характерное алкогольное возбуждение, что является результатом ослабления процессов торможения. В больших дозах этиловый спирт угнетает функции спинного и продолговатого мозга, что приводит к глубокому наркозу с потерей рефлексов и угнетением жизненно важных центров. Затем наступает паралич ЦНС и смерть от остановки дыхания. Длительный прием алкогольных напитков приводит к тяжелым расстройствам нервной системы (дрожание мышц, галлюцинации, буйный бред до «белой горячки»), пищеварительного аппарата (снижение кислотности и активности ферментов желудочного сока, медленное переваривание пищи, гиперемия слизистой желудка, застой в кровеносных сосудах) и дистрофические изменения элементов слизистой, которая становится гладкой и эрозированной). Наблюдается поражение сердечно-сосудистой системы и печени (вплоть до цирроза).

При вскрытии погибших от алкогольной интоксикации характерных изменений не отмечается. Важным признаком при диагностике опьянения является запах спирта от полостей, особенно от мозга и легких.

Некоторые факторы могут усложнить посмертную диагностику алкогольного опьянения. Процессы гниения способствуют образованию эндогенного алкоголя, концентрация которого может достигать 1,5% и более. Эндогенный алкоголь образуется в крови

Таблица 52

Токсические дозы суррогатных примесей

Вещество	LD ₅₀ , г/кг
Амиловыe спирты	0,42
Ацетон	1,00
Бутиловый спирт	3,50
Бакелитовый лак разведенный*	2,45
Дихлорэтан	0,50
Пропиловыe спирты	3,5–6,00
Клей БФ разведенный**	3,80
Метиловый спирт	0,42
Сивушное масло	2,01
Тетрагидрофуруриловый спирт	0,64
Трихлорэтилен	1,35
Уксусный альдегид	5,00
Этиленгликоль	1,75

* Бакелитовый лак – смесь фенолформальдегидных смол и этилового спирта

** Клей БФ – смесь фенолформальдегидных смол, этилового спирта, канифоли и поливинилбутирала

из глюкозы под действием бактерий. При утоплении следует учитывать попадание воды в кровь погибшего и разбавление ее, в результате уменьшается концентрация спирта. У больных сахарным диабетом посмертно образуется этиловый спирт в крови (до 0,2 ‰) за счет повышенного содержания сахара.

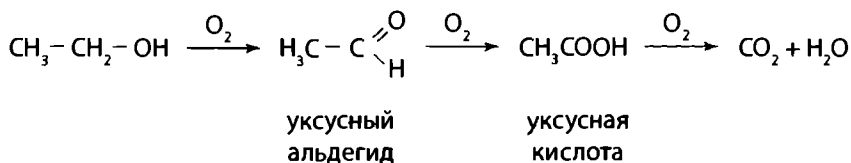
Алкогольные интоксикации по статистике связаны в основном с этиловым спиртом. Реже бывают комбинированные отравления или отравления суррогатами алкогольных напитков, содержащими этиловый спирт. Это случается, когда используют для нелегального производства водки технические жидкости, т.е. смеси этилового спирта с различными химическими веществами (клей БФ, бакелитовый лак и др.). Эти отравления особенно опасны, поскольку токсичность примесей значительно усиливается в присутствии этилового спирта. Средние значения LD₅₀ примесей к этанолу приведены в таблице 52

Реже случаются отравления ложными суррогатами – жидкостями, которые не содержат этилового спирта (этиленгликолем, метиловым спиртом, дихлорэтаном и др.).

Метаболизм этилового спирта

Этиловый спирт относительно равномерно распределяется по органам и тканям. Больше всего его в крови, головном мозге и тканях, богатых кровью.

Около 90% этилового спирта окисляется в организме до уксусного альдегида, затем до оксида углерода(IV) и воды, а примерно 10% выводится в неизменном виде через легкие и кожные покровы. Уксусный альдегид токсичнее этилового спирта в 1,5 раза. Его действие на организм является одной из причин, характеризующих «стадию похмелья»



Объекты анализа:

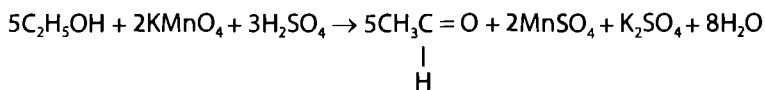
- рвотные массы;
- промывные воды желудка;
- выдыхаемый воздух;
- моча, кровь, печень, почки, слюна.

Этиловый спирт относится к числу токсических веществ, на которые чаще всего проводится анализ в химико-токсикологических и судебно-химических лабораториях. Судебному медику и врачу-наркологу часто приходится устанавливать алкогольную интоксикацию при освидетельствовании живых лиц и при исследовании трупов.

При экспертизе живых лиц обнаружение этилового спирта проводят путем анализа выдыхаемого воздуха. Установлено, что содержание этилового спирта в выдыхаемом воздухе пропорционально его содержанию в крови, циркулирующей в легких. Это соотношение определяется как 1:2100. Для обнаружения спирта в выдыхаемом воздухе используют реакции, которые называют предварительными пробами.

Проба А.М. Рапопорта основана на окислении этилового спирта перманганатом калия в присутствии концентрированной серной кислоты.

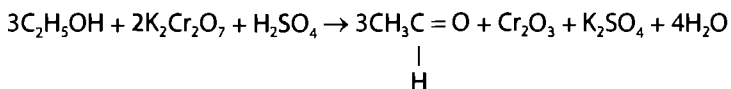
В две пробирки вносят по 2 мл воды очищенной, в одну из них помещают трубку, через которую испытуемый пропускает 1,9–2,1 л выдыхаемого воздуха. Затем в обе пробирки по стенкам вносят по 20 капель концентрированной серной кислоты и добавляют по 1 капле 0,5% раствора перманганата калия. Через 2–3 мин наблюдают полученный результат. Если в выдыхаемом воздухе содержались пары алкоголя, то в течение 10–15 мин анализируемый раствор обесцветится или интенсивность его окраски по сравнению с контрольным раствором во второй пробирке станет меньше.



Реакция чувствительна, но неспецифична, имеет судебно-химическое значение при отрицательном результате.

Индикаторные трубки Мохова–Шинкаренко и «Контроль трезвости». Анализ основан на окислении этилового спирта дихроматом калия в присутствии серной кислоты.

С этой целью используются стеклянные трубки, заполненные силикагелем, пропитанным смесью серной кислоты и оксида хрома(VI) и запаянные с обоих концов. Перед исследованием оба конца трубки отпиливают, и испытуемый продувает выдыхаемый воздух в течение 20–30 с. В присутствии алкоголя в трубке появляется зеленое или синее кольцо. Интенсивность и время сохранения окраски связаны с количеством спирта в выдыхаемом воздухе.



Реакция неспецифична, но чувствительна, имеет судебно-химическое значение при отрицательном результате.

Термокаталитический метод. Метод основан на сорбировании паров алкоголя из выдыхаемого воздуха с последующей термодесорбцией и сжиганием на элементах чувствительного детектора. По методике предусмотрено подогревание выдыхаемого воздуха и отбор пробы альвеолярного воздуха. Эта методика более чувствительна по сравнению с предварительными пробами. Однако этот метод также неизбирателен к этиловому спирту.

Индикаторные полоски «Алкоскрин» и «Алкосенсор» используются для качественного и полуколичественного определения алкоголя в слюне.

При пользовании сенсорный элемент полоски погружают в слюну на 8–10 с. Затем избыток слюны удаляют резким движением руки или бумагой. Через 2 мин (но не более, чем через 5 мин) с момента погружения сенсорного элемента в слюну сравнивают полученную окраску с приложенной шкалой. При отсутствии в слюне алкоголя индикаторная полоска имеет желтую окраску, при наличии алкоголя – зеленую. В зависимости от интенсивности зеленой окраски на шкале проставлена концентрация спирта, которая выражается в промилле (‰).

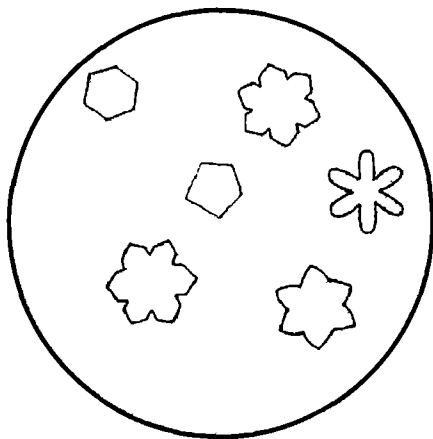


Рис. 79. Кристаллы йодоформа

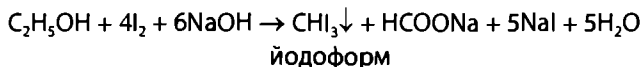
Неспецифичность реакций (предварительных проб) и термокаталитического метода связана с тем, что положительный результат и изменение окраски может наблюдаться при наличии в выдыхаемом воздухе паров ацетона, эфира, метилового спирта, бензина, керосина, хлороформа и т. д. Доказательное значение имеет лишь отрицательный результат этих методов, проб и испытаний.

Для обнаружения спирта в крови, моче, слюне, биологическом материале проводится исследование с использованием газожидкостной хроматографии (основной метод) и с помощью характерных для спиртов химических реакций (подтверждающих).

Метод газожидкостной хроматографии. Это надежный метод обнаружения этилового спирта. В его основе парофазный анализ и идентификация по параметрам удерживания (методика описана в разделе 9.1). Если на хроматограмме не обнаружено пика с соответствующим этилнитриту временем удерживания, исследование прекращают. Если на хроматограмме обнаружен пик с характерным для этилнитрита параметром удерживания, наличие спирта подтверждают химическим методом.

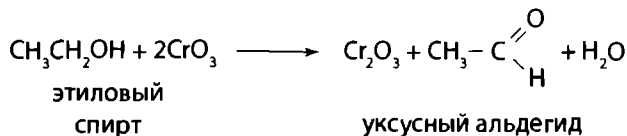
Из химических реакций для обнаружения этилового спирта используют реакцию образования йодоформа, реакцию окисления до уксусного альдегида и реакцию получения эфира с уксусной кислотой (этилацетата).

Реакция образования йодоформа. К 1 мл дистиллята прибавляют 1 каплю 10% раствора гидроксида натрия и по каплям 1% раствор йода в 2% растворе йодида калия до сохраняющегося слабо-желтого окрашивания. При осторожном нагревании на водяной бане (при 50°C) и потирании палочкой о стенки пробирки наблюдают образование желтого осадка и ощущают характерный запах йодоформа. При рассматривании осадка под микроскопом обнаруживают характерные кристаллы, имеющие вид шестиугольных звездочек и табличек (рис. 79).



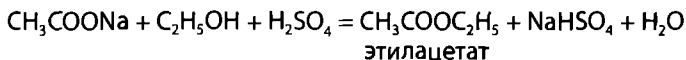
Оценка. Реакция чувствительна, предел обнаружения составляет 0,04 мг этилового спирта в 1 мл дистиллята. Эту реакцию дают молочная кислота, ацетон, которые почти всегда присутствуют в содержимом желудка и внутренних органах. Реакция имеет судебно-химическое значение при отрицательном результате.

Реакция окисления этилового спирта до уксусного альдегида. К 1 мл дистиллята добавляют 1 мл 10% раствора серной кислоты и 1 мл 5% раствора дихромата калия. Через 20 мин при комнатной температуре ощущают фруктовый запах уксусного альдегида (запах свежих яблок).



Оценка. Предел обнаружения составляет 3 мг этилового спирта в 1 мл дистиллята. Реакция неспецифична и является подтверждающей.

Реакция образования этилацетата. К 1 мл дистиллята добавляют безводный ацетат натрия до насыщения раствора (до момента прекращения его растворения) и по каплям 2 мл концентрированной серной кислоты. Смесь тщательно перемешивают и нагревают на пламени горелки до появления первых пузырьков газа. Затем смесь выливают в 20-кратный объем воды очищенной, перемешивают. Ощущают характерный фруктовый запах уксусноэтилового эфира (запах яблочной эссенции).



Оценка. Предел обнаружения составляет 15–20 мг этилового спирта в 1 мл дистиллята. Реакция неспецифична, является подтверждающей.

Количественное определение этилового спирта

Содержание этилового спирта в крови определяют с помощью газожидкостной хроматографии (методика описана в разделе 9.3).

После получения данных о количестве спирта в крови *проводится оценка степени опьянения и устанавливается зависимость между поведением человека и содержанием алкоголя в крови* (табл. 53).

Приведенные данные имеют относительный характер, так как особенности поведения человека при приеме спиртосодержащих жидкостей зависят от характера принятого напитка, количества пищи, чувствительности организма к алкоголю, возраста, пола

Таблица 53

Экспертиза алкогольной интоксикации

Найденное количество этилового спирта в крови, промилле (‰)	Степень опьянения	Проявляемые симптомы
Менее 0,3	Отсутствие влияния алкоголя	—
0,3–0,5	Незначительное влияние алкоголя	Клинический диагноз не может быть установлен
0,5–1,5	Легкая степень опьянения	Незначительное изменение психической деятельности, усиление вегетативно-сосудистых реакций, нарушения в двигательной сфере
1,5–2,5	Опьянение средней тяжести	Выраженные изменения психической деятельности (опасные для окружающих), отчетливые нарушения координации движений
2,5–3,0	Сильное опьянение	Тяжелые расстройства психической деятельности, нарушение ориентировки, непонимание смысла вопросов, тахикардия, бледность, непроизвольное мочеиспускание, неспособность самостоятельно стоять и выполнять какие-либо действия
3,0–5,0	Тяжелое отравление алкоголем (алкогольная кома) Возможен смертельный исход	Кома. Отсутствие признаков сознательной психической деятельности. Отсутствие реакции на окружающее, тяжелые нервно-мышечные нарушения, отсутствие рефлексов
5,0–6,0	Смертельное отравление	—

и состояния, в котором находится данный человек. По содержанию этилового спирта в крови и моче определяется *фаза распределения алкоголя* (элиминации или резорбции) и на основании полученных данных выбирается метод детоксикации при острых алкогольных интоксикациях.

По результатам химического анализа рассчитывают общее содержание алкоголя в организме в момент окончания приема спиртных напитков. Для определения общего содержания алкоголя в организме используют формулу расчета, предложенную Видмарком (Widmark):

$$A = P \cdot r \cdot (C_1 + \beta_{60} \cdot T) + A_{\text{жел}}$$

где A – общее содержание алкоголя в организме человека, г; P – масса тела, кг; r – фактор редукции (распределения) алкоголя в организме и крови, равный 0,66 (это относительно постоянная величина); C_1 – концентрация алкоголя в крови, обнаруженная в момент исследования, ‰; β_{60} – величина, на которую понижается концентрация алкоголя в крови за единицу времени (скорость метаболизма этилового спирта в организме) – 0,1–0,16‰, (чаще всего – 0,15‰ в час); T – время, прошедшее с момента приема спиртных напитков до момента исследования, ч, $A_{\text{жел}}$ – дефицит алкоголя вследствие его связывания с пищей желудка (содержание спирта в содержимом желудка), г

9.4.4. Метиловый спирт

Метиловый спирт (метанол, древесный спирт, карбинол) – одноатомный спирт жирного ряда. Это бесцветная жидкость с характерным запахом, $t_{\text{кип}} = 64,5^\circ\text{C}$. По вкусу и запаху практически не отличается от этилового спирта. Метиловый спирт смешивается с водой во всех отношениях, многими органическими растворителями и другими спиртами. Метиловый спирт является хорошим растворителем жиров, липидов, масел. Горит бледно-голубым пламенем. Получают метиловый спирт при сухой перегонке древесины и синтетическим путем.

Токсикологическое значение

Метиловый спирт используется в промышленности в качестве растворителя лаков, красок, для получения формальдегида, синтеза лекарственных препаратов, красителей, органических веществ. В настоящее время применение метанола ограничено и установлены строгие меры по его хранению и перевозке. Метиловый спирт обладает антидетонационными свойствами и входит в состав антифризов. Он является составной частью суррогатов алкоголя.

Метанол относится к числу нервно-сосудистых ядов, обладает кумулятивным свойством.

Отравления метиловым спиртом происходят главным образом при его приеме внутрь. Возможны токсические явления при вдыхании паров метанола и при всасывании через кожу. Тяжелые отравления метанолом вызывает прием 5–10 мл, смертельная доза равна 30 мл метанола, при этом большую роль играет индивидуальная чувствительность организма к яду. Встречаются люди, которые выздоравливали после приема 250–500 мл метанола.

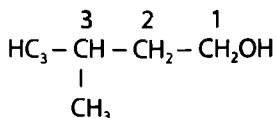
Метиловый спирт легко и быстро всасывается через слизистые оболочки. Вначале метиловый спирт проявляет наркотическое действие на организм, которое обычно поверхностно и быстро исчезает. В организме метиловый спирт окисляется в 5–6 раз медленнее этанола, а накапливающиеся продукты метаболизма (формальдегид и муравьиная кислота) оказывают токсическое действие.

Образующийся формальдегид частично связывается с белками и нарушает окислительное фосфорилирование в сетчатке глаза, возникает недостаток аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ), что приводит к потере зрения. Муравьиная кислота (продукт окисления формальдегида) длительное время находится в организме и нарушает кислотно-щелочное равновесие в клетках и тканях, что приводит к тяжелейшему ацидозу.

амиловых спиртов находится в пределах 101,8–137,8°C. Некоторые амиловые спирты растворимы в воде. Плотность – 0,80–0,82.

Токсикологическое значение. Амиловые спирты являются главной составной частью «сивушного масла», которое является побочным продуктом спиртового брожения и в 3,5 раза более ядовито, чем этиловый спирт. Сивушное масло на 80% состоит из пропилового, бутилового, амилового спиртов и их изомеров. Основную часть сивушного масла составляет изоамиловый спирт (до 60%), который придает ему резкий неприятный запах и высокую токсичность.

Из амиловых спиртов наибольшее токсикологическое значение имеет изоамиловый спирт (3-метил-бутанол-1) как продукт спиртового брожения.



Изоамиловый спирт применяется в промышленности как растворитель лаков, хлоркаучука, как добавка к дизельному топливу с целью повышения цетанового числа (цетановое число характеризует воспламеняемость топлива). Он входит в состав тормозной жидкости «АСК», содержащей 50% изоамилового спирта. Изоамиловый спирт используется для приготовления пищевых фруктовых эссенций, в парфюмерии, производстве пороха, для синтеза сложных эфиров, для получения амилнитрита, применяемого в медицине.

Отравление изоамиловым спиртом возможно при его поступлении через ЖКТ (смертельная доза составляет 10–15 г) или ингаляционным путем.

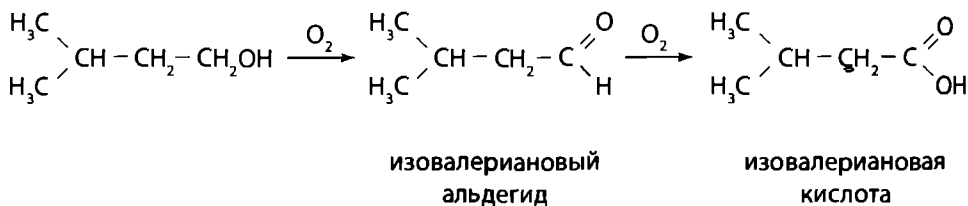
По характеру действия амиловые спирты оказывают наркотический эффект с сильным местнораздражающим действием. Они поражают ЦНС и парализуют жизненно важные центры стволовой части мозга.

При остром отравлении наблюдаются общая слабость, головокружение, тошнота, боли в мышцах и животе, рвота, жжение по ходу пищевода, спутанное сознание, оглушенность, цианоз. Дыхание шумное, прерывистое с запахом сивушного масла. Смерть наступает в состоянии тяжелой комы.

При попадании в организм небольших количеств изоамилового спирта («самопальные зелья», самогон) наблюдается большая продолжительность опьянения, аномальное поведение, тяжелый и длительный постинтоксикационный синдром, интеллектуальная деградация, нарушение психики, двойное видение, глухота, бред.

При патологоанатомическом исследовании отмечают полнокровие внутренних органов, точечные кровоизлияния на слизистых и серозных оболочках, некротический гастрит, в головном мозге гемодинамические расстройства и дегенеративные изменения нервных элементов, запах сивушного масла от полостей.

Метаболизм амиловых спиртов. Амиловые спирты всасываются медленно, окисляются в печени и длительно выводятся. Продуктами метаболизма изоамилового спирта являются изовалериановый альдегид и изовалериановая кислота.



Объекты:

- кровь, почки, моча;
- желудок с содержимым, головной мозг;
- легкие, печень.

Для обнаружения **изоамилового спирта** используют метод газожидкостной хроматографии по соответствующим параметрам удерживания (методика описана в разделе 9.1). При отсутствии на хроматограмме пика с временем удерживания, соответствующим времени удерживания **изоамилнитрита**, анализ прекращают и делают вывод о не обнаружении в объекте **изоамилового спирта**. При обнаружении пика на хроматограмме с соответствующим временем удерживания подтверждают наличие **изоамилового спирта** химическим методом.

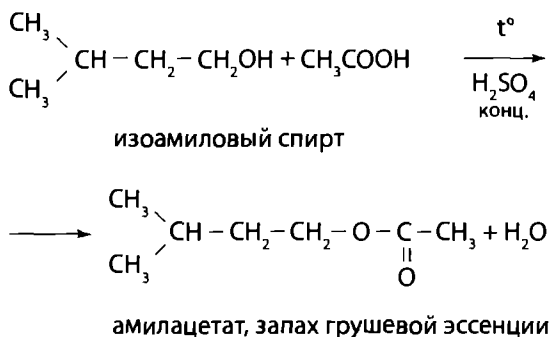
Из **химических реакций** используют реакцию с **салициловым альдегидом**, получение сложного эфира с **уксусной кислотой** и реакцию окисления до **изовалерианового альдегида** и **изовалериановой кислоты**.

Все реакции на **изоамиловый спирт** дают положительный эффект только при отсутствии воды или при наличии ее в небольших количествах в реакционной смеси. Поэтому перед выполнением реакций на **изоамиловый спирт** его экстрагируют из дистиллята **диэтиловым эфиром**. Эфирную вытяжку делят на части, каждую из которых испаряют и с полученным остатком проводят соответствующие реакции.

Реакция с салициловым альдегидом (или ванилином). К остатку после испарения эфира в фарфоровой чашечке прибавляют 1 мл 1% спиртового раствора **салицилового альдегида** (или **ванилина**) и 3 мл концентрированной **серной кислоты**. Содержимое переносят в пробирку, помещают на 3 минуты в кипящую водяную баню – появляется розово-красное окрашивание. При значительных количествах **изоамилового спирта** окраска может появиться без нагревания.

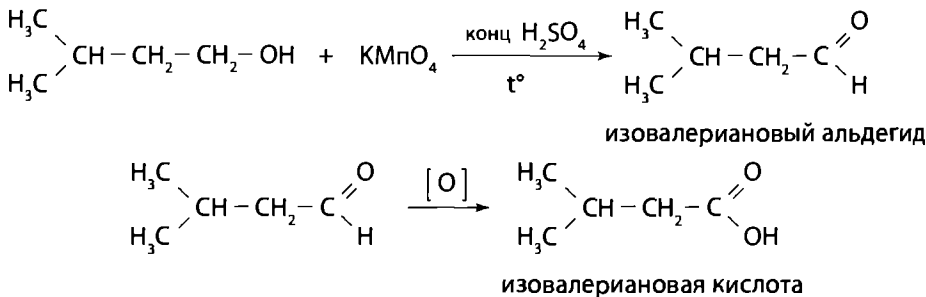
Оценка. Реакция неспецифична. Предел обнаружения составляет 1,5 мг **изоамилового спирта** в остатке. Имеет судебно-химическое значение при отрицательном результате.

Реакция получения сложного эфира с уксусной кислотой. К остатку добавляют 1 мл воды и до насыщения сухой ацетат натрия. Полученный раствор смешивают с 2 мл концентрированной **серной кислоты** и тщательно перемешивают. Смесь осторожно нагревают и после охлаждения выливают в 20-кратный объем воды очищенной. Ощущают характерный запах **грушевой эссенции**.



Оценка. Реакция обладает высокой чувствительностью, но не специфична. Является подтверждающей.

Реакция окисления до изовалерианового альдегида и изовалериановой кислоты. К остатку добавляют 1 мл воды очищенной, несколько капель концентрированного раствора **перманганата калия**, 1 мл концентрированной **серной кислоты** и тщательно перемешивают. Смесь нагревают на кипящей водяной бане 1–2 мин. Ощущают слабый приятный запах **изовалерианового альдегида**, а затем неприятный запах (гнилого сыра) **изовалериановой кислоты**.



Оценка. Реакция обладает высокой чувствительностью, с ее помощью можно обнаружить до 0,11 мг изоамилового спирта в остатке. Имеет подтверждающее значение.

Количественное определение изоамилового спирта проводится с помощью газожидкостной хроматографии по методике, описанной в разделе 9.3. Расчет концентрации изоамилового спирта проводят методом внутреннего стандарта (пропиловый спирт), используя калибровочный график или калибровочный коэффициент.

9.4.6. Алкилгалогениды

Из группы алкилгалогенидов токсикологическое значение имеют хлороформ, четыреххлористый углерод и хлоралгидрат.

Хлороформ – бесцветная тяжелая жидкость с характерным запахом и сладким жгучим вкусом. Он малорастворим в воде, смешивается во всех отношениях с безводным спиртом, эфиром. Температура кипения – 59,5–62°C, плотность – 1,498 при 15°C. Под влиянием света, влаги, воздуха, температуры хлороформ способен постепенно разлагаться с образованием фосгена, муравьиной и хлороводородной кислот.

Токсикологическое значение. Хлороформ – это один из первых препаратов, предложенных в качестве средства для наркоза (общей анестезии). С середины XIX столетия он широко применялся в анестезиологии. Было установлено, что хлороформ обладает высокой токсичностью, может вызвать нарушение сердечного ритма, дистрофические изменения в миокарде, цирроз и атрофию печени. Когда медицина пополнилась новыми средствами и методами общего обезболивания, хлороформ был исключен из номенклатуры средств для наркоза (1985 г.)

В настоящее время хлороформ применяют в медицинской практике наружно, основываясь на его раздражающем влиянии на кожу. Его используют в смеси с метилсалицилатом, скипидаром и другими средствами. Редко хлороформ назначают при рвоте, икоте (с настойкой валерианы), а также в виде специальной «Противодымной смеси» при поражении дыхательных путей раздражающими арсинами. Применяют также «Линимент хлороформный сложный». Он содержит 50 г хлороформа и масла беленного (или дурманного) и используется для растираний. Хлороформ является хорошим растворителем для приготовления лаков, эфиров, экстрагентом для извлечения алкалоидов из растительного сырья.

На организм хлороформ оказывает наркотическое действие. Вначале он возбуждает, а затем парализует ЦНС. Он является сильным ядом для сердца и сосудов. При попадании в желудок 5–10 г хлороформа возникают тяжелые признаки отравления, которые сопровождаются сильными болями, рвотой за счет снижения кишечной перистальтики. Хлороформ нарушает деятельность печени и вызывает жировую дегенерацию, угнетающе действует на почки. Смертельной дозой считают 50–70 г хлороформа. Причиной смерти является паралич дыхательного центра, которому предшествует тяжелое периодическое дыхание Чейна–Стокса. При вскрытии погибших наблюдают дистрофические изменения во внутренних органах, особенно в печени.

Четыреххлористый углерод – это бесцветная негорючая жидкость, напоминающая по запаху хлороформ. Четыреххлористый углерод практически нерастворим в воде,

хорошо смешивается с безводным этиловым спиртом, эфиром. Температура кипения 75,5–77,5°C. При его соприкосновении с открытым пламенем или раскаленными предметами он разлагается до фосгена и других ядовитых соединений. Относительная плотность 1,595.

Токсикологическое значение. Четыреххлористый углерод применяется в промышленности как хороший растворитель лаков, восков, смол, каучука, полимеров, битума, для экстрагирования жиров, для заправки огнетушителей, для чистки спецодежды, обезжиривания металлических деталей. Он используется в качестве консерванта при обработке меха

Четыреххлористый углерод поступает в организм при вдыхании его паров (профессиональные отравления), всасывается через неповрежденную кожу и через ЖКТ (обычно в состоянии алкогольного опьянения вследствие ошибочного приема). Тяжелые отравления наблюдаются при любом пути поступления в организм. Смертельная доза четыреххлористого углерода составляет 15–50 мл.

На организм четыреххлористый углерод оказывает наркотическое действие. Оно проявляется возбуждением и незначительной эйфорией. Эти явления сменяются головной болью, головокружением, многократной рвотой, повышением температуры тела, жидким стулом с примесью крови. Затем наступает анурия, нарушается выделительная, концентрационная функция почек, и появляется острая сердечно-сосудистая недостаточность

За счет липотропности четыреххлористый углерод накапливается в содержащих жир тканях, нарушает их функцию и структуру, поражает в наибольшей степени печень. Он влияет на внутриклеточный и общий обмен, что приводит к тяжелым дистрофическим изменениям в печени, почках, сердце, легких и других органах, тяжелому течению отравления и смертельному исходу.

При патологоанатомическом исследовании погибших отмечают полнокровие внутренних органов, мелкоточечные кровоизлияния в слизистых, в головном мозге, миокарде, почках, отеки, некрозы слизистых оболочек желудка и тонких кишок. Важным является наличие кристаллов розетковидной формы в почках, подобных тем, которые обнаруживают при отравлении этиленгликолем, что имеет большое значение при дифференциальной диагностике с отравлением дихлорэтаном и другими хлорированными углеводородами.

В случае ингаляционных отравлений наблюдается токсический отек легких, острая эмфизема.

Хлоралгидрат (гидрат трихлорацетальдегида) – это бесцветные прозрачные кристаллы или мелкокристаллический порошок (температура плавления 51,4°C) с характерным острым запахом и слегка горьковатым своеобразным вкусом. Гигроскопичен. Он легкорастворим в воде и спирте. На воздухе медленно улетучивается.

Токсикологическое значение. Хлоралгидрат обладает успокаивающим и анальгезирующим действием. В больших дозах, близких к токсическим, оказывает наркотическое действие. В малых дозах хлоралгидрат ослабляет тормозные процессы в ЦНС, в больших – процессы возбуждения, в токсических дозах сильно угнетает возбудимость нервных клеток. Хлоралгидрат способен быстро всасываться. При приеме 1–2 г препарата сон наступает через 15–20 мин и продолжается 6–8 ч.

В медицинской практике применяют хлоралгидрат внутрь или вводят в клизмах вместе с обволакивающими веществами, чтобы предотвратить раздражающее действие на слизистую оболочку желудка и кишечника. Хлоралгидрат используют при психическом возбуждении и как противосудорожное средство при спазмофилии, столбняке, а у детей – для интенсивной терапии судорожного состояния. Хлоралгидрат входит в состав зубных капель «Дента».

Известны случаи криминальных отравлений хлоралгидратом путем добавления его в пиво, спиртные напитки в виде 50–60% растворов.

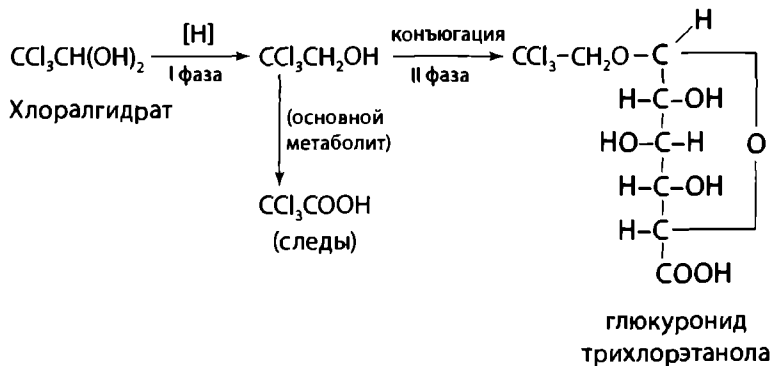
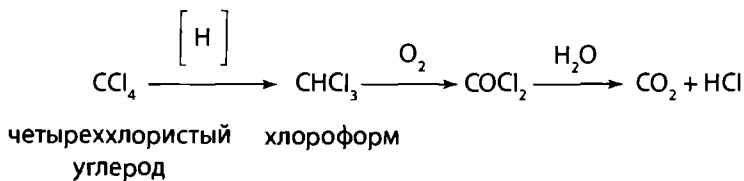
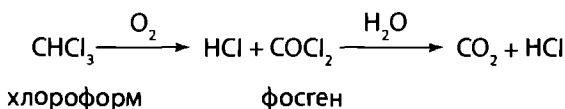
Острое отравление (дозы свыше 5 г) проявляется глубоким наркозом, сосудорасширяющим действием, падением кровяного давления и температуры, цианозом, поверхност-

ным дыханием Зрачки сужаются, и через несколько часов наступает смерть от паралича дыхательного центра

При длительном применении возможно привыкание, сопровождающееся признаками хронического отравления В далеко зашедшей стадии наступает паренхиматозная дегенерация печени и почек После прекращения приема хлоралгидрата проявляются синдромы, напоминающие «белую горячку»

Пути метаболизма алкилгалогенидов

Метаболизм хлороформа протекает с образованием фосгена, затем оксида углерода(IV) и хлороводородной кислоты. Четыреххлористый углерод может восстанавливаться вначале до хлороформа, и далее окисление идет, как и у хлороформа. Хлоралгидрат восстанавливается до трихлорэтанола, который связывается с глюкуроновой кислотой. Все метаболиты выводятся почками



Объекты анализа:

- сальник, головной мозг, желудок с содержимым,
- печень, почки,
- легкие, кровь, моча

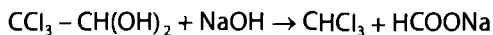
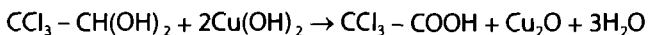
Обнаружение алкилгалогенидов

Для обнаружения алкилгалогенидов в дистилляте используют метод газожидкостной хроматографии (основной) и характерные для алкилгалогенидов химические реакции (подтверждающие)

Метод газожидкостной хроматографии при обнаружении алкилгалогенидов проводится с использованием парофазного анализа по методике, описанной в разделе 9.2, на 2 или 4 хроматографических колонках. При отсутствии на хроматограммах пика, соответствующего по времени удерживания хлороформу, хлоралгидрату или четыреххлори-

Оценка Реакция неспецифична, является подтверждающей. С ее помощью можно обнаружить 0,25–0,3 мг хлороформа и хлоралгидрата и 4,5 мг четыреххлористого углерода в 1 мл дистиллята.

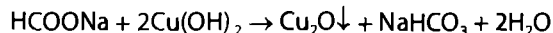
Реакция восстановления гидроксида меди(II) в оксид меди(I). К 2 мл дистиллята добавляют 4 мл 10% раствора гидроксида натрия и 2–3 капли раствора сульфата меди(II). Смесь осторожно нагревают на водяной бане – наблюдают образование желтого осадка, переходящего в кирпично-красный. Хлоралгидрат частично окисляется гидроксидом меди(II) до трихлоруксусной кислоты, частично разлагается до хлороформа и формиата натрия.



Хлороформ при нагревании с щелочью образует формиат и хлорид натрия.



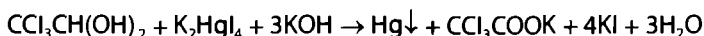
Формиат натрия обладает восстановительными свойствами и восстанавливает медь(II) до меди(I).



Положительный результат реакции (образование желтого, а затем красного осадка) наблюдается, если в дистилляте присутствуют хлороформ или хлоралгидрат.

Четыреххлористый углерод при нагревании с щелочью образует углекислый газ и воду. Поэтому восстановления гидроксида меди(II) в гидроксид меди(I) не происходит.

Реакция с реактивом Несслера. К 1 мл дистиллята прибавляют реактив Несслера и перемешивают. В присутствии хлоралгидрата наблюдают осадок кирпично-красного цвета, переходящий в грязно-зеленый.



Реакция чувствительна и характерна только для хлоралгидрата. Хлороформ и четыреххлористый углерод эту реакцию не дают.

Количественное определение алкилгалогенидов

Метод газожидкостной хроматографии. Условия определения описаны в разделе 9.2. Внутренним стандартом является н-пропанол. В процессе проверки и калибровки прибора (хроматографа) на разных концентрациях хлороформа, хлоралгидрата и четыреххлористого углерода определяют калибровочные коэффициенты по формуле (раздел 9.3), а затем рассчитывают концентрацию каждого алкилгалогенида.

Аргентометрический метод (М.Д.Швайкова).

Навеску исследуемого материала подкисляют винной или щавелевой кислотой и подвергают перегонке с водяным паром. Перегонку считают законченной, когда капля дистиллята не дает реакции на изонитрильную пробу. Далее проводят отщепление хлора в специальном приборе (рис. 80).

Дистиллят помещают в колбу 1, добавляют избыток 10% раствора алкоголята натрия и нагревают в течение часа с обратным холодильником. Колбы 4 и 5 являются предохранительными и содержат спиртовой раствор щелочи. После

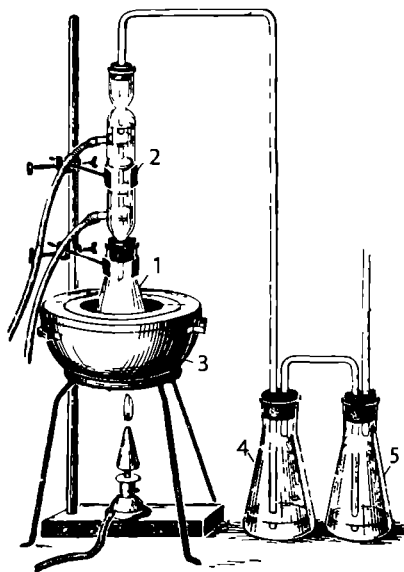


Рис. 80. Прибор для отщепления органически связанного хлора. 1 – колба с дистиллятом, 2 – шариковый холодильник, 3 – водяная баня, 4–5 – колбы со спиртовым раствором гидроксида натрия

окончания нагревания по 1–2 мл содержимого из колб 4 и 5 нагревают, охлаждают, подкисляют 10% раствором азотной кислоты и испытывают на хлориды с раствором нитрата серебра. В случае положительных реакций содержимое предохранительных колб смешивают с основным раствором, в случае отрицательных – отбрасывают. Затем из жидкости осторожно отгоняют спирт и проводят количественное определение хлоридов по методу Фольгарда.

9.4.7. Ацетон (пропанон, диметилкетон)

Ацетон – бесцветная подвижная жидкость с характерным запахом. С воздухом образует взрывоопасную смесь. Смешивается с водой, этиловым спиртом и диэтиловым эфиром во всех соотношениях. Из водных растворов ацетон способен высаливаться хлоридами натрия и кальция, карбонатом натрия с разделением жидкости на 2 слоя. Температура кипения равна 56,3°C. Ацетон хорошо растворяет лаки, различные органические вещества, целлюлозу.

Токсикологическое значение. Ацетон используется в промышленности как растворитель в производстве негорючих киноплёнок, ацетатного искусственного шелка, в лакокрасочной промышленности, как желатинизатор в производстве пороха, для перекристаллизации химических соединений и т.д. Ацетон в небольших количествах содержится в норме в моче и крови человека (0,7–0,8 мг%). При нарушении обмена веществ в организме концентрация ацетона может достигнуть в суточном объеме мочи до 20–30 мг. Это характерно для людей, больных сахарным диабетом и некоторыми другими заболеваниями.

Пары ацетона тяжелее воздуха, поэтому при работе с ним возможны ингаляционные отравления. Такие острые отравления редки, так как для проявления токсического эффекта нужны высокие концентрации ацетона в крови. Накопление ацетона в крови протекает крайне медленно (Н.В.Лазарев).

Основное судебно-медицинское значение имеет поступление в организм ацетона через ЖКТ по неосторожности или в состоянии алкогольного опьянения.

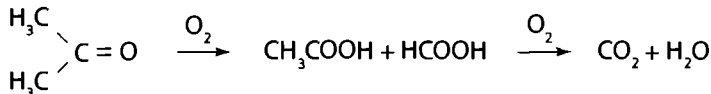
Ацетон оказывает наркотическое действие на организм человека. Смертельной дозой ацетона считается 60–75 мл. Такая доза приводит к возникновению длительно протекающего отравления со скрытым периодом до суток и более. Прием 80–100 мл характеризуется быстрой тяжелой интоксикацией с потерей сознания и развитием комы. При приеме ацетона вместе с некоторыми органическими и хлорорганическими соединениями токсичность усиливается за счет образования хлорацетона и бромацетона, обладающих сильными ядовитыми свойствами. Токсическое действие ацетона усугубляется из-за медленного выведения его из организма.

Действие ацетона на организм проявляется в поражении ЦНС, угнетении окислительных процессов, развитии анемии. При приеме внутрь наблюдается тошнота, рвота, боли в животе, потеря сознания, цианоз кожи и слизистых, отсутствие основных рефлексов, тахикардия, сужение зрачков и отсутствие их реакции на свет, повышение артериального давления, запах ацетона изо рта.

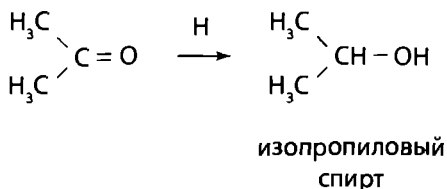
При патологоанатомическом исследовании погибшего обнаруживают полнокровие внутренних органов, единичные кровоизлияния, отек легких, темную «дегтеобразную» кровь в полостях сердца и крупных сосудов. При пероральном приеме ацетона наблюдаются участки некроза в слизистой желудка и начальных отделах кишечника, дистрофические изменения паренхиматозных органов, некротический нефроз, жировая дистрофия в печени, запах ацетона от полостей трупа, органов и содержимого желудка.

Метаболизм ацетона. Ацетон в организме окисляется до оксида углерода(IV) и восстанавливается до изопропанола, частично в неизменном состоянии выводится с мочой, через кожу и с выдыхаемым воздухом.

окисление



восстановление



Объекты анализа:

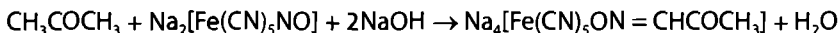
- остатки жидкости в стаканах, емкостях, флаконах с запахом ацетона, найденные на месте происшествия;
- кровь, моча;
- желудок с содержимым;
- головной мозг, легкое;
- печень, селезенка.

Для обнаружения ацетона используют метод газожидкостной хроматографии (основной) и характерные подтверждающие химические реакции.

Метод газожидкостной хроматографии. Обнаружение проводят на 2 или 4 хроматографических колонках по методикам, описанным в разделе 9.2. На хроматограммах обнаруживают пик, который по времени удерживания должен соответствовать ацетону-стандарту

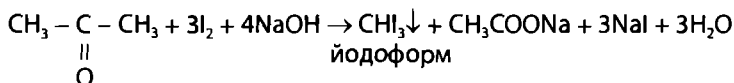
При получении соответствующего пика наличие ацетона в исследуемом объекте подтверждают химическим методом. Для обнаружения ацетона используют реакции с нитропруссидом натрия, образования йодоформа и реакцию с фурфуролом.

Реакция с нитропруссидом натрия. К 1 мл дистиллята добавляют 1 мл 10% раствора гидроксида натрия и 5 капель 1% раствора нитропруссид натрия. Наблюдают появление оранжево-красного окрашивания, которое при добавлении 10% раствора уксусной кислоты переходит в красно-фиолетовое, а затем в вишнево-красное.



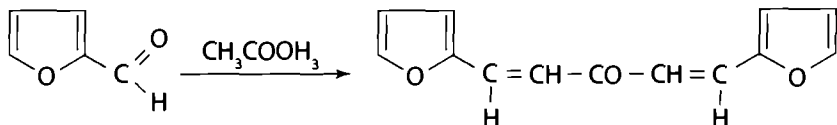
Оценка Реакция чувствительна, неспецифична, имеет судебно-химическое значение при отрицательном результате.

Реакция образования йодоформа. К 1 мл дистиллята добавляют 1 мл 10% раствора гидроксида натрия и по каплям 1% раствор йода в йодиде калия до сохраняющегося слабо-желтого окрашивания. Ощущают характерный запах и наблюдают образование желтого осадка йодоформа.



Оценка Реакция чувствительна, она позволяет обнаружить 0,1 мг ацетона в 1 мл раствора. Реакция неспецифична (она характерна также для этилового спирта), ей можно придать судебно-химическое значение при отрицательном результате.

Реакция с фурфуролом. К 1 мл дистиллята добавляют 5 капель 1% раствора фурфурола в этиловом спирте (96%) и 3 капли 10% раствора гидроксида натрия. Через 5 мин к этой жидкости прибавляют 10 капель концентрированной хлороводородной кислоты. Наблюдают появление красного окрашивания.



Оценка. Реакция неспецифична, является подтверждающей.

Количественное определение ацетона. Определение содержания ацетона в объекте проводится с помощью газожидкостной хроматографии, а также с использованием титриметрического метода.

Газожидкостная хроматография проводится в условиях, описанных в разделе 9.2. Для расчета количества ацетона в исследуемом объекте используют метод внутреннего стандарта, в качестве которого рекомендован н-пропанол. При калибровке хроматографа определяют калибровочный коэффициент на разных концентрациях ацетона. Калибровочный коэффициент используют при расчетах количественного содержания ацетона в объекте (см. раздел 9.3).

Титриметрический метод основан на реакции образования йодоформа при взаимодействии ацетона в щелочной среде с йодом. Избыток йода после подкисления титруют 0,1 М раствором тиосульфата натрия в присутствии индикатора – крахмала.

9.4.8. Фенол (карболовая кислота)

Фенол – это бесцветные тонкие длинные игольчатые кристаллы или бесцветная кристаллическая масса со своеобразным запахом. На воздухе постепенно розовеет. С водой фенол образует смесь, содержащую 90% фенола и 10% воды, которая на воздухе буреет. Фенол растворим в воде (1:20), легко растворим в спирте, эфире, хлороформе, жирных маслах, растворах едких щелочей.

В медицинской практике фенол используют как сильное бактерицидное средство. Применяют фенол в виде 3–5% растворов для дезинфекции предметов домашнего обихода, инструментов, белья, выделений и т.д. В целях дезинсекции применяют фенольно-керосиновые, фенольно-скипидарные и иные смеси. Иногда фенол назначают при кожных заболеваниях, при воспалении среднего уха.

В фармации фенол используют для консервирования лекарственных средств, сырьевых и свечей. Фенол оказывает на кожу и слизистые оболочки раздражающее и прижигающее действие. Он легко всасывается. Известны препараты фенола: «Фенол чистый жидкий» состоит из 10 частей кристаллического фенола и 1 части воды, «Фукорцин» – раствор, содержащий борную кислоту, фенол, резорцин, ацетон, фуксин основной, этиловый спирт и воду. Оба препарата предназначены для наружного применения как антисептическое и противогрибковое средство.

Отравления фенолом в настоящее время встречаются редко (чаще всего случайные или суицидальные). Фенол проникает в организм через кожу, при вдыхании паров, через ЖКТ. Действие фенола проявляется быстро и в резкой форме. Смертельная доза – 1–3 г. По действию на организм фенол относится к числу нервно-протоплазматических ядов. Он действует на ткани, вызывая некроз, свертывает белки, отнимает воду и образует на месте контакта белые струпа, свертывает кровь. Разведенная карболовая кислота при попадании на кожу вызывает потерю чувствительности с появлением признаков гангрены. Фенол оказывает выраженное действие на ЦНС – возбуждая, а затем парализуя дыхательный центр. Большие дозы могут привести к смерти в течение нескольких минут.

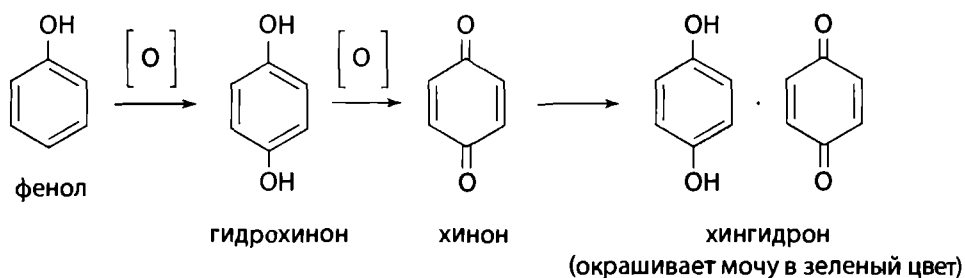
Тяжелое отравление при приеме фенола характеризуется жжением, болями по ходу пищевода, в желудке, рвотой с беловатыми хлопьевидными массами, цианозом, бледно-

стью, головокружением, затрудненным дыханием, судорогами (судорожное сведение челюстей), бессознательным состоянием и смертью. Моча отравленных окрашена в темно-зеленый цвет. Разведенная карболовая кислота проявляет токсическое действие в течение 1–2 дней.

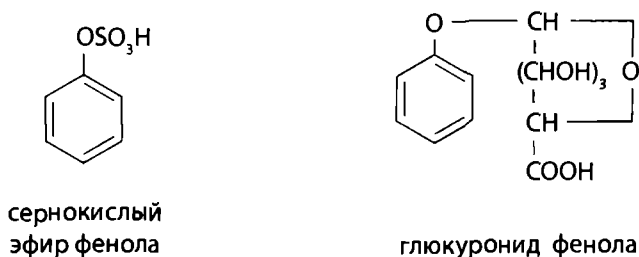
При вскрытии трупов ощущают запах фенола от полостей, слизистая оболочка рта, пищевода и желудка покрыта молочно-мутного цвета пятнами, жесткими на ощупь. Наблюдается белковое и жировое перерождение паренхиматозных органов, кровоизлияния во внутренних органах и тканях мозга.

Метаболизм фенола. Часть фенола в организме связывается с белками, часть подвергается окислению с образованием хинона, гидрохинона и хингидрона, который окрашивает мочу в зеленый цвет. Фенол и продукты его окисления во II фазе метаболизма образуют конъюгаты с серной и глюкуроновой кислотами.

I фаза – окисление



II фаза – конъюгация с серной и глюкуроновой кислотами



При этом количество естественно содержащихся сульфатов в моче людей, отравленных фенолом, резко уменьшается (при добавлении к моче раствора хлорида бария наблюдается образование едва заметного осадка сульфата бария). После проведения соляно-кислого гидролиза такой мочи и при повторном добавлении раствора хлорида бария наблюдают образование обильного белого осадка сульфата бария.

Объекты анализа:

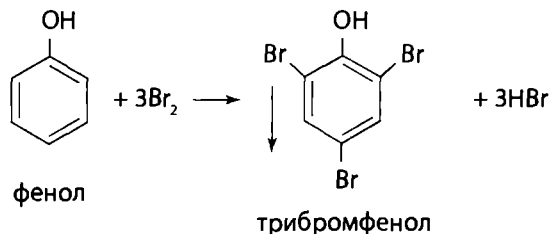
- почки, моча;
- печень, сердце;
- кровь, головной мозг.

Для обнаружения фенола в дистилляте используют химический метод.

Часть третьей порции дистиллята или ее смеси со второй порцией дистиллята нейтрализуют гидрокарбонатом натрия, чтобы связать летучие кислоты – молочную, бензойную, салициловую и др. в виде солей. Фенол с гидрокарбонатом натрия не реагирует. Затем дистиллят повторно извлекают малыми (по 10 мл) порциями диэтилового эфира. Извлечения объединяют и эфир испаряют при комнатной температуре. Остаток имеет вид

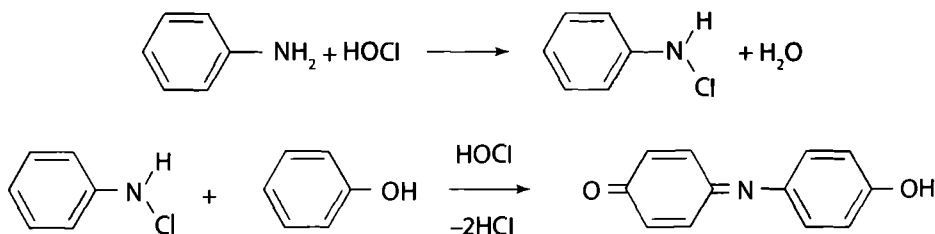
маслянистых капель с резким характерным запахом фенола. В результате повышается концентрация фенола в остатке. Вместе с эфиром улетучиваются одноатомные спирты, мешающие проведению некоторых реакций на фенол. Остаток растворяют в минимальном объеме воды очищенной и с полученным раствором проводят характерные химические реакции на фенол.

Реакция образования трибромфенола. К части раствора добавляют 4 капли насыщенного раствора бромной воды. Наблюдают появление желто-белого осадка.



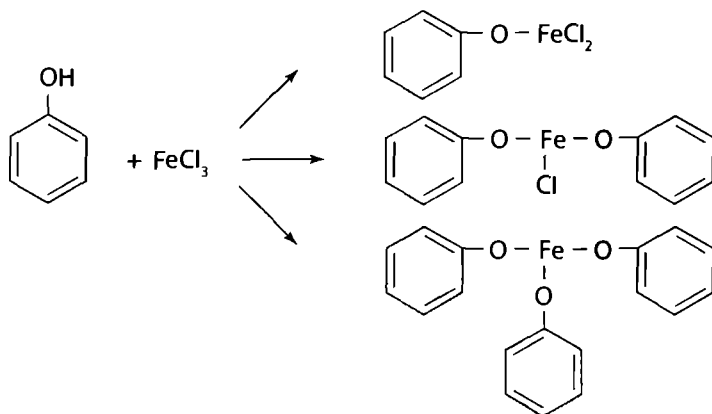
Оценка. Реакция отличается высокой чувствительностью, но она не специфична. С ее помощью можно обнаружить эндогенный фенол, образующийся в кишечнике под влиянием бактерий, особенно при анализе объектов, находящихся в состоянии гнилостного разложения. В токсикологической химии этой реакции придается значение при ее отрицательном результате для доказательства отсутствия фенола.

Реакция образования индофенола. К части раствора добавляют 1 мл 1% водного раствора анилина и 2 мл раствора хлорной извести. Наблюдают появление грязно-фиолетового окрашивания, которое при добавлении 10% раствора аммиака переходит в синее.



Оценка. Реакция является подтверждающей.

Реакция с хлоридом железа(III). К 1 капле раствора добавляют 1 каплю 5% раствора хлорида железа(III). Наблюдают появление сине-фиолетового окрашивания.

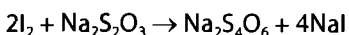
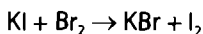


Оценка Реакция менее чувствительна (1:1000), чем реакция с бромной водой. Это дает возможность придать ей положительное значение, поскольку количество фенола, образующегося в трупном материале за счет гнилостных процессов, не достигает указанной концентрации.

Количественное определение фенола

Броматометрическое титрование. Метод используется при определении в дистилляте малых количеств фенола. После изолирования перегонкой с водяным паром дистиллят подщелачивают гидрокарбонатом натрия и экстрагируют эфиром. Эфир испаряют, остаток растворяют в воде очищенной и к жидкости или к определенной ее части добавляют бромид калия, титрованный раствор брома калия и хлороводородную кислоту.

Для определения избытка брома добавляют йодид калия и выделившийся йод оттитровывают раствором тиосульфата натрия. В качестве индикатора используют крахмал



9.4.9. Крезолы (метилфенолы, гидрокситолуолы)

Крезолы (орто-, мета- и пара-изомеры) – это бесцветные кристаллы или жидкости. Они хорошо растворимы в этиловом спирте, диэтиловом эфире, бензоле, хлороформе, ацетоне, в растворах щелочей с образованием фенолятов. Крезолы легко галоидируются, нитруются, сульфатируются, вступают в реакции конденсации. Крезолы являются слабыми кислотами. Источник их получения – крезольные фракции смол, образующихся при коксовании каменного угля, термической обработке горючих сланцев и пиролизе древесины.

Токсикологическое значение. Применяют крезолы при синтезе различных красителей, медицинских препаратов, взрывчатых веществ, дезинфицирующих средств. О-крезол является исходным сырьем для получения салицилового альдегида и салициловой кислоты.

Крезолы в организм могут попадать ингаляционным путем, всасываться через кожные покровы и через пищеварительный канал.

Токсическое действие крезолов проявляется в виде резкого раздражения и прижигающего действия. Затем наблюдаются образование пузырей на коже, отеки, гиперемия, поражение слизистых оболочек дыхательных путей и глаз. Симптомы отравления: головные боли, отрыжка, рвота, высокое кровяное давление, дрожание тела, увеличение выделения фенолов с мочой.

При смертельном отравлении крезолами слизистые оболочки рта, глотки, пищевода, желудка некротизированы, покрыты темно-серым, иногда черным налетом, складки сглажены, в паренхиматозных органах – дистрофические изменения, кровь в сосудах густая, черно-красная, в легких – пневмония, головной мозг и мозговые оболочки отечны с точечными кровоизлияниями.

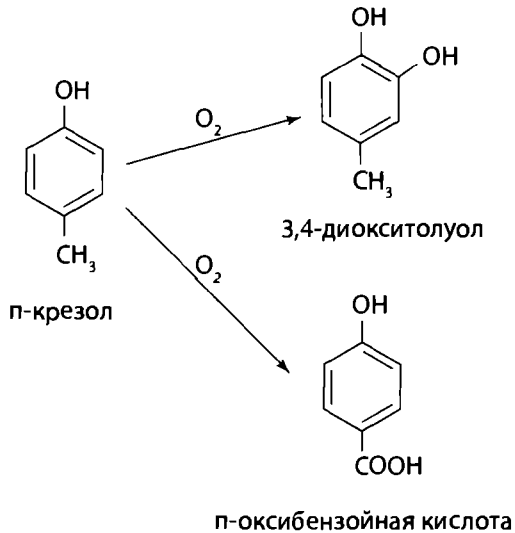
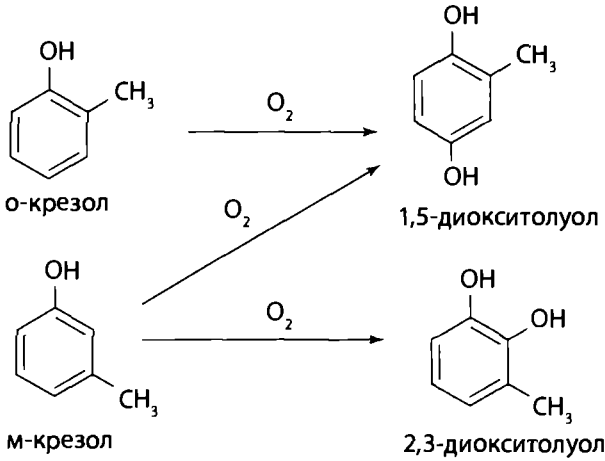
Пути метаболизма крезолов. Небольшое количество крезолов в организме подвергаются окислению. О-крезол и м-крезол образуют диокситолуолы, п-крезол превращается в 3,4-диокситолуол и п-оксибензойную кислоту. Метаболиты и крезолы выделяются из организма почками в виде конъюгатов с серной и глюкуроновой кислотами. Часть крезолов выделяется с выдыхаемым воздухом.

Объекты анализа:

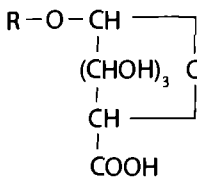
- почки, моча,
- печень, сердце,
- кровь, головной мозг

Для **изолирования крезолов** из объекта используют перегонку с водяным паром. Получают мутный дистиллят с резким удушливым запахом (крезолы малорастворимы в воде). Для **обнаружения крезолов** используют химические реакции, которые позволяют отличить их друг от друга и от фенола.

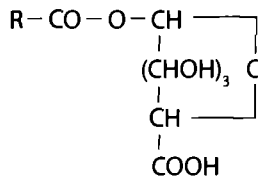
I фаза – окисление



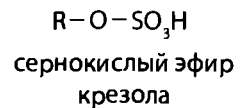
II фаза – конъюгация с серной и глюкуроновой кислотами



глюкуронид оксипроизводного
крезола



глюкуронид
p-оксибензойной
кислоты



Реакция Либермана. 1–2 капли раствора вносят в тигель и выпаривают досуха. К сухому остатку прибавляют каплю 1% раствора нитрита натрия в концентрированной серной кислоте. Через несколько минут смесь подщелачивают – появляется синее окрашивание, переходящее в красное, а затем в зеленое.

Эту реакцию дают фенол, о-крезол и м-крезол. В случае п-крезола эта реакция отрицательна.

Реакция с хлоридом железа(III). Методика проведения реакции описана ранее при описании обнаружения фенола.

О-крезол и п-крезол образуют синее окрашивание, м-крезол – красно-фиолетовое, фенол – фиолетовое окрашивание.

Реакция с реактивом Миллона. К исследуемому раствору добавляют каплю реактива Миллона (смесь нитратов ртути(I), (II) и азотистой кислоты). Сразу или после нагревания образуется красное окрашивание.

Эту реакцию дают о-, м-, п-крезолы и фенол.

Реакция с бензальдегидом. К исследуемому раствору добавляют 2 мл концентрированной серной кислоты и 1–2 капли бензальдегида. При нагревании смеси появляется темно-красное окрашивание, которое при добавлении щелочи переходит в сине-фиолетовое.

Эту реакцию дает фенол и о-крезол. Остальные крезолы окрашивания не образуют.

Индофенольная проба. Методика выполнения реакции описана в разделе по обнаружению фенола.

Эту реакцию не дает п-крезол.

Количественное определение крезолов проводят тем же методом, что и фенола.

9.4.10. Хлористый этилен (1,2-дихлорэтан)

Дихлорэтан – тяжелая бесцветная жидкость с запахом, напоминающим хлороформ. Температура кипения равна 83,7°C, плотность – 1,25. Дихлорэтан малорастворим в воде, хорошо растворяется в большинстве органических растворителей. Он стоек к действию кислот и щелочей. Воспламеняется с трудом. Технический дихлорэтан содержит примесь трихлорэтилена ($\text{Cl}-\text{CH}=\text{CHCl}_2$).

Токсикологическое значение. Дихлорэтан применяется в качестве растворителя в текстильной, лакокрасочной, фармацевтической промышленности. Он используется как растворитель жиров, восков, смол, парафинов, применяется для химчистки одежды от жировых пятен, для синтеза двухатомных спиртов, в пушном деле в качестве антисептика и инсектоfungицида.

В организм дихлорэтан может попасть ингаляционным путем, через кожные покровы и ЖКТ (ошибочный прием вместо спиртных напитков).

Отравления могут развиваться при любом пути попадания дихлорэтана в организм. Смертельной дозой дихлорэтана считают 30–40 мл, но известны случаи смерти после приема 5–10 мл.

В литературе имеются сведения о канцерогенном и тератогенном действии дихлорэтана.

При попадании в организм токсических доз дихлорэтана симптомы отравления нарастают очень быстро. При отсутствии медицинской помощи смерть может наступить в течение 1–2 суток. Дихлорэтан оказывает на организм наркотическое действие. Механизм токсического действия проявляется в несколько этапов. Вначале проявляется местное раздражающее действие, наблюдается токсический дихлорэтановый гастроэнтерит и некроз слизистых оболочек желудка и тонких кишок. Затем появляются тошнота, многократная рвота с примесью желчи и жидкий стул. Со стороны ЦНС наблюдаются головокружение, психомоторное возбуждение, судороги, коматозное состояние. Дихлорэтан накапливается в тканях, богатых жиром, что приводит к дистрофическим и некротическим изменениям.

Признаками отравления дихлорэтаном является сердечно-сосудистая недостаточность, которая сопровождается тахикардией и падением артериального давления, а также токсический гепатит и печеночно-почечная недостаточность.

Ингаляционные отравления характеризуются головокружением, общей слабостью, многократной рвотой, увеличением печени, болями в области сердца, гипотонией, судорогам, токсическим гепатитом и поражением почек.

При вскрытии трупов обнаруживают гемодинамические нарушения, жировое и белковое перерождение паренхиматозных органов. От полостей трупа и органов ощущается запах сушеных грибов.

Метаболизм дихлорэтана. В организме дихлорэтан подвергается дегалогенированию и окислению с образованием щавелевой кислоты, а затем оксалата кальция.



Исследование объекта на дихлорэтан проводится по специальным запросам судебно-следственных органов, судебно-медицинских экспертов или врачей на основании обстоятельств отравления или смертельного исхода.

Объекты анализа:

- сальник, головной мозг, желудок с содержимым;
- печень, почки;
- легкие, кровь, моча.

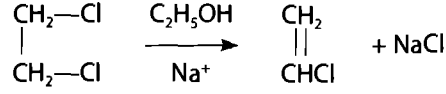
Для обнаружения дихлорэтана используется метод газожидкостной хроматографии (основной) и характерные химические реакции (подтверждающее исследование).

Газожидкостная хроматография проводится в условиях, описанных в разделе 9.2. Обнаружение основано на получении на хроматограмме пика, совпадающего со временем удерживания «стандарта» – дихлорэтана. При получении характерного для дихлорэтана пика на хроматограмме подтверждают его обнаружение химическим методом.

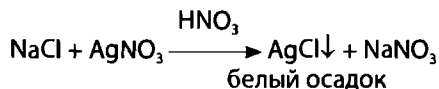
Химический метод обнаружения дихлорэтана. Дистиллят в процессе перегонки с водяным паром собирают в объеме 300 мл. Затем, используя колбу Вюрца, его повторно перегоняют и собирают 200 мл дистиллята, который дважды дефлегмируют, собирая 50, а затем 10 мл дистиллята, и исследуют ниже следующими реакциями.

Для обнаружения 1,2-дихлорэтана используют реакцию отщепления органически связанного хлора по методу А.В. Степанова и по методикам, предложенным В.А. Назаренко и Н.Б. Лапкиной с последующим обнаружением образующихся продуктов – хлор-иона, этиленгликоля, ацетилен.

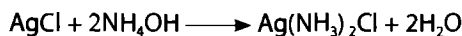
Реакция отщепления хлора. 1,2-дихлорэтан труднее отщепляет хлор по сравнению с другими хлорсодержащими соединениями (хлороформом и хлоралгидратом). А.В. Степановым предложено проводить реакцию в присутствии четырехкратного объема этилового спирта и металлического натрия.



Хлорид-ион обнаруживают по реакции с нитратом серебра (в среде азотной кислоты).



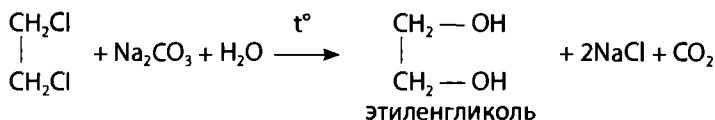
При добавлении раствора аммиака осадок растворяется.



Оценка. Реакция чувствительна, неспецифична, имеет судебно-химическое значение при отрицательном результате.

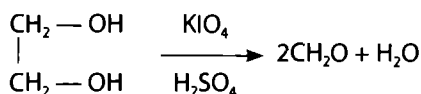
Отщепление хлора по методу В. А. Назаренко и Н. Б. Лапкиной.

1-й вариант. В ампулу помещают 0,5 мл дистиллята и добавляют 0,5 мл 10% раствора карбоната натрия. Ампулу запаивают и нагревают на кипящей водяной бане в течение 1–4 ч. В ампуле создается повышенное давление.



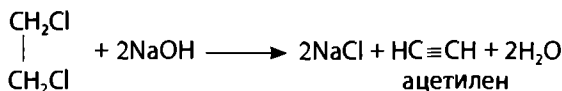
После охлаждения к содержимому ампулы добавляют 10% раствор азотной кислоты до кислой реакции и 3–5 капель 1% раствора нитрата серебра – наблюдают образование белого творожистого осадка.

Для обнаружения этиленгликоля его окисляют периодатом калия в среде серной кислоты до формальдегида. К содержимому ампулы по каплям прибавляют 10% раствор серной кислоты до кислой реакции по лакмусу. Затем прибавляют 2 капли 5% раствора периодата калия в 1 М растворе серной кислоты.

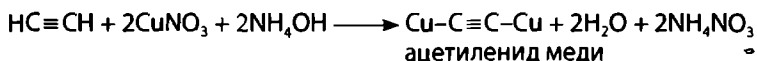


Через 5 минут наличие формальдегида определяют при помощи реакций с фуксинсернистой или хромотроповой кислотами (см. раздел 9.4.2).

2-й вариант. В ампулу помещают 0,5 мл дистиллята и добавляют 0,5 мл 30% раствора гидроксида натрия. Ампулу запаивают и нагревают на кипящей водяной бане в течение 1–4 ч. При создавшемся повышенном давлении происходит отщепление двух атомов хлора с образованием ацетилена.



К полученной жидкости прибавляют 2 капли свежеприготовленного аммиачного раствора соли меди(I). Появляется розовое или красно-фиолетовое окрашивание (ацетиленид меди).



Хлорид-ион можно обнаружить по реакции с нитратом серебра.

Оценка. Предел обнаружения реакции по 1 варианту отщепления хлора – 0,4 мг дихлорэтана в водном растворе при разбавлении 1:1200, по второму варианту – 0,25 мг при разбавлении 1:2000.

Дистиллят, содержащий дихлорэтан, не дает реакций, которые являются характерными для алкилгалогенидов – хлороформа, хлоралгидрата, четыреххлористого углерода (не образует изонитрил, не обладает способностью восстанавливать гидроксид меди(II) в гидроксид меди(I), не образует окрашенного соединения при нагревании с резорцином в щелочной среде).

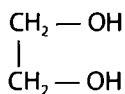
Количественное определение 1,2-дихлорэтана. Для количественного определения дихлорэтана в исследуемом объекте используется метод газожидкостной хроматографии и метод аргентометрического титрования.

Газо-жидкостная хроматография проводится по методике, предложенной В.А.Мишхиным. В качестве внутреннего стандарта используют *n*-пропиловый спирт. Анализ ведут в парофазном варианте. Расчет количества дихлорэтана проводят, используя калибровочный коэффициент, который определяют при калибровке газового хроматографа на растворах дихлорэтана разной концентрации. Можно вести расчет по калибровочному графику, выражающему зависимость концентрации исследуемого вещества от соотношения высот пиков обнаруженного вещества и пика «стандарта» – *n*-пропилового спирта (см. раздел 9.3).

Аргентометрическое титрование проводят после отщепления органически связанного хлора по методу М.Д.Швайковой с металлическим натрием в присутствии 4-кратного избытка этилового спирта в специальном приборе. В этих условиях определяется около 50% хлоридов от расчетного количества (см. раздел 9.4.6, рис. 80).

9.4.11. Этиленгликоль

Этиленгликоль относится к двухатомным спиртам жирного ряда. Это бесцветная, сиропообразная нелетучая жидкость без запаха, сладковатого вкуса. Температура кипения +195°C. Температура замерзания – 40°C. Этиленгликоль хорошо смешивается во всех отношениях с водой, хорошо растворяется в этиловом спирте, глицерине, бензоле, жирах.



Токсикологическое значение. Этиленгликоль применяется в фармацевтической, текстильной, кожевенной, табачной промышленности. Его используют при производстве чернил, целлофана, синтетических тканей, для растворения красок и т.п. Важным свойством этиленгликоля является способность понижать температуру замерзания воды. Его применяют в виде 50–60% растворов в качестве охлаждающей и незамерзающей жидкости для двигателей в зимнее время.

Этиленгликоль может поступать в организм через пищеварительный канал и кожу. Судебно-медицинское значение имеет пероральный путь поступления.

Отравления этиленгликолем и содержащими его жидкостями часто встречаются в практике химико-токсикологического анализа в связи с применением его вместо спиртных напитков. Смертельной дозой считается 100–150 мл, но зафиксированы случаи гибели при приеме 25–30 мл.

Этиленгликоль по характеру действия на организм относят к числу нервно-сосудистых и нервно-плазматических ядов. Течение отравления можно определить тремя периодами:

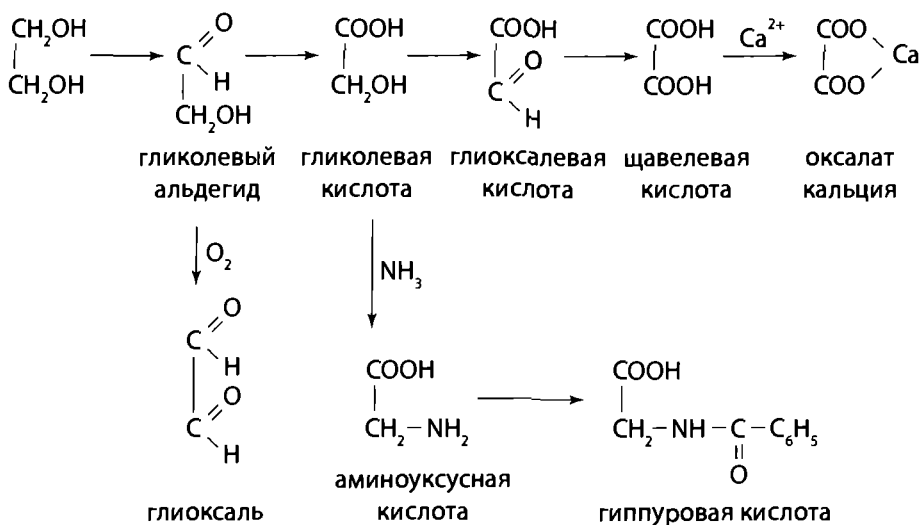
- Рефлекторный, скрытый период, он длится 4–12 ч. Вначале наблюдается легкое опьянение (действует неизменная молекула этиленгликоля). Затем возникают сильное недомогание, головная боль, нарушение координации движений, тошнота, рвота, боли в животе.
- Мозговая стадия, она длится 2–3 дня. В этой стадии проявляет токсическое действие на организм метаболит этиленгликоля диальдегид глиоксаль и преобладают

симптомы поражения ЦНС (потеря сознания, возбуждение, депрессия, коматозное состояние). В этой стадии может наступить смерть.

- Почечно-печеночная стадия, длится в течение 10–11 дней. Эта стадия характерна для тяжелого отравления. Больные умирают на 12–14-й день после приема этиленгликоля от острой почечной и печечно-печеночной недостаточности, токсической дистрофии печени, анурии, изотермической уремии, кровоизлияния в мозг и паралича сердца. В осадке мочи обнаруживаются кристаллы оксалатов.

Патологоанатомическая картина характеризуется резким кровенаполнением сосудов головного мозга, мелкими кровоизлияниями, деструкцией ткани мозга (у погибших во втором периоде отравления) У погибших в 3 периоде отравления отмечают увеличение массы почек, их капсула спаяна с паренхимой, в просвете канальцев – кристаллы оксалата кальция.

Метаболизм этиленгликоля. В метаболизме этиленгликоля преобладают стадии окисления спиртовых гидроксильных групп. Конечными продуктами метаболизма являются щавелевая, аминокислотная и гиппуровая кислоты.



Объекты анализа:

- жидкости, содержащие этиленгликоль;
- желудок с содержимым;
- мозг, печень;
- почки, моча.

Исследование на этиленгликоль проводится по специальным запросам судебно-следственных органов или судебно-медицинских экспертов.

Этиленгликоль – почти нелетучая жидкость. При целенаправленном анализе этиленгликоль выделяют из объектов по методу, предложенному Н.Б.Лапкиной и В.А.Назаренко в специальном аппарате (рис. 81).

Для **изолирования этиленгликоля** к 10 г печени или содержимого желудка добавляют 5 г кристаллической щавелевой кислоты и растирают. Смесь переносят в круглодонную колбу вместимостью 100 мл и прибавляют 50 мл бензола. Колбу соединяют с обратным холодильником, снабженным приспособлением для улавливания конденсата. Затем колбу устанавливают на водяной бане и нагревают. Пары бензола и увлекаемые им вода и этиленгликоль конденсируются в холодильнике и попадают в специальное приспособление.

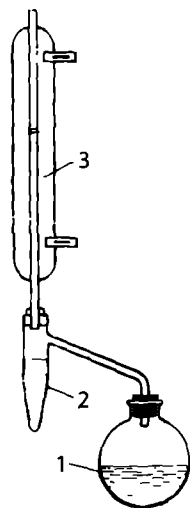
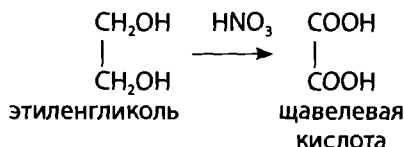
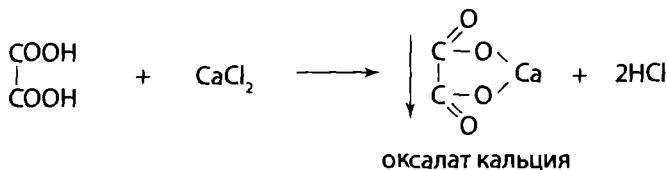


Рис. 81. Аппарат для изолирования этиленгликоля 1 – круглодонная колба с объектом и бензолом; 2 – приспособление для улавливания воды; 3 – вертикальный холодильник.

Часть дистиллята смешивают с концентрированной азотной кислотой и выпаривают досуха. В остатке образуется щавелевая кислота.



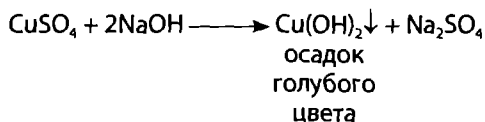
При добавлении соли кальция появляется белый осадок оксалата кальция.



Под микроскопом кристаллы оксалата кальция имеют характерную форму, напоминающую почтовые конверты.

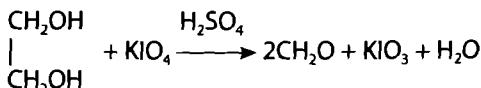
Обнаружение этиленгликоля в технических жидкостях (антифризах, тормозных жидкостях)

Реакция образования гликолята меди. К части анализируемой жидкости добавляют избыток 10% раствора гидроксида натрия и по каплям 10% раствор сульфата меди – образуется гидроксид меди, который растворяется в присутствии этиленгликоля с образованием раствора, окрашенного в синий цвет.



Поскольку в этом приспособлении (насадке) бензол (плотность 0,879) находится сверху воды, он может стекать обратно в колбу, а вода и находящийся в ней этиленгликоль остаются в насадке. Этот раствор исследуют реакциями на этиленгликоль.

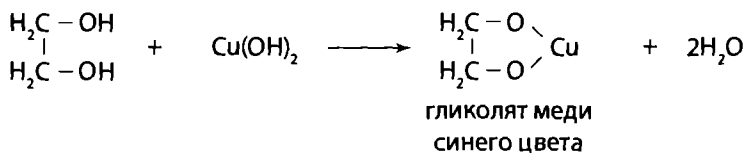
Реакция окисления этиленгликоля до формальдегида. К 3–5 мл дистиллята добавляют 5 капель 12% раствора серной кислоты, 5 капель 5% раствора периодата калия в 5% растворе серной кислоты и взбалтывают. Этиленгликоль окисляется до формальдегида.



этиленгликоль

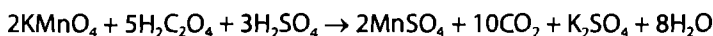
Через 5 мин добавляют 3–5 капель раствора сернистой кислоты и 4 капли раствора фуксинсернистой кислоты для обнаружения образовавшегося формальдегида. Наблюдают синее или синефиолетовое окрашивание.

Реакция окисления этиленгликоля до щавелевой кислоты.



Вторым испытанием для определения этиленгликоля в жидкостях является окисление его до щавелевой кислоты и дальнейшее ее определение по следующим реакциям.

- Образование кристаллов оксалата кальция.
- Часть остатка смешивают с концентрированной серной кислотой и нагревают – выделяется оксид углерода(II), горящий голубым пламенем. Реакция возможна при получении большого остатка щавелевой кислоты.
- Часть остатка растворяют в воде очищенной, подкисляют серной кислотой и добавляют 1–2 капли 1% раствора перманганата калия. При нагревании до кипения раствор обесцвечивается.



Количественное определение этиленгликоля проводят методом газожидкостной хроматографии и колориметрическим методом.

Газожидкостная хроматография используется для этиленгликоля в особых условиях. Поскольку этиленгликоль имеет высокую температуру испарения, для его определения необходим программируемый режим температуры.

Колориметрический метод. Он основан на окислении этиленгликоля до формальдегида. Количественное определение проводят после получения окрашенного соединения с фуксинсернистой кислотой в присутствии концентрированной серной кислоты. Расчет содержания этиленгликоля в исследуемом объекте ведут чаще всего по калибровочному графику, выражающему зависимость оптической плотности окрашенного раствора от концентрации вещества.

9.4.12. Кислота уксусная

Уксусная кислота в обычных условиях представляет собой бесцветную жидкость с резким характерным запахом. Безводная уксусная кислота плавится при температуре 16,64°C и кипит при температуре 117,8°C. Она смешивается с водой во всех соотношениях, растворяется в спирте, эфире, глицерине, органических растворителях.

Токсикологическое значение. Уксусная кислота используется как сырье в производстве многих веществ, в том числе красителей, инсектицидов, лекарственных средств. В пищевой промышленности уксусная кислота применяется при изготовлении приправ, маринадов, консервов. Уксусная кислота является растворителем лаков, ацетилирующим агентом в органических синтезах, коагулянтом латекса. Соли уксусной кислоты (с железом, алюминием, хромом и др.) применяются в качестве протравы при крашении.

Уксусная кислота используется в следующих концентрациях:

- ледяная уксусная кислота, содержит 96–98% уксусной кислоты;
- уксусная эссенция – это 80% водный раствор;
- разведенная уксусная кислота, содержит 30% уксусной кислоты;
- столовый уксус, это 3–15% водный раствор кислоты;
- древесный уксус, содержит ~6% уксусной кислоты;
- винный уксус, содержащий 3–4% кислоты.

Отравления уксусной кислотой встречаются достаточно часто. Это объясняется ее доступностью. Отравления, в основном, носят суицидальный характер. Смертельная доза безводной уксусной кислоты – 12–15 г, эссенции – 20–40 мл, столового уксуса – около 200 мл.

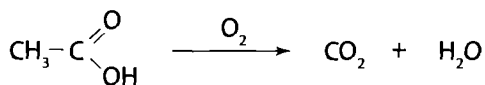
Уксусная кислота может попадать в организм через дыхательные пути, всасываться через кожные покровы и через ЖКТ. При вдыхании паров уксусной кислоты наблюда-

ется раздражение слизистых оболочек верхних дыхательных путей, появляются кашель, затрудненное дыхание, боли в груди, тошнота, рвота. Быстро возникают риниты, фарингиты, ларингиты, трахеобронхиты, наблюдаются ожоги гортани, очаги кровоизлияний, некрозы в легких, развивается пневмония. Причиной смертельного исхода является афиксия и тяжелые поражения легких.

При попадании на кожные покровы (концентрация кислоты 30% и более) образуются ожоги с образованием струпа. О местном действии уксусной кислоты см. ранее (раздел 3.6). Резорбтивное действие уксусной кислоты проявляется кислотным гемолизом эритроцитов. Этот процесс является характерным, и поэтому уксусную кислоту называют гемолитическим ядом. Гемолиз сопровождается выделением растворенного гемоглобина почками – гемоглобинурией. Моча приобретает темно-красный цвет и содержит белок, развивается острая почечная недостаточность, поражение печени в виде токсического гепатита. Со стороны ЦНС наблюдается психомоторное возбуждение со слуховыми и зрительными галлюцинациями.

Патологоанатомическая картина характеризуется ожогами слизистой оболочки рта, глотки, пищевода, желудка, мелкоочечными кровоизлияниями, иногда перфорацией стенки желудка, острой дистрофией печени, нефрозом почек, пневмонией.

Метаболизм уксусной кислоты происходит по пути ее окисления в организме до оксида углерода(IV) и воды.



Объекты анализа:

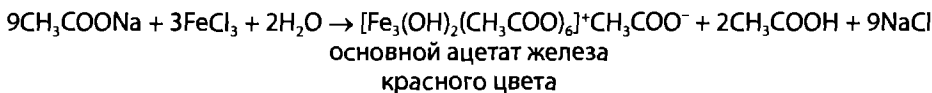
- легкие, печень;
- почки, желудок с содержимым.

Анализ объекта на уксусную кислоту проводится по специальным запросам и чаще всего является целенаправленным.

В отличие от других «летучих» ядов, уксусную кислоту **изолируют** перегонкой с водяным паром из подкисленных серной или фосфорной кислотой биологических объектов (см. раздел 6.6.1). Ввиду летучести уксусной кислоты дистилят собирают в приемник, содержащий раствор гидроксида натрия. Полученный раствор исследуют на наличие уксусной кислоты.

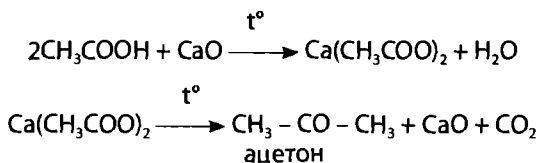
Второй метод изолирования уксусной кислоты заключается в извлечении ее спиртом с последующим подщелачиванием спиртового извлечения. Полученную вытяжку выпаривают до сухого остатка. Затем к остатку добавляют серную или фосфорную кислоту. Уксусную кислоту перегоняют с водяным паром. Полученный дистилят исследуют на ацетат-ион. В таком варианте изолируются и ацетаты, растворимые в спирте.

Реакция с хлоридом железа(III). В пробирку вносят 2–3 мл дистилята и прибавляют 1 каплю свежеприготовленного 5% раствора хлорида железа(III). Появление красного окрашивания свидетельствует о наличии в дистиляте ацетат-ионов.

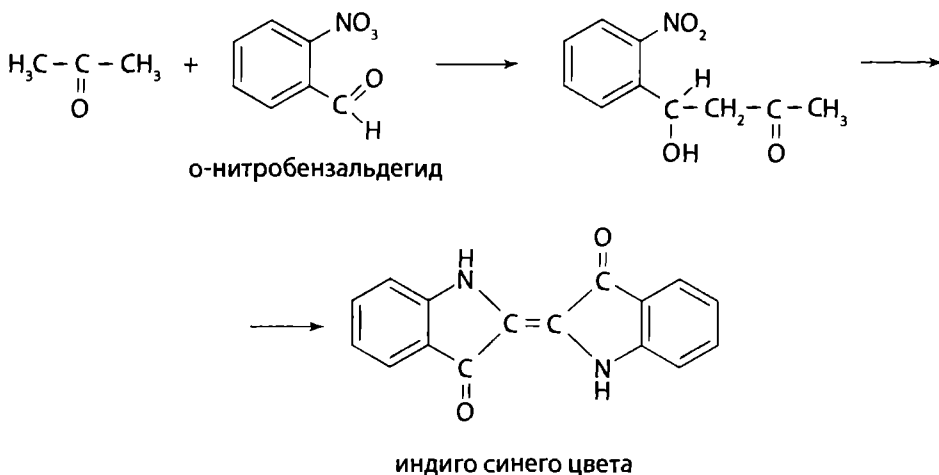


Оценка. Предел обнаружения составляет 1,25 мг ацетат-ионов в 1 мл дистилята.

Реакция образования индиго. 1/2 часть дистилята выпаривают досуха, остаток переносят в пробирку, добавляют смесь оксида и карбоната кальция (1:1). Отверстие пробирки закрывают фильтровальной бумагой, смоченной раствором орто-нитробензальдегида в 5% растворе гидроксида натрия. Пробирку нагревают. Образующийся ацетон улавливается бумагой с нанесенным реактивом. Окраска бумаги меняется из желтой в синюю.

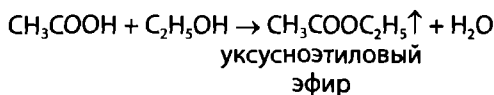


Ацетон в присутствии щелочи взаимодействует с о-нитробензальдегидом через ряд промежуточных продуктов, образуя индиго.



Оценка. Реакция неспецифична, ее способны дать вещества, при гидролизе которых образуется ацетильная группа. Имеет судебно-химическое значение при отрицательном результате.

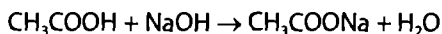
Реакция образования уксусноэтилового эфира. В пробирку вносят 3–5 мл дистиллята и выпаривают досуха. К остатку прибавляют 1 мл этилового спирта и 2 мл концентрированной серной кислоты. При нагревании ощущают характерный запах этилацетата (яблочной эссенции).



Оценка. Реакция характерна, однако ощущение запаха является субъективным.

Количественное определение уксусной кислоты

Содержание уксусной кислоты определяется титриметрическим методом. С этой целью уксусную кислоту изолируют перегонкой с водяным паром из подкисленного серной или фосфорной кислотой объекта. Дистиллят собирают в титрованный раствор гидроксида натрия.



Избыток гидроксида натрия оттитровывают хлороводородной кислотой (индикатор – фенолфталеин).

Глава 10. ГРУППА «МЕТАЛЛИЧЕСКИХ» ЯДОВ

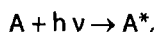
В группу «металлических» ядов объединены соединения неорганических веществ, имеющих токсикологическое значение. К ним относят соли и оксиды металлов, а также соединения сурьмы и мышьяка. Характерной их особенностью является то, что в микродозах они необходимы для организма и в качестве микроэлементов принимают участие в важнейших физиологических процессах. С химической точки зрения многие «металлические» яды вступают во взаимодействие с пептидами, образуя комплексные соединения, и этим блокируют основные функции белка. В больших дозах они, прежде всего, блокируют ферментные системы, некоторые из них являются протоплазматическими ядами.

В организме человека «металлические» яды находятся в неионогенном состоянии, поэтому для их изолирования и дальнейшего определения необходимо перевести их в ионогенное состояние. Обычно этот способ заключается в предварительной минерализации органической части объекта химико-токсикологического исследования, что также объединяет «металлические» яды в общую группу.

После разрушения биологического материала с помощью концентрированных серной и азотной кислот минерализат представляет собой бесцветную или слегка окрашенную в желтый цвет (за счет возможной недоразрушенных органических веществ) прозрачную жидкость. В присутствии соединений меди и хрома минерализат может быть окрашен в голубоватый или зеленоватый цвет. При наличии соединений свинца, бария, кальция минерализат, после разбавления его водой очищенной, содержит белый осадок, состоящий из сульфатов этих металлов. Для обнаружения «металлических» ядов в извлечениях из объектов используют атомно-абсорбционный и химические методы анализа.

10.1. Понятие об атомно-абсорбционной спектроскопии

Атомно-абсорбционная спектроскопия (ААС) предложена Уолшем в 1955 г. и предназначена для определения содержания химических элементов путем измерения абсорбции излучения атомными парами определяемого элемента. Физическую основу метода составляют следующие явления. При поглощении кванта света свободный атом переходит в возбужденное состояние A^* .



где h – постоянная Планка, ν – частота, определяемая условиями перехода:

$$\nu = \frac{E_{A^*} - E_A}{h},$$

где E_{A^*} и E_A – энергия атома в возбужденном и основном состояниях.

Наиболее вероятным изменением энергетического состояния атома при возбуждении является его переход на уровень, ближайший к основному энергетическому состоянию, т.е. **резонансный переход**.

Если на невозбужденный атом направить излучение оптического диапазона с частотой, равной частоте резонансного перехода, кванты света будут поглощаться атомами. При этом наблюдается уменьшение интенсивности излучения, что фиксируется при определенной длине волны. В основе метода – регистрация спектров поглощения атомов,

Обнаружение металлических ядов с помощью атомно-абсорбционной спектроскопии

Элемент	Длина волны, нм	Чувствительность, мкг/мл	Состав пламени
Ag	328,1	0,1	ацетилен-воздух
As	193,7	2	ацетилен-воздух
Ba	553,6	0,4	ацетилен-кислород
Bi	223,1	0,8	ацетилен-воздух
Ca	422,7	0,1	ацетилен-воздух
Cd	228,8	0,03	ацетилен-воздух
Co	240,7	0,2	ацетилен-воздух
Cr	357,9	0,15	ацетилен-воздух
Cu	324,7	0,15	ацетилен-воздух
Fe	248,3	0,15	ацетилен-воздух
Hf	307,3	15	ацетилен-кислород
Hg	253,7	15	ацетилен-воздух
K	766,5	0,1	ацетилен-воздух
Mn	279,5	0,1	ацетилен-воздух
Mo	313,3	0,4	ацетилен-воздух, ацетилен-кислород
Na	589,0	0,04	ацетилен-воздух
Ni	232,0	0,2	ацетилен-воздух
Pb	217,0	0,5	ацетилен-воздух
Sb	217,6	1	ацетилен-воздух
Sn	224,6	2	водород-воздух
Tl	276,8	0,8	ацетилен-воздух
V	318,4	1,2	ацетилен-кислород
Zn	213,9	0,04	ацетилен-кислород

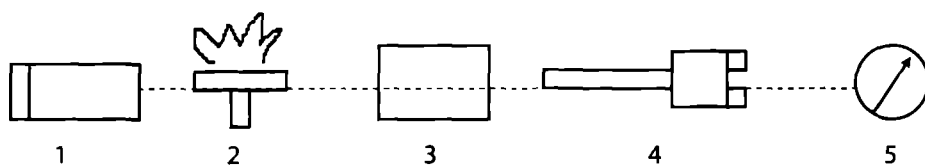


Рис. 82. Схема устройства атомно-абсорбционного спектрометра: 1 – источник излучения (190–850 нм); 2 – пламя (атомизатор); 3 – монохроматор (призма); 4 – фотоумножитель; 5 – регистрирующий прибор.

находящихся в газообразном состоянии в пламени при действии источника излучения. В таблице 54 приведены резонансные линии, предел определения элементов, смесь, образующая пламя-атомизатор.

Принципиальная схема атомно-абсорбционного спектрометра представлена на рисунке 82.

Способ введения образца зависит от типа используемого генератора. Если генератором атомных паров является пламя, то в качестве растворителя для приготовления растворов образца и стандарта используют воду. Могут применяться органические растворители, если они не влияют на стабильность пламени.

Источник излучения – мощная лампа с полым катодом, которая испускает излучение с частотой, необходимой для регистрации определяемых элементов.

Монохроматор – призма, которая служит для выделения участка спектра с определенной длиной волны.

Наиболее часто используется пламя смеси ацетилена с воздухом (максимальная температура 2000°C), ацетилена с N₂O, температура – 2700°C, ацетилен с кислородом, водо-

род с воздухом. Горелка со щелевидным соплом длиной 50–100 мм и шириной 0,5–0,8 мм устанавливается вдоль оптической оси прибора для увеличения длины поглощающего слоя и перевода исследуемой пробы в газообразное состояние. Раствор пробы вводят в пламя путем распыления с помощью пневматических распылителей. Через слой атомных паров пробы пропускают мощное излучение в диапазоне 190–850 нм. Метод основан на определении поглощения света атомами исследуемого образца.

Уменьшение интенсивности излучения подчиняется закону Бугера–Ламберта–Бера.

$$\lg \frac{I_0}{I} = A = k \cdot l \cdot c,$$

где I_0 и I – интенсивность излучения от источника соответственно до (I_0) и после прохождения через поглощающий слой (I); A – оптическая плотность, k – коэффициент поглощения; l – толщина светопоглощающего слоя (пламени); c – концентрация анализируемого вещества

Постоянство толщины светопоглощающего слоя, т.е. пламени, достигается с помощью горелок специальной конструкции

Количественное определение методом атомно-абсорбционной спектроскопии проводят по следующей методике. Атомно-абсорбционный спектрометр выводят на режим согласно инструкции завода-изготовителя и устанавливают нужную длину волны. В генератор атомных паров вводят холостой раствор и настраивают детектор на максимальное светопропускание. Затем в пламя вводят раствор сравнения определяемого элемента с наибольшей концентрацией и настраивают детектор так, чтобы получить аналитический сигнал в оптимальном диапазоне измерений, после чего проводят анализ исследуемой пробы.

Расчет концентрации проводят по *градуировочному графику* или по *методу добавок*.

В химико-токсикологическом анализе метод атомно-абсорбционной спектроскопии предложен и используется для обнаружения и количественного определения «металлических» ядов. Метод изолирования – простое сжигание, мокрая минерализация с помощью серной и азотной кислот или минерализация при повышенных давлении и температуре при воздействии микроволнового излучения (в специальных тефлоновых камерах-бомбах в присутствии реагента окислителя – азотной кислоты) или в автоклавах при температуре 350°C.

Метод атомно-абсорбционной спектроскопии отличается простотой в выполнении, высокой селективностью, малым влиянием состава пробы на результаты анализа

Этот метод применяют для определения ~70 элементов (металлов) Он неприменим для неметаллов, резонансные линии которых лежат в вакуумной области спектра (<190 нм). Пределы обнаружения большинства элементов в растворах составляют 1–100 мкг/л. В автоматическом режиме пламенный спектрометр позволяет анализировать до 500 проб в час. Недостаток метода – невозможность одновременного определения нескольких элементов при использовании линейных источников излучения.

Многоэлементный анализ можно провести, если использовать атомно-флуоресцентный, атомно-эмиссионный с индуктивно связанной плазмой или рентгено-флуоресцентный анализ.

Среди всех методов атомно-абсорбционный анализ нашел более широкое применение в практике химико-токсикологического анализа. Атомно-абсорбционный метод используется при обнаружении и количественном определении «металлических» ядов в биологическом материале, крови, моче, пищевых продуктах и других объектах, особенно при проведении сложных, спорных и комиссионных экспертиз.

10.2. Понятие об атомно-флуоресцентном анализе

Метод основан на элементном анализе по атомным спектрам флуоресценции. Пробу анализируемого вещества превращают в атомный пар и облучают для возбуждения флуоресценции излучением, которое поглощают атомы только определенного элемента. При

этом длина волны излучения соответствует энергии электронных переходов этих атомов. Часть возбужденных атомов излучает свет, что и является аналитическим сигналом, регистрируемым спектрофотометром. Чаще всего используют резонансную флуоресценцию, при которой длины волн поглощаемого и излучаемого света одинаковы. Этим методом можно определять около 65 элементов. Пределы их обнаружения в растворе составляют 10^3 нг/мл. За счет очень узких линий атомной флуоресценции одновременно можно вести определение нескольких элементов. Метод используется для анализа некоторых биологических объектов (крови, мочи) на «металлические» яды.

10.3. Понятие об атомно-эмиссионном анализе

Этот метод предложен для определения микроэлементов в биосубстратах и описан в методических рекомендациях Федерального центра Госсанэпиднадзора Минздрава России в 2003 году. Он основан на измерении интенсивности света, излучаемого атомами и ионами в газообразном состоянии. Анализируемая проба проходит через плазму и испаряется. Наблюдается возбуждение атомов и частичная их ионизация. Происходит излучение квантов света, которые называются характеристическими. Они формируют аналитический сигнал. В таблице 55 приведены наиболее часто используемые линии спектра для определения некоторых элементов.

Интенсивность спектральной линии связана с концентрацией элемента, что позволяет получать надежные градуировочные характеристики. Для количественного определения используют отношение интенсивности двух спектральных линий разных элементов. Сочетание высокой избирательности и последовательного по длинам волн способа измерений позволяет определять 30–40 элементов в пробе за 4–5 мин.

В данном методе используются сканирующие спектрометры, которые позволяют быстро выбрать требуемую длину волны, увеличить скорость анализа. Работа спектрометра полностью управляется и контролируется компьютером, что позволяет осуществлять автоматизацию измерений, ввода пробы, сохранение, обработку результатов и т.д.

В современных приборах атомно-эмиссионный анализ с индуктивно связанной плазмой сочетают с масс-спектрометрией (ИСП-МС). Федеральным центром Госсанэпиднадзора Минздрава России в 2003 г. утверждена «Методика определения микроэлементов в диагностируемых биосубстратах методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС)».

Масс-спектрометр выступает в роли анализатора. Детектор – дискретно-диодный, который регистрирует отдельные ионы и их потоки. Индуктивно-связанная плазма, поддерживаемая в специальной горелке, способна эффективно возбуждать ионы из атомов введенного образца. В дальнейшем ионы фокусируются ионно-оптической системой и попадают в анализатор масс-спектрометра, где разделяются по отношению массы к заряду (m/z), и ионный поток регистрируется детектором. Масс-спектрометр в каждый момент времени пропускает ионы со строго определенным отношением m/z , которые затем попадают в детектор для количественной регистрации. Количество соударе-

Таблица 55

Эмиссионные линии и предел обнаружения элементов

Элемент	Резонансная линия, нм	Предел обнаружения, мкг/л
Кадмий	214, 440	0,40
Марганец	257, 610	0,07
Медь	327, 393	0,50
Свинец	220, 353	2,30
Хром	267, 716	0,10
Цинк	206, 200	2,60

Пределы обнаружения элементов с помощью ИСП-МС

Элемент	Предел определения, нг/л
Висмут	1,0
Таллий	1,0
Барий	3,0
Серебро	2,0
Цинк	80,0
Марганец	1,0
Сурьма	3,0
Свинец	2,0
Ртуть	10,0
Кадмий	3,0
Мышьяк	70,0
Медь	30,0
Хром	40,0

ний за единицу времени пропорционально количеству атомов в исследуемом образце. По ранее указанным методическим рекомендациям в современном приборе ИСП-МС предусматривается двойная регистрация сигналов. Импульсный режим одного сегмента детектора используется для подсчета отдельных ионов, а аналоговый режим другого сегмента – для регистрации ионных токов. Это позволяет определять элементы в пределах нескольких наногرامмов. С помощью ИСП-МС можно определять 40–50 элементов в течение 2–3 мин.

Метод используется для определения элементов в волосах, ногтях, крови, плазме, грудном молоке, моче, печени, почках, сердце, плаценте, слюне, зубах.

Пробоподготовка объектов к анализу включает кислотное растворение с помощью азотной кислоты в открытых сосудах при температуре 115°C без полного разрушения органических веществ и кислотное разложение («мокрое озоление») в присутствии азотной кислоты с использованием систем микроволновой пробоподготовки при температуре 200°C. Пределы обнаружения некоторых элементов, по данным авторов методических рекомендаций, представлены в таблице 56.

10.4. Понятие о рентгено-флуоресцентном анализе

В основе этого метода – определение структуры рентгеновских спектров, которые отражают энергетическое состояние электронов в атоме. Рентгеновские спектры содержат небольшое количество линий и охватывают диапазон от 0,1 до 100 Å. На исследуемое соединение направляют пучок ускоренных заряженных частиц или протонов. В результате с одной из внутренних электронных оболочек атома исследуемого элемента вырывается электрон. Образовавшаяся вакансия заполняется электроном с внешней оболочки. Этот процесс сопровождается характеристическим рентгеновским излучением. В основе качественного и количественного анализа лежит зависимость между атомным номером элемента и длиной волны линий рентгеновского спектра.

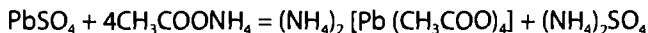
10.5. Дробный (химический) метод анализа «металлических» ядов в минерализате

Для обнаружения ионов металлов в аналитической химии используется дробный метод. Его основоположником является Н. А. Тананаев. Применительно к химико-токсикологическому анализу этот метод детально разработан А. Н. Крыловой. Он основан на применении реак-

ций, с помощью которых в любой последовательности можно обнаружить искомые ионы в отдельных и небольших порциях исследуемого раствора в присутствии посторонних ионов. При невозможности применить специфические реактивы используется специальный прием (маскировка), который позволяет устранить влияние мешающих ионов. Поэтому обнаружение каждого иона проводится в два этапа. Вначале с помощью соответствующих химических реагентов устраняют влияние мешающих ионов, а затем добавляют реактив, способный дать характерную окраску или осадок с обнаруживаемым ионом. Часто эти приемы сочетают с экстракционным выделением искомого катиона из минерализата, что позволяет значительно повысить специфичность и чувствительность обнаружения «металлических ядов» (см. главу 7).

После получения минерализата осадок отделяют путем фильтрования через плотный фильтр или центрифугирования и в случае соосаждения других ионов металлов (Fe^{2+} , Cr^{3+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , что видно по грязно-зеленой или серой окраске осадка) его промывают 15–20 мл 0,2 М раствором серной кислоты, а затем 10 мл воды. Промывные воды присоединяют к основному фильтрату и доводят его общий объем до 200 мл. Промытый осадок исследуют на соединения бария и свинца, фильтрат – на остальные катионы.

Анализ осадка. Осадок на фильтре повторно обрабатывают кипящим раствором ацетата аммония, подкисленным уксусной кислотой. Осадок сульфата бария остается на фильтре. Сульфат свинца переходит в раствор.



При значительном осадке используют 5–6 мл кипящего раствора ацетата аммония, при малых количествах – 1–2 мл.

10.5.1. Соединения свинца

Свойства и токсикологическое значение. Свинец – металл синевато-серого цвета. Профессионально опасными производствами являются добыча свинцовых руд и выплавка свинца. В атмосферу плавильных цехов свинец поступает в виде аэрозолей, содержащих металлический свинец и его оксиды. Неорганические соединения свинца в виде оксидов и различных солей используют в производстве аккумуляторов, спичек, стекла, глазури, эмали, белил, олифы, в резиновой промышленности, как пигменты для красок, в пиротехнике и т.п.

В медицинской практике находят применение препараты свинца. «Свинца ацетат» представляет собой бесцветные прозрачные кристаллы со слабым уксусным запахом, растворим в 2,5 части холодной воды и 0,5 части кипящей воды. Его применяют в виде водных растворов (0,25–0,5%) в качестве вяжущего средства при воспалительных заболеваниях кожи и слизистых оболочек «Вода свинцовая», «Свинцовая примочка» состоят из 2 частей раствора основного ацетата свинца и 98 частей воды очищенной. Назначают наружно в виде примочек и компрессов. «Свинцовый пластырь простой» – смесь равных частей оксида свинца, свиного жира и масла подсолнечного с добавлением воды очищенной до образования однородной массы. «Свинцовый пластырь сложный» содержит свинцовый пластырь простой, канифоль и скипидар. Оба пластыря применяют при гнойно-воспалительных заболеваниях кожи, фурункулах, карбункулах.

В организм свинец и его соединения поступают через ЖКТ, кожные покровы и ингаляционно. После всасывания свинец адсорбируется на поверхности эритроцитов и разносится по всему организму, попадая в печень, почки, ЦНС, кости, мышцы. В крови и жидкостях организма свинец находится в виде коллоидного дифосфата, дифосфоглицерата, органических комплексов с белками и в виде различных солей. При длительном поступлении в организм свинец кумулируется в костной ткани. Период полувыведения равен годам и даже десятилетиям. При изменении в организме кислотно-основного состояния в тканях (ацидоз) соли свинца переходят в растворимое состояние, поступают в кровь и могут вызывать интоксикацию.

Летальная доза растворимых солей свинца составляет 0,5 г в пересчете на чистый свинец. Хронические отравления вызывает ежедневное поступление до 0,0005 г.

Выделяются соли свинца почками путем клубочковой фильтрации и через ЖКТ.

Свинец относится к протоплазматическим ядам. Он взаимодействует с активными центрами ряда ферментов, блокируя их деятельность. Свинец нарушает синтез порфиринов и гема в эритроцитах. Все соединения свинца действуют одинаково. Разница в токсичности проявляется за счет неодинаковой растворимости в жидкостях организма (особенно в желудочном соке). При отравлении соединениями свинца наблюдается нарушение белкового, липидного и углеводного обмена.

Острая форма отравления проявляется при одновременном поступлении в организм большого количества растворимой соли свинца или в результате накопления его в организме. При этом ощущается сладковатый вкус во рту, возникают тошнота, рвота, сильные боли в животе. Позже развивается энцефалопатия, проявляющаяся в головной боли, возбуждении, судорогах, эпилептических припадках, нарушении зрения, расстройстве речи, комагозном состоянии, параличах.

Хроническая форма отравления. Ранние симптомы: «свинцовая кайма» по краям десен, особенно у передних зубов, землисто-серая окраска кожи. Содержание свинца в крови и моче обычно повышенное.

При патологоанатомическом исследовании отмечают увеличение объема мозга, уплотнение извилин, диффузные, дистрофические изменения со склеротическим сморщиванием и распадом нервных клеток.

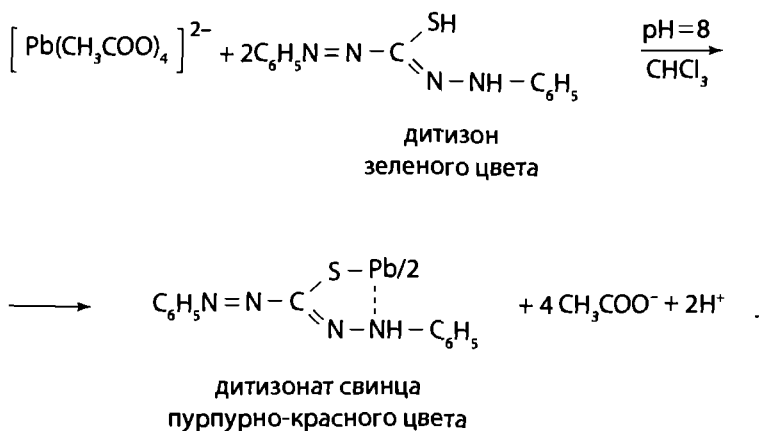
Для обнаружения свинца используют атомно-абсорбционную спектрометрию и химический метод.

Атомно-адсорбционная спектрометрия. Обнаружение проводят по характерным для свинца линиям резонансного перехода при длине волны 217 нм.

Оценка метода. Предел обнаружения 0,5 мкг свинца в 1 мл анализируемой пробы.

Химический метод. Проводится дробным методом, разработанным А.Н.Крыловой.

Реакция с дитизоном (предварительная). К 1 мл раствора осадка в ацетате аммония прибавляют 1 мл 10% раствора хлорида гидроксилamina и доводят до pH=8 с помощью 3 М раствора аммиака. Затем прибавляют 3 мл хлороформа, содержащего 0,1% раствор дитизона (зеленого цвета) и взбалтывают. Хлороформный слой окрашивается в пурпурно-красный цвет.



Оценка. Предел обнаружения равен 0,05 мкг свинца в 1 мл раствора. Реакция имеет судебно-химическое значение при отрицательном результате.

Для проведения **подтверждающих реакций на свинец** окрашенный в пурпурно-красный цвет слой хлороформа, содержащий дитизонат свинца – Pb(HDz)₂, встряхивают в течение 60 с с 0,5–2 мл 1 М раствора азотной кислоты (в зависимости от объема и интенсивности окраски экстракта). Слой хлороформа восстанавливает зеленый цвет.



Рис. 83. Кристаллы свинца с йодидом калия и хлоридом цезия

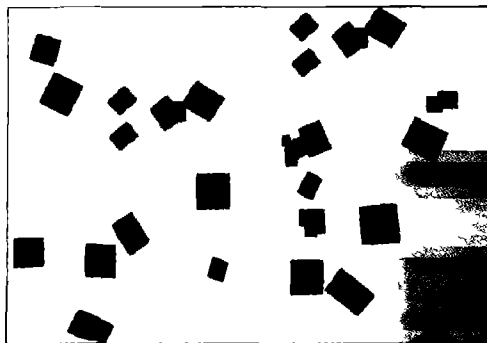
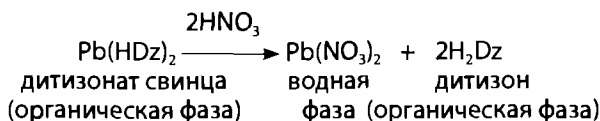


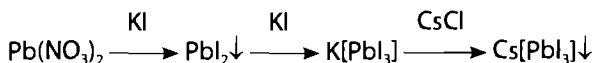
Рис. 84. Кристаллы гексанитрита калия, свинца и меди



В водной фазе обнаруживают катион свинца. Выбор реакций (микро- или макрохимических) зависит от объема водной фазы, полученной при разрушении дитизоната свинца азотной кислотой. При малом объеме водной фазы (0,5 мл) используют микрокристаллоскопические реакции, при большом объеме (2 мл и более) – макрохимические.

Микрокристаллоскопические реакции на свинец

Образование двойной соли йодида цезия и свинца. На предметном стекле над пламенем горелки испаряют 1/2 часть анализируемой водной фазы. К сухому остатку прибавляют 2 капли 30% раствора уксусной кислоты. С одного края капли вносят 2 кристаллика хлорида цезия, а с другого – несколько кристаллов йодида калия. Образуются желто-зеленые игольчатые кристаллы, собранные в пучки и сфероиды (рис. 83)



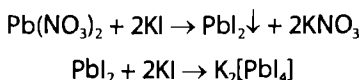
Оценка Предел обнаружения составляет 0,01 мкг свинца в пробе.

Образование гексанитрита калия, свинца и меди. На предметном стекле по каплям выпаривают 1/2 часть водной фазы. К сухому остатку прибавляют каплю 1% раствора ацетата меди и вновь выпаривают досуха. Остаток растворяют в 2 каплях 30% раствора уксусной кислоты. На край капли помещают несколько кристаллов нитрита калия. Под микроскопом (рис. 84) наблюдают черные или коричневые кристаллы в виде кубов, состава $[\text{K}_2\text{CuPb}(\text{NO}_2)_6]$.

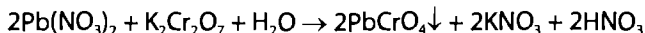
Оценка Предел обнаружения по реакции составляет 0,03 мкг свинца в пробе.

Макрохимические реакции на свинец

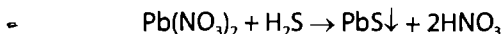
Реакция с йодидом калия. В пробирку вносят 0,5 мл исследуемого раствора и несколько капель 5% раствора йодида калия. Образуется осадок желтого цвета, растворимый в избытке реактива.



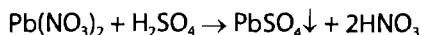
Реакция с дихроматом калия. 0,5 мл исследуемого раствора смешивают с 5 каплями 5% раствора дихромата калия. Образуется осадок оранжевого цвета



Реакция с сероводородом. К 0,5 мл исследуемого раствора прибавляют 5 капель водного раствора сероводорода. Образуется осадок черного цвета



Реакция с серной кислотой. К 0,5 мл исследуемого раствора прибавляют 5 капель 10% раствора серной кислоты. Образуется осадок белого цвета



Оценка Макрохимическими реакциями можно обнаружить в 100 г биологического объекта 0,2 мг свинца

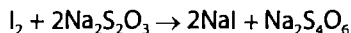
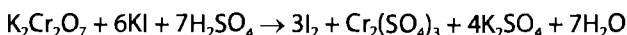
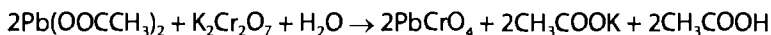
Количественное определение

Свинец в минерализате определяют с помощью атомно-абсорбционной спектрометрии, экстракционно-фотокolorиметрическим, комплексонометрическим и йодометрическим методами

Атомно-абсорбционная спектрометрия. Определение ведут по величине светопоглощения при длине волны 217,0 нм. Расчет концентрации проводят по градуировочному графику или с использованием метода добавок.

Экстракционно-фотокolorиметрический метод основан на получении окрашенного соединения свинца с дитизоном и экстракции образовавшегося комплексного соединения по методике, описанной выше. Окрашенный в красный цвет хлороформный слой отделяют, доводят до определенного объема и оптическую плотность измеряют с помощью фотоэлектроколориметра при длине волны 520 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Расчет концентрации ведут по калибровочному графику, построенному в пределах концентраций свинца $1 \cdot 10^{-2}$ – $1 \cdot 10^{-3}$ г/мл. По этой методике содержание свинца определяется в пределах 0,02–2 мг и более в 100 г исследуемого объекта

Йодометрическое определение проводят после растворения сульфата свинца в ацетате аммония. К определенному объему раствора после нагревания его до кипения добавляют избыток 0,01 М раствора дихромата калия. Через 5 ч образовавшийся осадок хромата свинца отфильтровывают, фильтр промывают 2–3 раза 1% раствором уксусной кислоты до обесцвечивания его поверхности. К объединенному с промывными водами фильтрату добавляют 2 г йодида калия в 15–20 мл 5 М раствора серной кислоты. Емкость закрывают пробкой и оставляют в темном месте на 20 мин. Выделившийся йод оттитровывают тиосульфатом натрия (индикатор – крахмал)



Этим методом свинец определяется в 100 г объекта в количестве 2 мг и более

Комплексонометрическое титрование. Определенный объем раствора осадка сульфата свинца в ацетате аммония помещают в колбу, добавляют избыток 0,01 М раствора комплексона III, 5 мл 3 М раствора аммиака, 100–150 мл воды очищенной, 10 мл аммиачно-хлоридного буфера, 0,1–0,2 г эриохрома ЕТ-00. Избыток комплексона III, не вступившего в реакцию со свинцом, титруют 0,01 М раствором сульфата цинка до перехода синей окраски индикатора в красно-фиолетовую. Метод позволяет определить в 100 г объекта 1–100 мг и более свинца.

10.5.2. Соединения бария

Свойства и токсикологическое значение. Барий – серебристо-белый ковкий металл. Барий применяется в качестве поглотителя газов в технике глубокого вакуума, в аппаратуре для получения серной кислоты и др.

Различные неорганические соединения бария находят применение в лабораторной практике, для изготовления запалов, в керамической, текстильной, кожевенной промышленности, в производстве минеральных красок, для производства оптического стекла и эмалей, в качестве протравы при крашении шерсти и ситца. В сельском хозяйстве хлорид бария используют для уничтожения вредителей растений, карбонат и селенит бария – в качестве дератизаторов.

В медицинской практике препараты бария находят применение при рентгенологических исследованиях. «Бария сульфат для рентгеноскопии» – белый тонкий рыхлый порошок без запаха и вкуса. Он нерастворим в воде, практически нерастворим в разведенных кислотах, щелочах, органических растворителях. Его применяют в виде суспензии в воде очищенной как контрастное средство при исследовании пищевода, желудка и кишечника. «Сульфобар» – это паста белого цвета, содержащая 50% сульфата бария, применяется в виде водной суспензии. Она хорошо обволакивает слизистую ЖКТ и обеспечивает высокое качество рентгеновского изображения. Медицинские препараты бария не должны содержать примеси растворимых его солей и карбоната бария, которые отличаются высокой токсичностью.

Барий поступает в организм на производствах и в плавильных цехах в виде пыли металла и его оксидов, которые частично вдыхаются, частично заглатываются. Откладывается барий в печени, мозге, железах внутренней секреции. Больше всего бария откладывается в костях (до 65%). Частично барий превращается в нерастворимый сульфат бария. Выделение бария происходит через ЖКТ и с мочой. Соединения бария вызывают заболевания головного мозга, спазм сосудов. При отравлении хлоридом бария повышается проницаемость капилляров, наблюдаются кровоизлияния и отеки. Смерть наступает от паралича сердечной деятельности.

При острой форме отравления появляется слюнотечение, ощущается жжение в полости рта, пищеводе. Позже возникают боли в желудке, тошнота, рвота, понос, цианоз слизистых оболочек, кожи лица, конечностей. При тяжелом отравлении смерть наступает в течение первых суток. Смертельная доза хлорида бария находится в пределах 0,8–0,9 г.

Хроническая форма отравления проявляется при вдыхании солей, оксидов, пыли бария. Наблюдается раздражение верхних дыхательных путей, глаз, кожи, жидкий стул. Часто появляется слабость, головная боль, бессонница, отсутствие аппетита, нарушение сердечной проводимости, хронический бронхит, эмфизема, тремор пальцев рук, хрупкость ногтей.

Патологоанатомическая картина При вскрытии погибших от отравления соединениями бария отмечают кровоизлияния в слизистой оболочке пищеварительного тракта, мозга, мозговых оболочек, некроз печени.

Обнаружение бария в минерализате проводят методом атомно-абсорбционной спектроскопии и с использованием химических реакций.

Атомно-абсорбционная спектроскопия. Обнаружение проводят по характерной для бария линии резонансного перехода при длине волны 553,6 нм.

Оценка метода Предел обнаружения составляет 0,4 мкг бария в 1 мл исследуемой пробы.

Химический метод. Определение проводится дробным методом, разработанным А.Н.Крыловой.

Реакция перекристаллизации из концентрированной серной кислоты. Часть осадка с фильтра переносят на предметное стекло, добавляют 2 капли концентрированной серной кислоты и нагревают на пламени горелки до появления белых паров диоксида серы. По охлаждению под микроскопом наблюдают бесцветные кристаллы сульфата бария, имеющие форму прямоугольных пластинок, переходящих в кресты с перистыми разноплечными концами (рис. 85).

Оценка. Предел обнаружения составляет 0,05 мкг бария в исследуемой пробе.

Растворение сульфата бария через восстановительную реакцию. Часть осадка с фильтра нагревают на платиновой игле в восстановительной части пламени горелки.

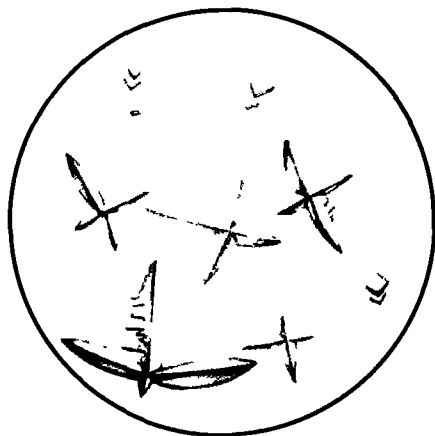


Рис. 85. Кристаллы сульфата бария после перекристаллизации из серной кислоты

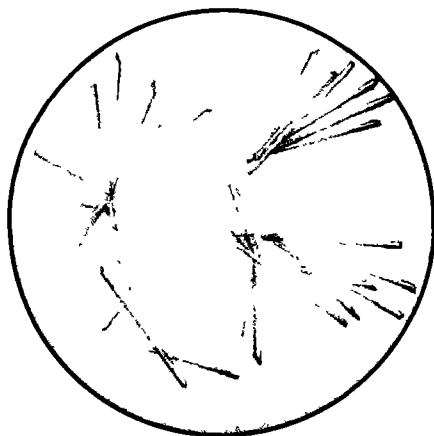
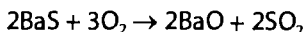
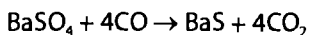
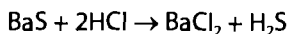
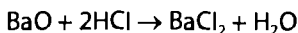


Рис. 86. Кристаллы йодата бария

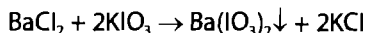
Платиновую иглу время от времени погружают в 2 капли 10% раствора хлороводородной кислоты, находящейся на предметном стекле. При этом на платиновой игле происходит образование сульфида бария, который частично превращается в оксид бария.



При погружении платиновой иглы в раствор хлороводородной кислоты происходит растворение сульфида и оксида бария.



Затем на предметное стекло, содержащее раствор хлорида бария, помещают кристаллик йодата калия. Наблюдают образование характерного кристаллического осадка йодата бария



Под микроскопом видны призматические кристаллы, собранные часто в сфероиды (рис. 86).

Оценка. Предел обнаружения по этой реакции – 0,03 мкг бария в исследуемой пробе.

Количественное определение

Количественное определение бария предложено проводить, используя атомно-абсорбционную спектрометрию и гравиметрический метод.

Атомно-абсорбционная спектрометрия. Определение ведут по величине светопоглощения при длине волны 553,6 нм. Расчет концентрации проводят по градуировочному графику или с использованием метода добавок.

Гравиметрический метод. Барий после изолирования в минерализате находится в виде нерастворимого осадка сульфата бария.

Непосредственное определение бария по осадку в минерализате дает завышенные результаты до 144% за счет соосаждения ионов кальция и железа, которые естественно содержатся в органах человека в значительных количествах. Рекомендуется сульфат бария переосадить из аммиачного раствора трилона Б. Для этого весь осадок из минерализата растворяют в растворе трилона Б в присутствии аммиака при нагревании.

При этом образуются комплексные соединения трилона Б с ионами бария, железа и кальция. При дальнейшей нейтрализации раствора и добавлением сульфата аммония в осадок выпадает только сульфат бария, а соединения железа и кальция остаются в растворе.

ных катализаторов, как компоненты микроудобрений, в производстве ферритов и красок, для окрашивания тканей, в текстильной, фарфоровой промышленности

В медицинской практике применяют препарат «Калия перманганат». Это темно- или красно-фиолетовые кристаллы или мелкий порошок с металлическим блеском, растворим в воде, образует раствор темно-пурпурного цвета, является сильным окислителем. При смешивании с легко окисляющимися веществами может образовать взрывоопасную смесь. Применяют препарат как антисептическое средство наружно в водных растворах для промывания ран (0,1–0,5%), полоскания полости рта, горла, смазываний язвенных и ожоговых поверхностей, спринцеваний, промываний в гинекологической и урологической практике. Растворы (0,02–0,1%) применяют для промывания желудка при отравлениях морфином, никотином и другими алкалоидами, а также синильной кислотой (щелочные растворы). При отравлении кокаином, атропином, барбитуратами препарат неэффективен.

В организм соединения марганца попадают через ЖКТ (с пищей человек получает ~4 мг марганца в сутки), через дыхательные пути в производственных условиях, через кожные покровы, например при купании детей в крепких растворах перманганата калия.

Особенно активно марганец и его соединения всасываются из легких. В крови марганец находится в виде белкового комплекса с γ -глобулинами. Накапливается марганец в печени, почках, в железах внутренней секреции, в мозгу. Выделение марганца с мочой незначительно. Преимущественно марганец выделяется через кишечник. Смертельная доза перманганата калия составляет 15–20 г.

Соединения марганца – это сильные протоплазматические яды, действующие на ЦНС, вызывая в ней тяжелые органические изменения. Большие дозы марганца угнетают рефлекторную возбудимость спинного мозга и ацетилхолинэстеразу. Как микроэлемент марганец принимает участие в окислительно-восстановительных процессах, в фосфорилировании.

Перманганат калия при соприкосновении с тканями образует оксид марганца(IV), гидроксид калия и атомарный кислород. Атомарный кислород и гидроксид калия являются основными поражающими агентами. Они вызывают химический ожог тканей и обуславливают болезненность при глотании, боли в подложечной области, рвоту с прожилками или даже со сгустками крови, кровавые поносы.

Острое отравление возникает при приеме крепких растворов перманганата калия внутрь, при полоскании, спринцевании. Появляется судорожная реакция, ожоговый шок, острая печеночно-почечная недостаточность в виде токсического гепатита, желтухи, анурии, уремии, у беременных – аборт за счет усиления сократительной деятельности матки. Острые отравления на производстве известны при вдыхании больших концентраций пыли оксидов марганца. Они характеризуются внезапным расстройством кровообращения, резкой одышкой, помрачением сознания.

При *хроническом отравлении* вначале наблюдаются функциональное поражение ЦНС и изменения со стороны желудка, затем к начальным симптомам добавляется токсическая энцефалопатия. Движения рук теряют содружественность, появляется тремор пальцев, изменения в психической сфере. Характерно возникновение «марганцевого паркинсонизма», проявляющегося в маскообразности лица, вялости, безучастности, монотонной и затруднительной речи, «петушиной походке» (ходьба на носках и невозможность наступать на пятки).

Патологоанатомическая картина. При вскрытии наблюдают химический ожог слизистых и подслизистых оболочек ЖКТ и дыхательных путей, дистрофические изменения в печени, почках, сердце, ЦНС.

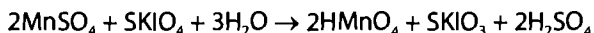
Обнаружение марганца в минерализате проводят с помощью атомно-абсорбционной спектрометрии и с использованием химического метода.

Атомно-абсорбционная спектрометрия. Обнаружение проводят по характерной для марганца линии резонансного перехода при длине волны 279,5 нм.

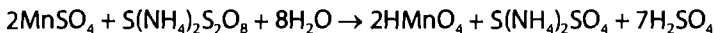
Оценка метода. Предел обнаружения марганца составляет 0,1 мкг в 1 мл исследуемой пробы.

Химический метод. Для обнаружения марганца используется дробный метод анализа, разработанный А.Н.Крыловой. В минерализате марганец находится в виде солей низших валентностей. Для обнаружения их переводят в марганцовую кислоту путем окисления.

Реакция с периодатом калия. В пробирку вносят 1 мл минерализата, 4 мл воды очищенной, 1 мл насыщенного раствора гидрофосфата натрия и 0,2 г периодата калия. Пробирку нагревают на кипящей водяной бане в течение 20 мин – наблюдают окраску раствора в розовый или красно-фиолетовый цвет за счет образования марганцовой кислоты.



Реакция с персульфатом аммония. В пробирку вносят 1 мл минерализата, 4 мл воды очищенной, 1 мл насыщенного раствора гидрофосфата натрия. Смесь нагревают в течение 5–6 мин. К горячему раствору прибавляют 1 каплю 10% раствора нитрата серебра (катализатор) и 0,5 г персульфата аммония. Смесь нагревают в течение нескольких минут с целью разложения избытка добавленного персульфата аммония. Наблюдают появление в растворе розового или красно-фиолетового окрашивания.



Оценка. Предел обнаружения марганцовой кислоты составляет $1 \cdot 10^{-4}$ мг/мл. Реакции специфичны, так как другие ионы в указанных условиях не дают подобного окрашивания. Однако при реакции с периодатом калия окраска получается более стабильной, при реакции с персульфатом аммония менее стабильна и устойчива при больших концентрациях марганцовой кислоты. Поэтому по первой реакции границей обнаружения марганца является его содержание 0,02 мг в 100 г объекта, а по второй реакции – 0,1 мг. Появление окрашивания только по первой реакции может указывать на обнаружение естественно содержащегося марганца. Появление окрашивания по двум реакциям является доказательством содержания в объекте марганца в количестве выше естественной нормы и требует проведения количественного определения.

Количественное определение

Определение количества марганца проводят методом атомно-абсорбционной спектроскопии и с помощью фотоколориметрического метода.

Атомно-абсорбционная спектроскопия. Определение ведут по величине светоплощности при длине волны 279,5 нм. Расчет концентрации марганца проводят по градуировочному графику или методом добавок.

Фотоколориметрический метод основан на окислении марганца(II) до марганца(VII). Оптическую плотность раствора измеряют при 525 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Расчет концентрации марганца в минерализате ведут по калибровочному графику. Марганец может быть определен этим методом в количестве 0,02–20 мг и более в 100 г объекта.

10.5.4. Соединения хрома

Свойства и токсикологическое значение. Хром – голубовато-белый металл. Применяется в качестве легирующей добавки к сталям. Входит в состав некоторых огнеупоров, жаропрочных сплавов, для получения хромовых покрытий.

Различные оксиды хрома, хроматы, дихроматы, хромкалиевые и хромаммониевые квасцы, галогениды хрома входят в состав хромовых катализаторов, находят применение при изготовлении шлифовальных паст и красок для стекла и керамики, в производстве пигментов, как протрава при крашении, как окислители в органических синтезах, в ме-

таллообработывающей, кожевенной, текстильной, химической, лакокрасочной, фармацевтической, керамической, спичечной промышленности, для дубления кож, при производстве киноплёнок и др.

Металлический хром и его соединения низших степеней окисления малотоксичны, но в организме они могут переходить в соединения Cr(VI), которые имеют более высокую токсичность. В организм соединения хрома могут попадать через ЖКТ, ингаляционным путем и через кожные покровы.

Соединения Cr(VI) в организме частично восстанавливаются до Cr(III). Соединения хрома обладают наибольшим сродством к легочной ткани, но могут накапливаться также в печени, поджелудочной железе, костном мозге. Смертельная доза солей хромовой кислоты составляет 0,2–1 г. Выводятся соединения хрома с мочой, калом.

Соединения Cr(VI) оказывают раздражающее и прижигающее действие на слизистые оболочки и кожу, что приводит к изъязвлению, а при вдыхании аэрозолей – к поражению органов дыхания. Хроматы обладают канцерогенным действием. Общетоксическое действие проявляется в поражении печени, почек, желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистой системы. Соединения Cr(III) изменяют активность ферментов, угнетают тканевое дыхание.

Острое отравление. При попадании соединений хрома через ЖКТ наблюдаются ожоги слизистой оболочки рта, пищевода, желудка, припухание, отечность, окрашивание в желтый цвет слизистой оболочки полости рта, рвота желтыми или зелеными массами, иногда кровавая.

При вдыхании аэрозоля хромовой кислоты поражаются дыхательные пути, наблюдается кашель с мокротой, затрудненное дыхание, повышение температуры тела, одышка, хрипы в легких. При остром отравлении хроматами и дихроматами наблюдается острая недостаточность почек с анурией, ацидозом, риниты, фарингиты, бронхиты.

Хроническое отравление. При длительном поступлении хрома и его соединений в организм человека возникает сухой кашель, бронхит, наблюдаются боли в эпигастральной области, изжога, тошнота, рвота, функциональные расстройства и признаки раздражения слизистой (гастрит и язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки). При попадании на кожу проявляются дерматиты на кистях рук, предплечьях, на лице, на веках.

При вскрытии трупов отмечаются явления отравления едкими веществами и желтое окрашивание слизистых оболочек.

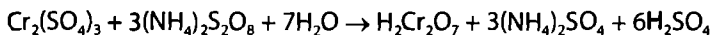
Обнаружение хрома в минерализате проводят с использованием атомно-абсорбционной спектроскопии и характерных химических реакций.

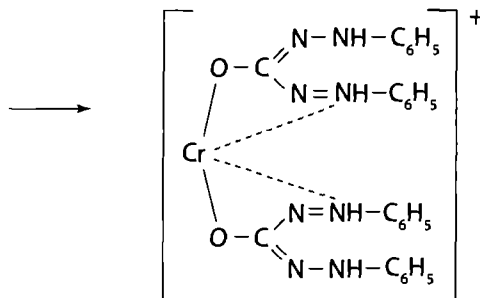
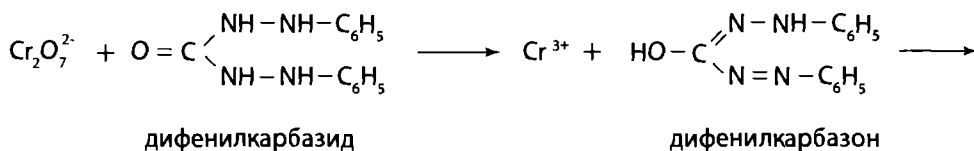
Атомно-абсорбционная спектроскопия. Обнаружение проводят по характерной для хрома линии резонансного перехода при длине волны 357,9 нм.

Оценка метода. Предел обнаружения хрома составляет 0,15 мкг в 1 мл анализируемой пробы.

Химический метод. Для обнаружения хрома применяют дробный метод, разработанный А.Н.Крыловой. В минерализате хром находится в виде сульфата хрома(III) – Cr₂(SO₄)₃.

Реакция с дифенилкарбазидом (предварительная). К 1 мл минерализата прибавляют 4 мл воды очищенной, 1 каплю 10% раствора нитрата серебра и 0,5 г персульфата аммония. Содержимое пробирки нагревают на кипящей водяной бане в течение 20 минут. После охлаждения рН раствора доводят до 1,5–1,7 путем добавления 10% раствора натрия гидроксида. Затем добавляют 1 мл насыщенного раствора гидрофосфата натрия и вновь проверяют значение рН. При добавлении 1 мл 0,25% раствора дифенилкарбазида наблюдают образование розового или красно-фиолетового окрашивания.



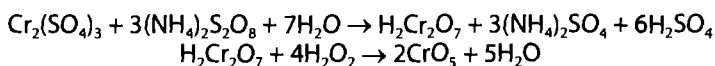


внутрикомплексная соль розового
или красно-фиолетового цвета

Дифенилкарбазон, образовавшийся в процессе реакции, неокрашен. Затем происходит образование внутрикомплексной соли, имеющей розовую или красно-фиолетовую окраску.

Оценка. Реакция специфична, предел обнаружения составляет 0,2 мкг хрома в 1 мл минерализата.

Реакция образования пероксида хрома (подтверждающая). К 5 мл минерализата прибавляют 30% раствор гидроксида натрия до pH=7 (по универсальному индикатору), 1 каплю 10% раствора нитрата серебра, 0,5 г персульфата аммония и нагревают на кипящей водяной бане в течение 20 мин. После охлаждения до 10°C в бане со льдом к жидкости добавляют 1 мл насыщенного раствора гидрофосфата натрия и вновь проверяют pH, затем прибавляют 2 мл этилового эфира и 2 капли 25% раствора пероксида водорода. Содержимое пробирки энергично взбалтывают. Наблюдают окрашивание эфирного слоя в голубой или синий цвет.



Оценка. Реакция специфична и наглядна для хрома, предел обнаружения составляет 2 мкг хрома в 1 мл минерализата.

Количественное определение

Количественное определение проводят с помощью атомно-абсорбционной спектроскопии и колориметрическим методом.

Атомно-абсорбционная спектроскопия. Определение ведут по величине светопоглощения при длине волны 357,9 нм. Расчет концентрации хрома проводят по градуировочному графику или методу добавок.

Фотокolorиметрический метод основан на получении окрашенного соединения с дифенилкарбазидом. Отмеряют 1 мл минерализата и проводят окисление хрома(III) в хром(VI) по методике, описанной в разделе «Обнаружение хрома». Затем к полученному раствору добавляют 1 мл насыщенного однозамещенного фосфата натрия и устанавливают pH=1,7 путем прибавления 10% раствора гидроксида натрия и добавляют 1 мл 0,25% раствора дифенилкарбазид в смеси спирта и ацетона (1:1). Оптическую плотность определяют при 546 нм в кювете с толщиной слоя 20 мм. Для расчета количества хрома в минерализате используют калибровочный график. Данным методом хром определяется в количестве 0,1–20 мг в 100 г объекта.

10.5.5. Соединения серебра

Свойства и токсикологическое значение. Серебро – белый блестящий металл, в тонких пленках в проходящем свете имеет голубой цвет.

Серебро применяется в виде сплавов для изготовления ювелирных и бытовых изделий, лабораторной посуды, для покрытия радиодеталей, в серебряно-цинковых аккумуляторах, в составе припоев, как катализатор в неорганическом и органическом синтезе. Из неорганических соединений серебра в промышленности находят применение нитрат серебра – AgNO_3 и другие соли. Эти соединения используются в фото- и кинопромышленности, для окраски специальных стекол, в производстве зеркал, для опреснения морской воды, для изготовления элементов оптики для ИК-спектрометров, твердых электролитов и датчиков, применяются как компоненты люминофоров, в органическом синтезе и в других областях.

Препараты серебра применяют в медицинской практике. «Серебра нитрат» – это бесцветные прозрачные кристаллы в виде пластинок или белых кристаллических палочек без запаха. Легко растворим в воде, растворим в спирте. Под действием света темнеет. «Протаргол» – коричнево-желтый или коричневый легкий порошок без запаха, слабогорького, вяжущего вкуса, легко растворим в воде, нерастворим в спирте, эфире, хлороформе. Содержит 7,8–8,3% серебра. «Колларгол» – зеленовато- или синевато-черные мелкие пластинки с металлическим блеском. Растворим в воде с образованием коллоидного раствора. Содержит 70% серебра. Препараты серебра применяют как вяжущие и противовоспалительные средства для смазывания слизистых оболочек, эрозий, язв, при избыточных грануляциях, трещинах, остром конъюнктивите, трахоме, хроническом ларингите. «Ляписный карандаш» – белая или серовато-белая твердая палочка конической формы с закругленной вершиной. Содержит нитраты серебра и калия. Применяется для прижиганий.

Серебро и его препараты попадают в организм через дыхательные пути на производствах и через желудочно-кишечный тракт.

В организме серебро легко проникает в эритроциты и связывается с белками. Крепкие растворы нитрата серебра образуют с тканями рыхлый альбуминат, денатурируют белки слизистых оболочек пищеварительного аппарата, образуя ожоги, что приводит к острым болям и шоковому состоянию. В организме соединения серебра могут восстанавливаться до металлического серебра, а серосодержащие соединения серебра частично переходят в сульфид серебра. Смертельная доза растворимых соединений серебра – около 2 г. Выделяются соединения серебра через кишечник.

Острое отравление. Характерными признаками отравления являются гастроэнтерит, боль в желудке и кишечнике. Слизистая оболочка рта белого или серого цвета. Рвотные массы – белые, темнеющие на свету. Наблюдаются понос, головокружение, судороги, параличи нижних конечностей, в тяжелых случаях – шоковое состояние с резким снижением артериального давления, расстройством дыхания, анурией, судорогами, коматозным состоянием.

Хроническое отравление. При многолетней работе с серебром и его солями серебро откладывается в соединительной ткани, стенках капилляров разных органов, в том числе в почках, костном мозге, селезенке, коже, слизистых оболочках и придает им серозеленую или аспидную окраску, особенно на открытых местах тела (аргирия). УФ-лучи усиливают пигментацию. Первые признаки аргирии появляются через 2–4 года от начала работы с соединениями серебра. Характерно, что у больных аргирией отсутствуют инфекционные заболевания за счет дезинфицирующего действия серебра. При аргирии появляются жалобы на боль в правом подреберье, увеличение печени, ослабление остроты зрения в сумерки. При попадании соединений серебра через дыхательные пути отмечено появление першения в горле, кашля, насморка с кровью, слезотечения.

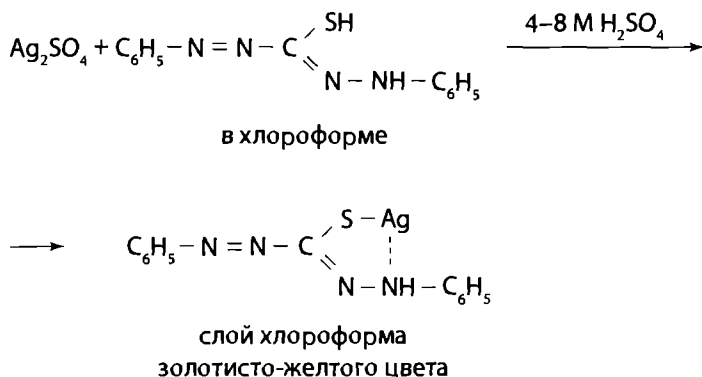
Обнаружение серебра в минерализате проводят с помощью атомно-абсорбционной спектрометрии и химическим методом.

Атомно-абсорбционная спектрометрия. Обнаружение серебра проводится по характерной для серебра линии резонансного перехода при длине волны 328,1 нм.

Оценка метода Предел обнаружения серебра составляет 0,1 мкг в 1 мл исследуемой пробы.

Химический метод. Используется дробный метод, разработанный А.Н.Крыловой. В минерализате серебро находится в виде сульфата серебра.

Реакция с дитизоном (предварительная). К 1 мл минерализата прибавляют 1 мл 8 М раствора серной кислоты и 3 мл 0,01% раствора дитизона в хлороформе. При встряхивании хлороформный слой приобретает золотисто-желтое окрашивание.

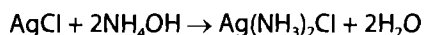


Ртуть с дитизоном также образует дитизонат оранжево-желтого цвета. Для отличия дитизоната серебра от дитизоната ртути окрашенный хлороформный слой отделяют и взбалтывают с 5 мл 0,5 М раствора хлороводородной кислоты. Дитизонат серебра разрушается, выделяется хлорид серебра, и золотистая окраска переходит в зеленую. Дитизонат ртути при взбалтывании с 0,5 М раствором хлороводородной кислоты не разрушается, и золотистая окраска слоя хлороформа не исчезает.

Оценка Предел обнаружения по данной реакции 0,04 мкг серебра в 1 мл минерализата. Реакция имеет судебно-химическое значение при отрицательном результате.

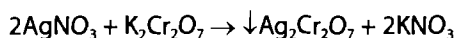
Выделение серебра из минерализата. Проводится при получении положительного результата реакции образования дитизоната серебра. К 90 мл минерализата прибавляют 0,5 г хлорида натрия, нагревают и образовавшийся белый осадок хлорида серебра отфильтровывают. Осадок исследуют на соединения серебра проверочными реакциями, а фильтрат – на все остальные катионы.

Осадок растворяют в определенном объеме 25% раствора аммиака.



Полученный аммиачный раствор анализируют следующими реакциями.

Реакция с дихроматом калия. К нескольким каплям исследуемого раствора добавляют 10% раствор уксусной кислоты до кислой реакции и вносят небольшой кристалл дихромата или хромата калия. Наблюдают появление красного или красно-бурого окрашивания и кристаллического осадка (рис. 87).



Дихромат серебра образует кристаллы в виде прямоугольных и ромбических пластинок оранжево-красного цвета. Предел обнаружения – 0,15 мкг серебра в исследуемой пробе.

Получение кристаллов аммиачного комплекса хлорида серебра. Полученный аммиачный раствор оставляют на предметном стекле. После удаления избытка аммиака под микроскопом наблюдают образование характерных мелких бесцветных кристаллов и сростки из тетраэдров и треугольников (рис. 88).

Оценка Предел обнаружения составляет 0,05 мг серебра в исследуемой пробе.



Рис. 87. Кристаллы серебра с дихроматом калия.

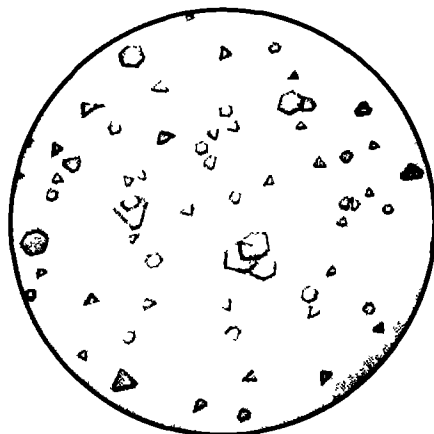
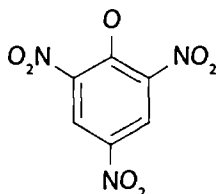
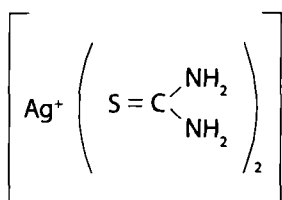


Рис. 88. Кристаллы аммиачного комплекса хлорида серебра

Реакция с тиомочевинной и пикратом калия. Смешивают 2–3 капли полученного аммиачного раствора с насыщенными растворами тиомочевинны и пикриновой кислоты. При наличии ионов серебра образуются кристаллы в виде желтых иголок и розеток.



комплекс серебра, тиомочевинны и пикриновой кислоты

Оценка. Предел обнаружения составляет 0,03 мкг серебра в исследуемой пробе.

Реакция с хлоридом золота и хлоридом рубидия. 1–2 капли аммиачного раствора осадка выпаривают досуха. На остаток наносят каплю раствора, содержащего хлориды рубидия и золота. Через 5–10 мин наблюдают образование гранатово-красных призматических кристаллов и сростков из них.



Оценка. Предел обнаружения составляет 0,1 мкг серебра в анализируемой пробе.

Количественное определение

Для количественного определения серебра предложено несколько методов: атомно-абсорбционная спектрометрия, титриметрический и экстракционно-фотоколориметрический.

Атомно-абсорбционная спектрометрия. Определение количества серебра проводят по величине светопоглощения при длине волны 328,1 нм. Для расчета концентрации используют градуировочный график или метод добавок.

Титриметрический метод используется при положительных результатах качественных макрореакций с дитизоном и хлоридом натрия. В делительную воронку помещают 50 мл минерализата, добавляют 1 мл 0,01% раствора дитизона и 3 мл хлороформа. Смесь постоянно встряхивают и титруют 0,01 М раствором тиоцианата аммония до изменения золотисто-желтой окраски в зеленую. Определение серебра титриметрическим методом возможно при его содержании в 100 г органа в количестве 2–20 мг и более.

Экстракционно-фотоколориметрический метод. Используется при небольшом содержании серебра в минерализате (это визуально определяется по объему образующегося

осадка AgCl при качественном обнаружении) В основе метода лежит реакция взаимодействия ионов серебра с дитизионом Дитизонат серебра экстрагируют четыреххлористым углеродом. Оптическую плотность определяют при длине волны 426 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Расчеты ведут по калибровочному графику Метод позволяет определить в 100 г объекта 0,02–10 мг серебра

10.5.6. Соединения мышьяка

Свойства и токсикологическое значение. Мышьяк существует в нескольких аллотропических формах, из которых наиболее устойчив серый, так называемый металлический мышьяк На воздухе при нормальной температуре мышьяк легко окисляется, при нагревании порошкообразный мышьяк воспламеняется и горит голубым пламенем с образованием оксида.

Элементный мышьяк применяется ограниченно в виде добавок к сплавам (на основе меди, свинца и олова) и к полупроводниковым материалам.

Неорганические соединения мышьяка широко применяются в промышленности Среди них оксиды, галогениды, сульфиды, кислоты: ортомышьяковая (мышьяковая), ортомышьяковистая, соли гидроарсенит натрия – NaHASO_3 , метаарсенит кальция – $\text{Ca}(\text{AsO}_2)_2$, ортоарсенат кальция – $\text{Ca}_3(\text{AsO}_4)_2$ Известны многочисленные мышьякорганические соединения

Соединения мышьяка используются как компоненты стекол и стеклообразных полупроводников, для легирования полупроводниковых материалов мышьяком, как реагенты в аналитической химии, для приготовления красок для живописи, в пиротехнике, в кожаном производстве

В медицинской практике применяют «Натрия арсенат» – $\text{Na}_3\text{AsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, который назначают в виде водного раствора для подкожных инъекций в сочетании с раствором стрихнина (препарат «Дуплекс») как общеукрепляющее и тонизирующее средство.

«Калия арсенита раствор» (раствор Фаулера) – бесцветная прозрачная жидкость с запахом камфары, который придают ему специально для отличия от других растворов, содержит 1% калия арсенита Применяют внутрь по 1–3 капли при малокровии, истощении, невралгии, миастении

«Мышьяковистый ангидрид» (белый мышьяк) применяют наружно как некротизирующее средство при кожных заболеваниях, в стоматологии – для некротизации пульпы

Все соединения мышьяка проявляют сильное токсическое действие на организм человека и животных. Наибольшую токсичность проявляют соединения $\text{As}(\text{III})$ Мышьяк $\text{As}(\text{V})$ действует подобным образом, но значительно медленнее Это связано с тем, что в организме $\text{As}(\text{V})$ под действием ферментов, содержащих сульфгидрильные группы, вначале восстанавливается до $\text{As}(\text{III})$ и после этого проявляет в большей степени токсический эффект. Под действием метилтрансфераз $\text{As}(\text{III})$ подвергается метилированию с образованием метильных производных с меньшей токсичностью.

Соединения мышьяка могут попадать в организм ингаляционным путем и через ЖКТ Соли $\text{As}(\text{III})$ и $\text{As}(\text{V})$ полностью и быстро всасываются в тонком кишечнике. В организме соединения мышьяка накапливаются в костях, почках, слизистой оболочке кишок, печени, селезенке, в волосах, ногтях и коже. Количество мышьяка в волосах превышает его содержание во внутренних органах. Выделяется мышьяк медленно через почки, кишечник, потовые железы и с молоком.

Токсическое действие мышьяка проявляется при приеме внутрь 0,01 г, смертельная доза составляет 0,1–0,6 г.

Соединения мышьяка относятся к капиллярно-токсическим ядам

Острое отравление соединениями мышьяка характеризуется двумя формами – желудочно-кишечной и паралитической Симптомы *желудочно-кишечной формы* проявляются через 0,5–2 ч после приема яда. Это металлический вкус во рту, царапанье в области рта и зеве, боль в животе, рвота с желчью и кровью, затрудненное глотание, приступы кишечных колик, мучительная жажда. Затем возникает быстрое обезвоживание организма, связанное с гиперемией органов брюшной полости и поступлением большого

количества жидкости в кишечник, что проявляется в виде жидкого хлопьевидного стула с примесью крови и слизи. Потеря организмом жидкости приводит к возникновению болей и судорог в икроножных мышцах, конечности становятся холодными, ощущается сильная боль в печени, появляется желтуха, гемолитическая анемия, печеночно-почечная недостаточность. Смерть при этой форме отравления наступает через час или через 1–3 сут. после поступления яда в организм за счет сосудистого коллапса как следствие снижения тонуса сосудов и обезвоживания организма.

Паралитическая форма отравления соединениями мышьяка характеризуется глубоким поражением ЦНС и проявляется в слабости, оглушенности, головной боли, чувстве страха, бреде. Возникают подергивания икроножных мышц, судороги, параличи. Может проявиться острый инфаркт миокарда или септический шок, потеря сознания, коллапс, кома и смерть от остановки дыхания.

При ингаляционных отравлениях мышьяковистым водородом быстро развиваются тяжелый гемолиз, гемоглинурия, цианоз, на 2–3-и сутки проявляется печеночно-почечная недостаточность.

Хроническое отравление проявляется нейропатией, токсической энцефалопатией, поражением легких (изнуряющий кашель), постоянной субфебрильной температурой, отечностью конечностей, упадком сил, общей усталостью. Периодически возникают схваткообразные боли в животе, поносы, тошнота. На ногтях проявляются белые горизонтальные линии длиной 1–2 мм. Характерны параличи некоторых групп мышц, атрофия зрительного нерва со слепотой

Патологоанатомическая картина нехарактерна. При длительном течении отравления наблюдают жировое перерождение печени, почек, сердечной мышцы, кровоизлияния в серозных оболочках, жидкое (в виде рисового отвара) содержимое кишечника

Для обнаружения мышьяка в минерализате предложено использовать атомно-абсорбционную спектрометрию и химический метод.

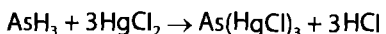
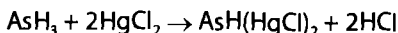
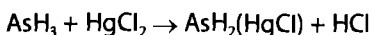
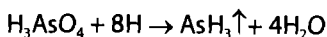
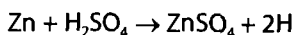
Атомно-абсорбционная спектрометрия. Обнаружение мышьяка проводят по характерной для мышьяка линии резонансного перехода при длине волны 193,7 нм.

Оценка метода. Предел обнаружения составляет 2 мкг мышьяка в 1 мл исследуемой пробы.

Химический метод основан на использовании реакций восстановления.

Реакция Зангер–Блека (предварительная). 2 мл минерализата помещают в пробирку, прибавляют 5 мл 4 М раствора серной кислоты, 0,5 мл 10% раствора хлорида олова(II) в концентрированной серной кислоте и 2 г купрированного цинка. Пробирку закрывают фильтровальной бумагой, обработанной хлоридом ртути(II). Под реактивной бумагой в пробирке помещают тампон ваты, пропитанной раствором ацетата свинца и высушенной. По истечении 60 мин реактивная бумага окрашивается в желтый или коричневый цвет (в зависимости от количества соединений мышьяка).

Реакция основана на восстановлении мышьяковой кислоты цинком в присутствии серной кислоты до мышьяковистого водорода, который является легколетучим соединением и реагирует с хлоридом ртути(II).



желтое или коричневое
окрашивание

Если в минерализате присутствуют соединения сурьмы в количестве 2 мг и более, она может также дать окрашенное пятно на реактивной бумаге. При бурно текущей ре-

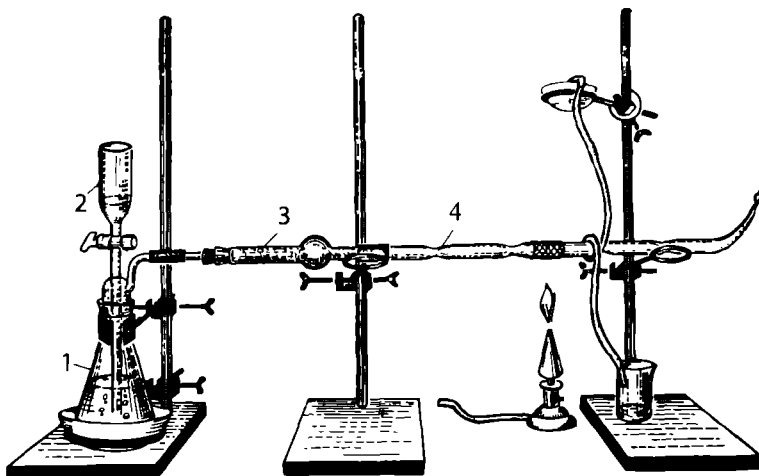
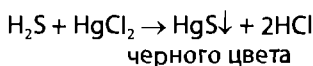
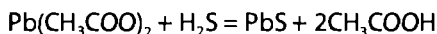


Рис. 89. Прибор Марша для обнаружения мышьяка: 1 – колба для проведения реакции восстановления; 2 – делительная воронка; 3 – хлоркальциевая трубка; 4 – восстановительная трубка Марша.

акции между цинком и серной кислотой может образоваться сероводород, способный реагировать с дихлоридом ртути.



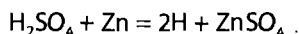
Вата, пропитанная ацетатом свинца, служит для исключения влияния сероводорода.



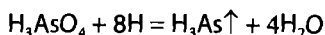
Оценка реакции. Реакция неспецифична, так как такой же результат дает сурьма. В 100 г исследуемого объекта соединения мышьяка можно обнаружить в количестве 0,01 мг или 0,1 мкг в 2 мл минерализата. Имеет судебно-химическое значение при отрицательном результате.

Обнаружение мышьяка в аппарате Марша. Способ предложен Маршем в 1836 г. В усовершенствование прибора Марша внесли изменения химики различных стран (Берцелиус, Либих, Мор, Нелюбин и др.). Этот способ обнаружения мышьяка в настоящее время используется в судебно-химических лабораториях в качестве основного, так как при проведении исследования возможна проверка полученного результата с помощью различных реакций и приемов. Прибор Марша (в современном виде) представлен на рисунке 89.

Прибор состоит из трех частей: конической колбы (1) емкостью 100–150 мл с делительной воронкой (2), хлоркальциевой трубки (3), восстановительной трубки Марша (4), которая изготавливается из тугоплавкого стекла и имеет суженные и расширенные части. Конец трубки Марша вытянут и согнут почти под прямым углом. В колбу помещают 10 г купрированного цинка (куприруют цинк погружением в 0,05% раствор сульфата меди, затем промывают) и 20 мл серной кислоты, разведенной водой в соотношении 1:10. Куприрование необходимо для ускорения реакции цинка с серной кислотой. В хлоркальциевой трубке находится безводный хлорид кальция для осушения выходящих из колбы прибора Марша газообразных веществ (водорода и арсина). Вначале из системы вытесняют кислород образующимся в ходе реакции водородом.

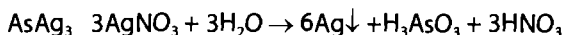
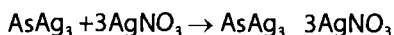
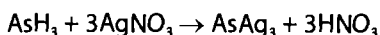


Затем через делительную воронку в колбу по каплям вносят 20 мл минерализата, к которому для устранения влияния посторонних ионов добавляют 2 мл 10% раствора хлорида олова(II) в 50% серной кислоте. Мышьяковая кислота, содержащаяся в минерализате, восстанавливается до арсина (мышьяковистого водорода).

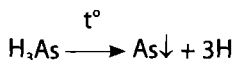


Выделяющийся мышьяковистый водород за счет легучести поступает в трубку Марша. Для обнаружения мышьяка в аппарате используют следующие испытания и реакции:

- Поджигают выделяющийся газ у конца восстановительной трубки. При наличии мышьяка пламя окрашивается в синеватый цвет, ощущается запах чеснока.
- К горящему пламени подносят фарфоровую чашечку – наблюдают образование буровато-серого налета металлического мышьяка на ее холодной поверхности.
- Гасят пламя у конца восстановительной трубки и подносят к нему бумажку, смоченную аммиачным раствором нитрата серебра – наблюдают появление черного окрашивания (за счет образования металлического серебра).

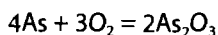


- Горелку подставляют под трубку Марша (к расширенной части) и нагревают до слабо-красного каления (температура – более 350°C). Суженное место восстановительной трубки, следующее за местом нагрева, охлаждают с помощью мокрого фитиля. Нагрев ведут в течение часа. На месте охлаждения наблюдают образование серо-бурого налета с металлическим блеском.



Если в минерализате присутствует сурьма в количестве 2 мг в 100 граммах объекта, в восстановительной трубке образуется налет матово-черного цвета, располагающийся по обе стороны от места нагрева. При образовании в реакционной колбе сероводорода, в восстановительной трубке на месте охлаждения образуется налет желтоватого или бурого цвета. При наличии в реакционной колбе органических веществ (при неполном разрушении объекта или наличии сахаров и т.п.) на месте охлаждения в восстановительной трубке наблюдают образование черного налета угля.

Дальнейшие испытания проводят следующим образом. Восстановительную трубку отделяют и место налета осторожно нагревают на пламени микрогорелки. Металлический мышьяк окисляется кислородом воздуха. Серо-бурый налет изменяет цвет на белый.



Налеты серы и угля исчезают за счет образования легучих соединений CO_2 и SO_2 . Сурьма образует аморфный налет. При рассматривании образовавшегося белого налета под микроскопом видны характерные кристаллы оксида мышьяка (см. рис. 90). Появление характерных кристаллов является убедительным доказательством наличия мышьяка в исследуемом объекте.

Восстановительная трубка и микрофотографии налета на ней, имеющего характерную форму кристаллов в виде октаэдров, могут быть приложены к акту судебно-химической экспертизы и служить доказательством правильности заключения эксперта, проводившего анализ.

Если налет в трубке не имеет кристаллического строения, что может быть при малых количествах мышьяка, его смывают 2–3 каплями 50% азотной кислоты, упаривают полученный раствор на предметном стекле, остаток растворяют в 1–2 каплях 10% хлороводородной кислоты. К раствору добавляют 1–2 кристаллика хлорида цезия и несколько кристалликов йодида калия. При наличии мышьяка образуется красный осадок $\text{Cs}_2\text{AsI}_5 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$. Под микроскопом осадок имеет вид шестилучевых звездочек и шестигульников (см. рис. 91, 1). Кристаллы сурьмы $\text{Cs}_2\text{SbI}_5 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$ напоминают по своему виду кристаллы мышьяка (см. рис. 91, 3).

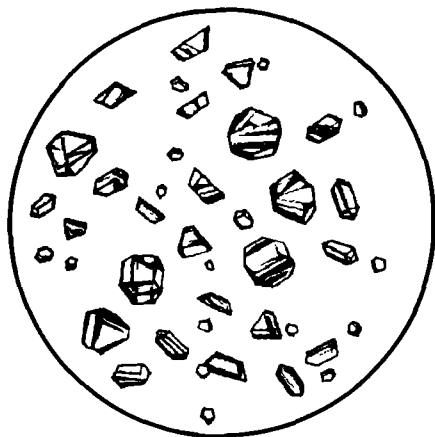


Рис. 90. Кристаллы оксида мышьяка.

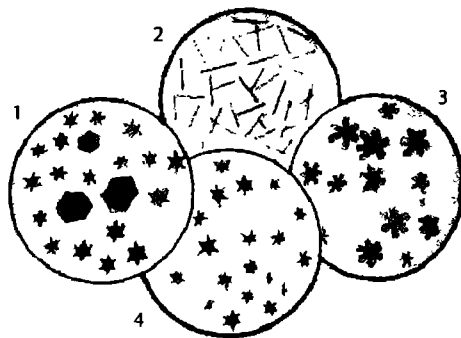


Рис. 91. Кристаллы мышьяка и сурьмы с хлоридом цезия и йодидом калия (1, 3) и их изменение под действием пиридина (2, 4)

При добавлении к осадку пиридина кристаллы соли мышьяка растворяются. Через несколько минут появляются зелено-желтые игольчатые кристаллы (рис. 91, 2). Кристаллы соли сурьмы теряют окраску, но их форма остается прежней – в виде шестилучевых звездочек и табличек (рис. 91, 4).

Оценка реакций. Предел обнаружения с помощью микрокристаллоскопической реакции образования двойной йодистой соли цезия и мышьяка в присутствии пиридина составляет для мышьяка 0,01 мкг при разведении 1:1 000 000. Таким образом, эта реакция позволяет обнаружить малые количества мышьяка в объекте и отличить мышьяк от сурьмы при исследовании минерализата в аппарате Марша.

Границей обнаружения мышьяка по реакциям в аппарате Марша является его содержание в 100 г исследуемого объекта (печень, почки) в количестве 0,01 мг.

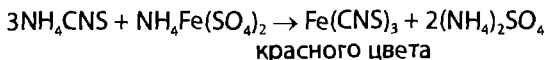
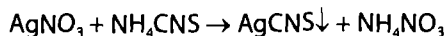
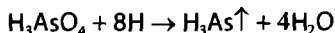
Количественное определение проводится с помощью атомно-абсорбционной спектрометрии, титриметрическим, фотоколориметрическим методами и визуальным колориметрическим методом на основе реакции Зангер–Блека.

Атомно-абсорбционная спектрометрия. Определение ведут по величине светопоглощения при длине волны 193,7 нм. Расчет концентрации проводят по градуировочному графику или с помощью метода добавок.

Титриметрический метод основан на восстановлении мышьяковой кислоты в минерализате до летучего мышьяковистого водорода с последующим поглощением его титрованным раствором нитрата серебра (рис. 92).

В коническую колбу (1) вносят 15 г купированного цинка и закрывают пробкой с делительной воронкой (2) и отводной трубкой, которую опускают в приемник (3), содержащий 50–100 мл 0,01 М раствора нитрата серебра, подщелоченного 0,5–1 мл 8 М раствора аммиака. Приемник соединяют с 2–3 уловителями, в которых также находится подщелоченный раствором аммиака титрованный раствор нитрата серебра. В воронку помещают 20–100 мл минерализата и добавляют в него 2 мл 10% раствора хлорида олова.

Содержимое воронки постепенно спускают в реакционную колбу (1) в течение 2–3 ч. Затем содержимое всех уловителей (3–6) объединяют, подкисляют концентрированной азотной кислотой и титруют избыток нитрата серебра 0,01 М раствором тиоцианата аммония (индикатор – железоаммониевые квасцы) до появления розового окрашивания.



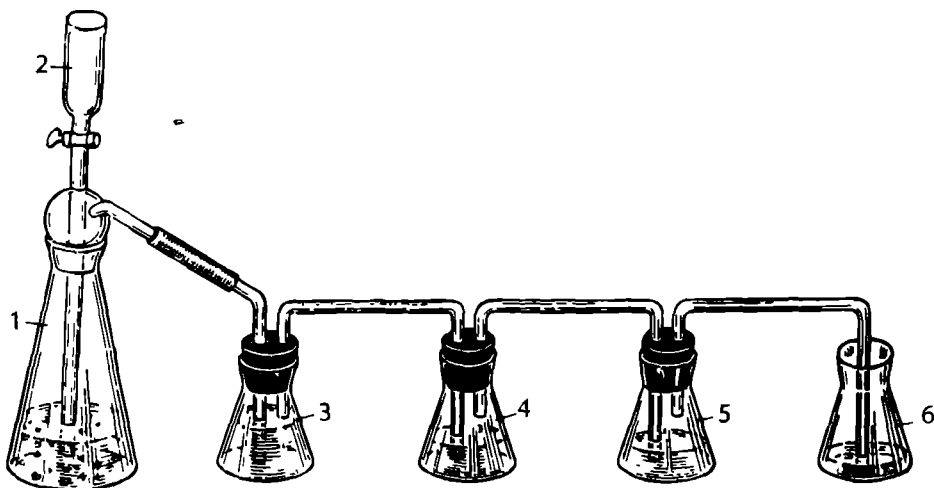


Рис. 92. Прибор для количественного определения мышьяка титриметрическим методом. 1 – колба для восстановления мышьяковой кислоты до мышьяковистого водорода (арсина); 2 – делительная воронка; 3–6 – уловители арсина, содержащие титрованный раствор нитрата серебра

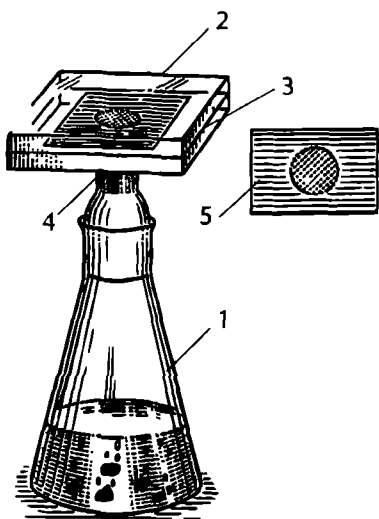


Рис. 93. Прибор Зангер–Блека (по А В Беловой): 1 – реакционная колба; 2, 3 – планки насадки с реактивной бумажкой, смоченной хлоридом ртути(II), 4 – тампон ваты в горлышке насадки, обработанный раствором ацетата свинца и высушенный; 5 – реактивная бумажка после воздействия на нее арсина.

Фотоколориметрический метод основан на цветной реакции взаимодействия мышьяковистого водорода (арсина) с раствором диэтилдитиокарбамата серебра в пиридине. Восстановление мышьяка до мышьяковистого водорода проводят так же, как и в предыдущем методе. Используют один приемник с поглотительным раствором диэтилдитиокарбамата серебра в пиридине. Арсин взаимодействует с диэтилдитиокарбаматом серебра, и раствор окрашивается в красно-фиолетовый цвет. Оптическую плотность определяют при длине волны 540 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Расчеты ведут, используя калибровочный график. Метод позволяет определить 0,01–10 мг мышьяка в 100 г объекта.

Визуальный колориметрический метод Зангер–Блека. Он основан на фиксации арсина бромортутной или хлорортутной бумажкой по методике, описанной в разделе «обнаружение мышьяка» по реакции Зангер–Блека. Определение ведут в специальном приборе (рис. 93).

На фильтровальной бумаге образуется пятно, окрашенное от желтого до коричневого цвета. Окраску сравнивают со стандартной шкалой, построенной по той же методике в интервале концентраций 0,1–1,2 мкг мышьяка. Метод применим для определения мышьяка в пределах 0,001–0,01 мг в 20 мл минерализата.

10.5.7. Соединения меди

Свойства и токсикологическое значение. Медь – пластичный, розовато-красный металл с характерным металлическим блеском. Тонкие пленки меди при просвечивании имеют зеленовато-голубой цвет. Медь широко применяется в промышленности в связи с ее высокой электро- и теплопроводимостью, пластичностью. Она используется для изготовления электрических проводов, шин, токопроводящих частей электрических установок. Медь применяют в виде сплавов, важнейшие из которых – бронза, латунь, мельхиор и др.

Неорганические препараты применяются как фунгициды, пигменты для керамики, стекла, эмалей, глазурей, стабилизаторы искусственных волокон, в качестве протравы при крашении тканей, для изготовления краски «малахитовая зелень», медьсодержащих катализаторов, электролитов в гальванотехнике и т.п.

В медицине применяют сульфат меди в виде кристаллогидрата. Это синие кристаллы или синий кристаллический порошок без запаха, металлического вкуса, легко растворимый в воде. Растворы имеют слабокислую реакцию. Применяют как антисептическое и вяжущее средство в виде 0,25% растворов при конъюнктивитах, иногда для промывания при уретритах и вагинитах. Медь является микроэлементом и играет определенную роль в процессах метаболизма, поэтому соли меди включены в комплексные поливитаминные препараты «Квадевит», «Глутамевит», «Олиговит», «Компливит» и др.

Соединения меди в организм попадают ингаляционно или через желудочно-кишечный тракт. С пищей ежедневно поступает в организм 2–5 мг меди, из которых усваивается 30%. Соединения меди выделяются через ЖКТ. Ионы меди в организме блокируют SH-группы белков, в особенности ферментов. Вступая в реакцию с белками тканей, они оказывают резкое раздражающее действие на слизистые оболочки верхних дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта. В крови циркулирует медь, связанная с α -глобулином. До 90% меди откладывается в печени. Соединения меди вызывают гемолитическую и дегенеративные изменения в паренхиматозных органах.

Острое отравление. Ингаляционное отравление возникает при вдыхании пыли меди при зачистке медных валов, шлифовке медных шайб, сварке и резке изделий из меди, прокатке медной проволоки, при использовании в качестве фунгицидов. Через 1–3 ч наблюдается раздражение слизистых оболочек, сладкий вкус во рту, затем сильный озноб, температура повышается до 39°C и выше, наблюдается обильный пот, общая слабость, ноющие боли в мышцах, головная боль, раздражение слизистой оболочки глотки и гортани, кашель с зеленой мокротой. Часто появляется бронхит, тахикардия, «меднопротравная лихорадка», которая длится 3–4 дня. Ее особенность, в отличие от «литейной (цинковой)», заключается в поражении желудочно-кишечного тракта, проявляющемся в резкой боли, вздутии живота. Некоторые соединения меди вызывают отек легких, поражение ЦНС, что приводит к быстрой смерти.

При попадании соединений меди внутрь наблюдается металлический вкус во рту, тошнота, рвота (рвотные массы окрашены в зеленый цвет), боль в животе, диарея, сильная жажда, желтуха. В крови появляются признаки гемолитической анемии, в моче белок, язык и слизистые рта синего цвета, может наступить коматозное состояние, в тяжелых случаях – судороги. Причиной смерти является острая почечная недостаточность.

Хронические отравления. При длительном поступлении малых доз соединений меди в организм наблюдаются функциональные расстройства нервной системы, изъязвление и перфорация носовой перегородки, нарушаются функции печени и почек. Наблюдается повышенное содержание меди в волосах, поражение зубов и слизистой оболочки рта,

язвенная болезнь желудка Кожа лица, волосы и конъюнктивга глаз окрашиваются в зеленовато-желтый или зеленовато-черный цвет, на деснах наблюдается темно-красная или пурпурно-красная кайма

Патологоанатомическая картина выявляет кровоизлияния в слизистую оболочку желудка и кишечника, очаговые и различные некрозы в печени и почках, нефроз, слизистые оболочки часто покрыты голубоватым налетом.

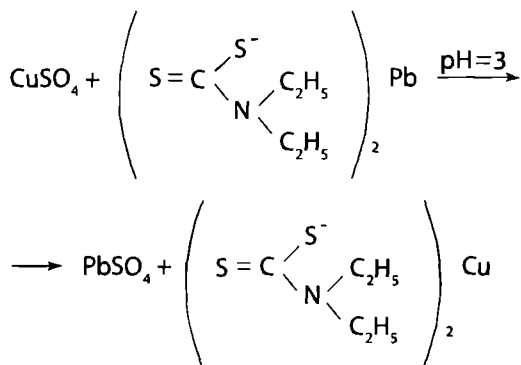
Для обнаружения соединений меди рекомендованы атомно-абсорбционная спектрометрия и химический метод.

Атомно-абсорбционная спектрометрия. Обнаружение меди проводится по характерной для меди линии резонансного перехода при длине волны 324,7 нм

Оценка метода Предел обнаружения составляет 0,15 мкг меди в 1 мл исследуемой пробы.

Химический метод основан на реакциях комплексообразования меди

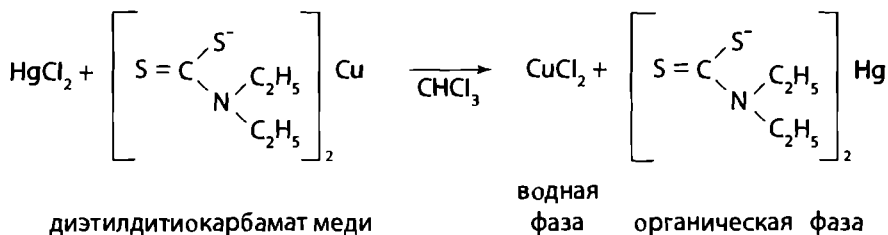
Выделение меди из минерализата (предварительная реакция). К 10 мл минерализата прибавляют 25% раствор аммиака до pH=3 (по универсальному индикатору) и взбалтывают с 5 мл хлороформного раствора диэтилдителиокарбамата свинца. В присутствии соединений меди слой хлороформа окрашивается в желтый или коричневый цвет



диэтилдителиокарбамат меди желтого или коричневого цвета
(в слое хлороформа)

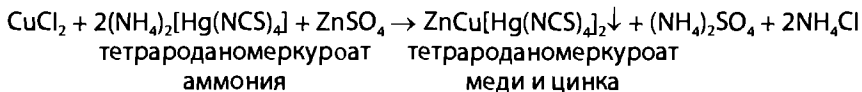
Оценка. Предел обнаружения составляет 0,5 мкг меди в 1 мл исследуемого раствора. Реакция имеет судебно-химическое значение при отрицательном результате.

Основное исследование на соли меди (подтверждающие реакции). Хлороформный слой, содержащий диэтилдителиокарбамат меди, взбалтывают с 6 М раствором хлороводородной кислоты с целью разрушения избытка реактива – диэтилдителиокарбамата свинца, взбалтывают К хлороформному слою по каплям прибавляют 1% раствор хлорида ртути(II) до тех пор, пока не наступит обесцвечивание слоя хлороформа. Затем, не отделяя слой хлороформа, в делительную воронку вносят 2 мл воды очищенной и интенсивно взбалтывают Через 2 мин слой хлороформа отделяют от водной фазы



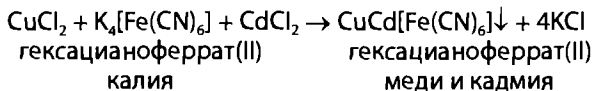
Полученную водную фазу исследуют следующими реакциями.

Реакция с тетраданомеркуроатом аммония и сульфатом цинка. К 0,5 мл водной фазы добавляют несколько капель 5% раствора сульфата цинка и несколько капель тетраданомеркуроата аммония. При наличии ионов меди образуется осадок розово-лилового цвета.



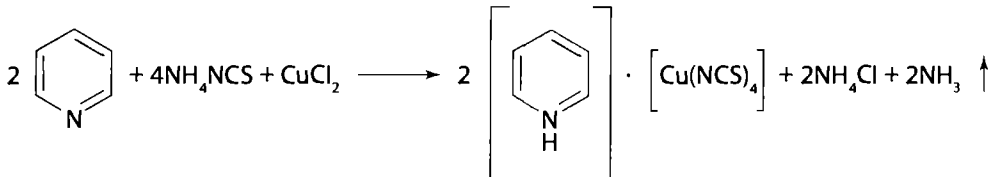
Оценка. Реакция специфична, предел обнаружения – 0,1 мкг меди в 1 мл исследуемого раствора.

Реакция с гексацианоферратом(II) калия и хлоридом кадмия. К 0,5 мл водной фазы прибавляют 2 капли 5% раствора гексацианоферрата(II) калия и 10 капель 2% раствора хлорида кадмия. При наличии в растворе ионов меди образуется осадок, окрашенный в лиловый цвет.



Оценка. Предел обнаружения – 0,1 мкг меди в 1 мл исследуемого раствора.

Реакция с пиридин-родановым реактивом. К 0,5 мл водной фазы прибавляют по каплям 1 мл пиридин-роданового реактива. Образуется осадок. При добавлении 2 мл хлороформа и взбалтывании слой хлороформа окрашивается в изумрудно-зеленый цвет.



пиридин-родановый комплекс меди

Оценка. Предел обнаружения по этой реакции составляет 1 мкг меди в 1 мл исследуемого раствора.

Количественное определение меди проводят с помощью атомно-абсорбционной спектроскопии, комплексонометрическим и экстракционно-фотометрическим методами.

Атомно-абсорбционная спектроскопия. Определение проводится по величине светопоглощения при длине волны 324,7 нм. Расчет концентрации проводят по градуировочному графику или методом добавок.

Экстракционно-фотометрический метод основан на получении диэтилдитиокарбамата меди по методике, описанной в разделе «обнаружение меди». Экстракцию хлороформом диэтилдитиокарбамата меди проводят несколько раз до момента получения бесцветного экстракта. Слой хлороформа, окрашенный в желтый или коричневый цвет, отделяют. Оптическую плотность экстракта определяют при 435 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Расчет содержания меди проводят, используя калибровочный график. Медь достоверно определяется экстракционно-фотометрическим методом при ее содержании в 100 г объекта в количестве 0,05–1 мг.

Комплексонометрический метод основан на выделении меди из определенного объема минерализата в виде диэтилдитиокарбамата, экстракции в водную фазу в присутствии раствора хлорида ртути(II) по методике, описанной в разделе «обнаружение меди». К водному извлечению добавляют 1–2 г йодида калия, чтобы связать избыток хлорида ртути(II), 0,1 г смеси мурексида с хлоридом натрия (1:200), 1–2 капли раствора

аммиака до получения желтой окраски жидкости и титруют 0,01 М раствором комплекса III при энергичном перемешивании до перехода желтой окраски раствора в ярко-фиолетовую. Медь этим методом достоверно определяется в 100 г объекта при содержании 0,5–100 мг и более.

10.5.8. Соединения висмута

Свойства и токсикологическое значение. Висмут – серебристо-серый металл с розовым оттенком, имеет грубозернистое строение. Применяется для получения сплавов с низкой температурой плавления, в ядерных реакторах в качестве теплоносителя, в различных приборах.

Соединения висмута используются в радиоэлектронике благодаря их пьезоэлектрическим и электрооптическим свойствам, как материалы термоэлектрических генераторов, как твердые электролиты, катализаторы, компоненты косметических средств, в ветеринарии и т.п.

В медицинской практике применяется «Висмута нитрат основной». Это белый аморфный или мелкокристаллический порошок, практически нерастворим в воде и спирте, легко растворим в хлороводородной кислоте. Оказывает вяжущее и противовоспалительное действие. Внутри его применяют при язве желудка, двенадцатиперстной кишки, гастритах.

Висмута нитрат основной применяют в комбинированных препаратах «Викалин», «Викаир», «Алцид» в сочетании с холиноблокаторами, спазмолитиками. Препарат «Висмута салицилат основной» оказывает антацидное и противодиарейное действие. Известны препараты висмута «Де-Нол», содержащий висмута трикалия дицитрат, и «Пилорид», содержащий ранитидин и висмута цитрат.

Висмут – это естественно содержащийся в организме в следовых количествах элемент. После всасывания соединения висмута способны длительно задерживаться в организме. Они кумулируются в печени, почках, селезенке, легких, ткани мозга, что позволяет обнаружить висмут через длительный срок после попадания в организм. Более ядовиты легкорастворимые соединения висмута. Труднорастворимые соли под действием хлороводородной и молочной кислот переходят в легкорастворимые комплексы, которые всасываются в кишечнике.

Соединения висмута относятся к почечным ядам. Они оказывают прямое токсическое действие на ткань почек, вызывают расстройство почечного кровотока на фоне нарушения общего кровообращения.

Профессиональные отравления или кожные заболевания при работе с висмутом и его соединениями неизвестны. Длительное применение (в течение примерно 2 лет) препаратов висмута с лечебной целью приводит к окрашиванию кожных покровов в серый цвет. Симптомы хронического воздействия проявляются как слабость, понижение аппетита, лихорадка, боли, напоминающие ревматические, дурно пахнущее дыхание, почечные расстройства, черная полоса на деснах, изменения костей.

Выводятся соединения висмута через почки, ЖКТ, потовые железы, что приводит к кожному зуду и дерматитам.

Для обнаружения висмута в минерализате рекомендованы атомно-абсорбционная спектроскопия и химический метод.

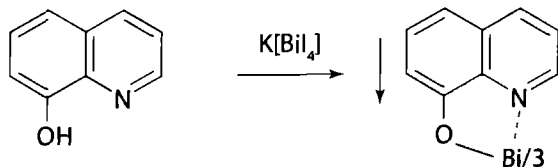
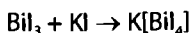
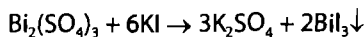
Атомно-абсорбционная спектроскопия. Обнаружение висмута проводится по характерной для него линии резонансного перехода при длине волны 223,1 нм.

Оценка метода. Предел обнаружения составляет 0,8 мкг висмута в 1 мл исследуемой пробы.

Химические методы основаны на использовании различных реакций комплексообразования.

Реакция с оксином (8-оксихинолином). К 10 мл минерализата прибавляют 0,5 г аскорбиновой кислоты, 0,5 г сегнетовой соли, 1 мл 10% раствора йодида калия. Появляется интенсивное желтое окрашивание. После этого по стенкам пробирки осторожно наслаивают

вают 1–2 мл 2% раствора оксина в 2 М растворе хлороводородной кислоты. При наличии иона висмута на границе соприкосновения растворов наблюдают образование оранжево-желтого осадка. Если количество висмута в 100 г объекта менее 2 мг и осадок не образуется, к смеси добавляют 2–3 мл смеси ацетона и амилацетата (1:1). При встряхивании слой органического растворителя окрашивается в розово-оранжевый цвет.

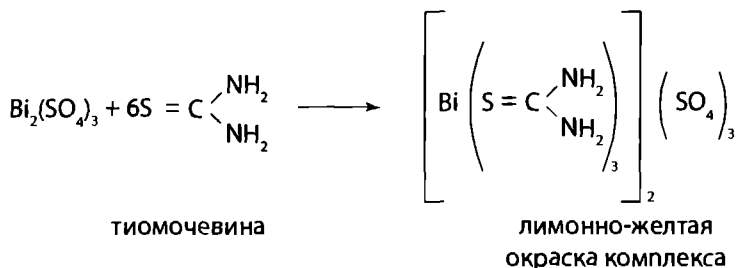


оксин
(8-оксихинолин)

осадок оранжевого
цвета

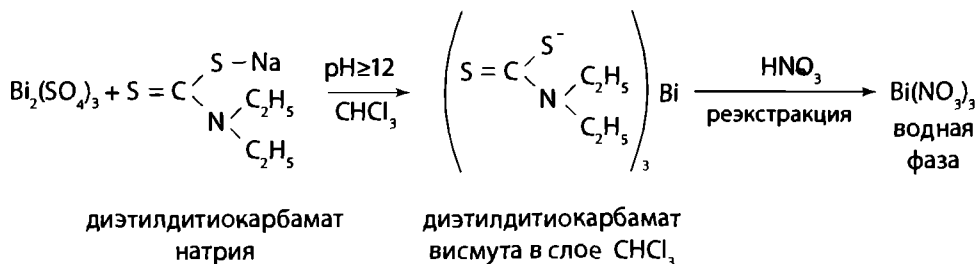
Оценка. Предел обнаружения по этой реакции – 0,005 мкг висмута в исследуемом объеме минерализата. Реакции придается судебно-химическое значение при отрицательном результате.

Реакция с тиомочевинной. К 5 мл минерализата прибавляют 3–5 мл насыщенного водного раствора тиомочевины. При наличии ионов висмута наблюдают появление лимонно-желтого окрашивания.



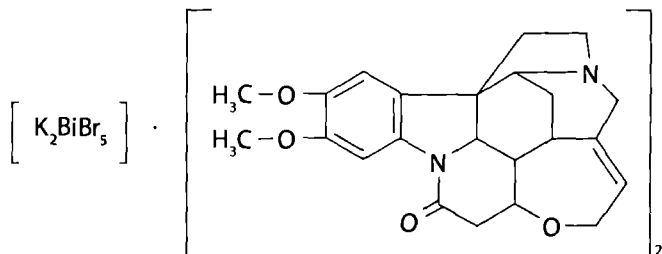
Оценка. Реакция неспецифична, предел обнаружения – 0,005 мкг висмута в 1 мл исследуемого раствора. Реакции придается судебно-химическое значение при отрицательном результате.

Выделение ионов висмута из минерализата. В делительную воронку помещают 10 мл минерализата, добавляют 0,1 г комплексона III, 3 М раствор гидроксида натрия или калия до $\text{pH} \geq 12$ (по универсальному индикатору), 2–3 мл 1% раствора диэтилдитиокарбамата натрия и 5 мл хлороформа. Смесь энергично встряхивают. Слой хлороформа отделяют и проводят реэкстракцию висмута в водную фазу путем встряхивания в течение 60 с с 2–3 мл 4 М раствора азотной кислоты. Водную фазу отделяют, промывают 0,5–1 мл хлороформа и используют для исследования.



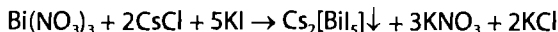
Подтверждающие реакции на висмут с реэкстрактом

Реакция с бруцином и бромидом калия. 1/3 реэкстракта выпаривают на предметном стекле досуха, добавляют каплю 2 М азотной кислоты, каплю насыщенного раствора бруцина в 10% растворе серной кислоты и каплю 5% раствора бромида калия. Сразу или через несколько минут образуются желто-зеленые кристаллы, собранные в сфериды. При добавлении йодида калия цвет кристаллов изменяется на красный (в отличие от кадмия, который также образует характерные кристаллы с бруцином и бромидом калия, но не меняет цвета при добавлении йодида калия).



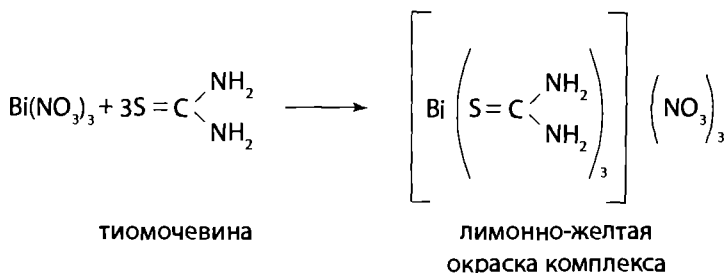
Оценка Реакция неспецифична, предел обнаружения – 0,4 мкг висмута в 1 мл исследуемого раствора

Реакция с хлоридом цезия и йодидом калия. 1/3 реэкстракта упаривают на предметном стекле досуха. На сухой остаток наносят 1–2 капли 3 М раствора хлороводородной кислоты и вводят с одной стороны капли кристаллик хлорида цезия, а с другой – кристаллик йодида калия. Сразу или через несколько минут образуются оранжево-красные кристаллы в виде шестиугольников и правильных шестилучевых звезд.



Оценка. Реакция неспецифична, предел обнаружения – 0,1 мкг висмута в 1 мл исследуемого раствора.

Реакция с тиомочевинной. Смешивают 1/3 реэкстракта с равным объемом насыщенного раствора тиомочевинны. В присутствии висмута появляется лимонно-желтое окрашивание



Оценка. Реакция неспецифична, предел обнаружения – 0,005 мкг висмута в 1 мл исследуемого раствора

Количественное определение. Для количественного определения висмута используют атомно-абсорбционную спектрометрию, а также фотоколориметрический и комплексонометрический методы.

Атомно-абсорбционная спектрометрия. Определение проводят по величине светопоглощения при длине волны линии резонансного перехода 223,1 нм. Для расчета концентрации висмута используют градуировочный график или метод добавок.

Комплексонометрический метод. Из минерализата висмут выделяют в виде диэтилдитиокарбамата экстракцией хлороформом с последующей реэкстракцией в водную фазу

встряхиванием с 5 мл 4 М раствора азотной кислоты по методике, описанной в разделе «обнаружение висмута». В полученном резкстракте устанавливают pH=3–4 по универсальному индикатору и титруют 0,01 М раствором комплексона III до перехода синей окраски в желтую (индикатор – пирокатехиновый фиолетовый). Метод позволяет достоверно определять висмут при его содержании в 100 г объекта в количестве 1–100 мг и более.

Фотозлектроколориметрический метод. Висмут из минерализата выделяют в виде диэтилдитиокарбамата в слой хлороформа, проводят резкстракцию с помощью азотной кислоты в водную фазу. К резкстракту добавляют избыток тиомочевины. Получают желтую окраску раствора. Оптическую плотность измеряют при 470 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Расчет содержания висмута проводят по калибровочному графику. Висмут этим методом определяется в пределах 0,1–1 мг в 100 г объекта.

10.5.9. Соединения цинка

Свойства и токсикологическое значение. Цинк – голубовато-белый металл, окисляющийся на воздухе. Применяется для получения сплавов с цветными металлами (латунь, томпак, нейзильбер), в производстве гальванических элементов и аккумуляторов, для защиты стальных изделий от коррозии.

Соединения цинка находят применение как пигменты для красок, наполнители резины, в производстве стекла, керамики, спичек, целлулоида, зубного цемента, косметических средств, в текстильной промышленности, для консервирования древесины, в целлюлозно-бумажной промышленности, в производстве вискозных волокон, при лужении и паянии, в гальванотехнике, в качестве удобрений, зооцидов (фосфид цинка).

Цинк является микроэлементом. Высокое его содержание отмечено в поджелудочной и предстательной железе, мышцах, костях, почках, волосах.

В медицинской практике препараты цинка также находят применение. «Цинка сульфат» – бесцветные прозрачные кристаллы или мелкокристаллический порошок вяжущего вкуса, без запаха, легко растворим в воде, нерастворим в спирте. Водные растворы имеют кислую реакцию. Применяют как антисептическое и вяжущее средство при конъюнктивитах, ларингитах, уреитах в виде драже, таблеток, глазных капель. «Цинка оксид» – белый или белый с желтоватым оттенком аморфный порошок без запаха. Практически нерастворим в воде и спирте, растворим в разведенных минеральных кислотах и уксусной кислоте. Используют как наружное средство в виде присыпок, мазей, паст, как вяжущее антисептическое средство (дерматиты, язвы, раны, ожоги, опрелости, пролежни и др.). Применяют «Цинковую мазь», «Цинко-нафталанную мазь с анестезином», «Салицилово-цинковую пасту», «Цинко-ихтиоловую пасту» и др.

Соединения цинка попадают в организм через дыхательные пути, ЖКТ, через кожные покровы и слизистые оболочки.

Наибольшую опасность для организма человека представляют попадание пыли, аэрозолей цинка и его соединений через легкие. Хронические отравления соединениями цинка могут происходить в производственных условиях. Повышенное содержание цинка в почве в радиусе 2–3 км от цинкового завода представляет опасность для населения. Токсичными являются многие соединения цинка, среди которых самым токсичным является фосфид цинка. Тяжелое отравление наступает при попадании в организм десятых долей грамма этого вещества и проявляется через несколько минут резкими болями в животе, слабостью, головокружением, многократной рвотой с примесью желчи и крови, пострадавший теряет сознание, смерть наступает в первые часы после приема яда. Токсический эффект связан также с действием фосфористого водорода, который образуется в желудке в результате разложения фосфида цинка хлороводородной кислотой желудочного сока.

Бытовые отравления соединениями цинка описаны при использовании паяльной жидкости (смесь хлорида цинка и концентрированной хлороводородной кислоты) по неосторожности или с суицидальной целью. Смертельная доза хлорида цинка – 5 г

или 150–200 мл паяльной жидкости. Пострадавшие жалуются на сильные боли в животе, сопровождающиеся многократной рвотой, часто с примесью крови, возникает состояние сильного возбуждения, сознание помрачается, наблюдаются непроизвольные подергивания мышц, судороги, развивается шоковое состояние, и может наступить смерть. При длительном течении отравления на фоне поражения пищеварительного тракта развивается острая почечная недостаточность с анурией, альбуминурией, азотемией. Выводятся соединения цинка через ЖКТ и в меньшей степени с мочой. На вскрытии наблюдается тяжелый ожог слизистых оболочек пищевода и желудка с некрозом эпителия и глубоких слоев слизистых оболочек. Слизистые оболочки рта и глотки сморщены, покрыты белым налетом. Отмечена частая перфорация стенки желудка. Печень, почки, сердечная мышца в состоянии выраженной дистрофии, в легких – пневмонические очаги. Наблюдается гемолиз крови, множественные кровоизлияния в различные органы и ткани, а также дистрофические изменения почек, печени, миокарда, наблюдаемые даже при быстрой смерти.

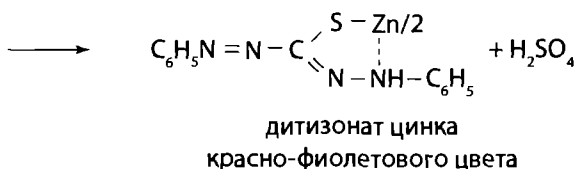
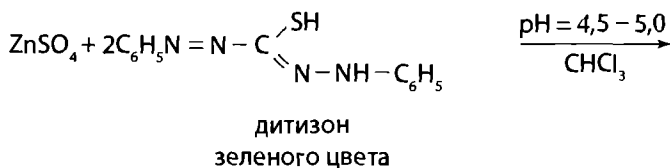
Для обнаружения цинка в минерализате рекомендуется использовать атомно-абсорбционную спектрометрию и химический метод.

Атомно-абсорбционная спектрометрия. Обнаружение цинка проводят по характерной для цинка линии резонансного перехода при длине волны 213,9 нм.

Оценка метода. Предел обнаружения цинка составляет 0,04 мкг в 1 мл исследуемой пробы.

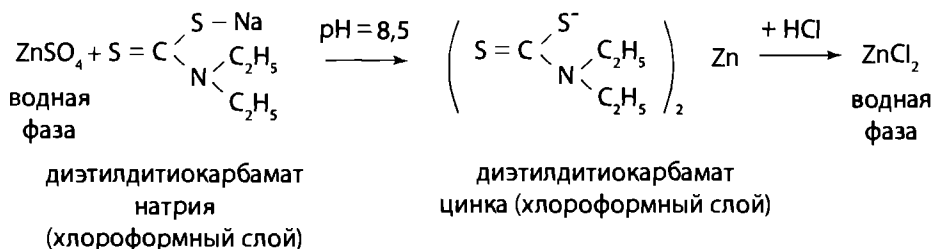
Химический метод анализа основан на использовании реакций комплексообразования и осаждения.

Реакция с дитизоном (предварительная). К 0,5 мл минерализата прибавляют 0,25 мл насыщенного раствора тиосульфата натрия, устанавливая pH=4,5–5,0 (по универсальному индикатору) с помощью ацетатного буферного раствора, добавляют 2 капли 0,01% раствора дитизона в хлороформе и 1 мл хлороформа. Полученный раствор энергично встряхивают. При наличии ионов цинка слой хлороформа окрашивается в розовый или красно-фиолетовый цвет.



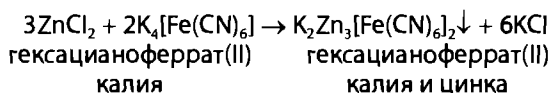
Оценка. Реакцией можно обнаружить в 100 г исследуемого объекта 5 мг цинка. Реакция имеет судебно-химическое значение при отрицательном результате.

Выделение цинка из минерализата. К 10 мл минерализата добавляют 4 мл раствора калия-натрия тартрата или 20% раствор лимонной кислоты (для маскирования железа), 1 мл насыщенного раствора тиомочевины (или тиосульфата натрия) для маскирования ионов кадмия и меди и доводят pH до 8,5 (по универсальному индикатору) с помощью 10% раствора гидроксида натрия. Смесь взбалтывают с 3 мл 1% раствора диэтилдитиокарбамата натрия и 5 мл хлороформа. Слой хлороформа отделяют, промывают 10 мл воды и встряхивают с 3 мл 1 М раствора хлороводородной кислоты. Водную фазу (резкстракт), содержащую хлорид цинка, отделяют и исследуют.

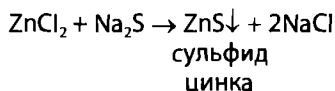


Подтверждающие реакции на ионы цинка с резкстрактом

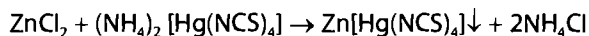
Реакция с гексацианоферратом(II) калия. К 1 мл резкстракта добавляют 10% раствор гидроксида натрия до pH=5 (по универсальному индикатору) и 2 капли 5% раствора гексацианоферрата(II) калия. Образуется осадок или муть белого цвета.



Реакция с сульфидом натрия. К 1 мл резкстракта прибавляют 10% раствор гидроксида натрия до pH=5 (по универсальному индикатору) и 3–4 капли свежеприготовленного 5% раствора сульфида натрия. Образуется осадок или муть белого цвета.



Реакция с тетраданомеркуроатом аммония. 3–4 капли резкстракта выпаривают досуха на предметном стекле. Сухой остаток растворяют в капле 10% раствора уксусной кислоты и прибавляют каплю раствора тетраданомеркуроата аммония. В присутствии ионов цинка образуются бесцветные одиночные клиновидные кристаллы или дендриты (рис. 94).



Оценка. Граница обнаружения цинка в 100 г объекта после экстракции в виде диэтилдитиокарбамата, резкстракции хлороводородной кислотой и использования перечисленных реакций составляет 0,5 мг.

Количественное определение рекомендуется проводить с помощью атомно-абсорбционной спектрометрии и методом комплексонометрического титрования.

Атомно-абсорбционная спектрометрия. Определение проводят по величине светопоглощения при длине волны 213,9 нм. Для расчета концентрации используют градуировочный график или метод добавок.

Комплексонометрическое титрование. Цинк из минерализата выделяют в виде диэтилдитиокарбамата по методике, описанной в разделе «обнаружение цинка». Резкстракцию в водную фазу проводят путем встряхивания хлороформного слоя, содержащего диэтилдитиокарбамат цинка, с 10 мл 0,2 М раствора хлороводородной кислоты.

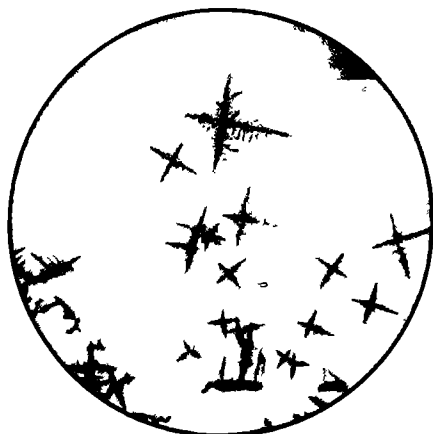


Рис. 94. Кристаллы тетраданомеркуроата цинка

К полученному резкстракту добавляют 1 мл 20% раствора лимонной кислоты, 10 мл аммиачного буферного раствора и титруют 0,01 М раствором комплексона III в присутствии эриохрома черного ET-00 до перехода красно-фиолетовой окраски в голубую.

Средняя относительная погрешность комплексонометрического определения катионов, выделенных из трупного материала, находится в пределах 3,6–13,1% в зависимости от количества «металлического» яда в 100 г органа (печени или почек).

Комплексонометрическим титрованием определяется 1–100 мг цинка в 100 г объекта.

10.5.10. Соединения сурьмы

Свойства и токсикологическое значение. Сурьма – серебристо-белый металл с синеватым оттенком, грубозернистого строения. Сурьма растворяется в концентрированной серной кислоте с образованием солей $Sb_2(SO_4)_3$, в присутствии концентрированной азотной кислоты окисляется до сурьмяной кислоты $H[Sb(OH)_6]$. Соли сурьмяной кислоты легко гидролизуются. Сурьма находит применение при получении сплавов для типографских шрифтов, подшипников, дроби, пуль, при цинковании кровельного железа, посуды, при изготовлении пластин цинковых аккумуляторов. В промышленности используются оксиды и соли сурьмы. Их применяют при изготовлении огнеупорных красок, эмалей, в качестве протравы в текстильной промышленности, для изготовления оптического стекла, керамики, резины, в пиротехнике, при вулканизации и окраске каучука, при изготовлении огнестойких текстильных изделий.

В организм соединения сурьмы могут поступать через дыхательные пути и желудочно-кишечный тракт.

При вдыхании паров или аэрозолей соединений сурьмы наблюдается раздражение слизистых оболочек глаз, помутнение роговицы, появляются общая слабость, насморк, стеснение в груди, тошнота, затрудненное дыхание, переходящее в удушье. Температура тела повышается, отмечаются заболевания верхних дыхательных путей, бронхиты, острые желудочно-кишечные расстройства. Развиваются признаки, свойственные «металлической лихорадке», в крови – гемолитическая анемия и эозинофилия. Поражаются центральная, периферическая нервная система и сердечная мышца.

При попадании в желудок (*острое отравление*) ощущается металлический вкус во рту, тошнота, рвота, боли в животе, понос с кровью. В тяжелых случаях наступает анурия, судороги, коллапс и смерть.

Хронические отравления. Основное действие соединений сурьмы – угнетение обмена веществ, поражение нервной системы и сердечной мышцы. Под влиянием соединений сурьмы нарушается ионный обмен, развивается дефицит внутриклеточного калия. За счет связывания сульфгидрильных групп белков и низкомолекулярных соединений нарушается обмен белков и углеводов. На кожных покровах наблюдается зуд, покраснение, пузырьковая сыпь, гнойнички. Поражается кожа головы, подбородка, век, внутренняя стенка ноздрей, наблюдается кайма на губах, сухость кожи, трещины на пальцах и около ноздрей. При хронических отравлениях сурьма из организма выводится очень медленно.

Соединения $Sb(III)$ токсичнее соединений $Sb(V)$ и обладают сильным раздражающим действием. Токсичность галогенидов сурьмы объясняется также действием продуктов гидролиза HCl и HF . Смертельная доза соединений $Sb(III)$ составляет 0,12–1,0 г. Соединения $Sb(III)$ обладают высоким сродством к белковой части гемоглобина и концентрируются в эритроцитах, а соединения $Sb(V)$ задерживаются в плазме крови.

Сурьма накапливается в легких, печени, почках. Металлическая сурьма и соединения $Sb(III)$ выделяются через кишечник, $Sb(V)$ – преимущественно почками.

При вскрытии наблюдается гиперемия легких, кровоизлияния в легких и в ЖКТ.

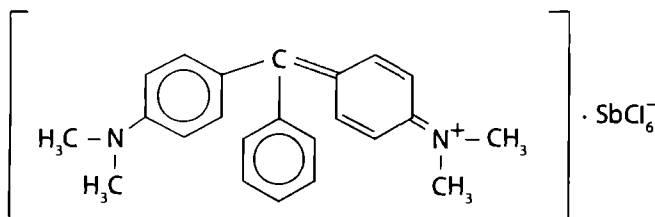
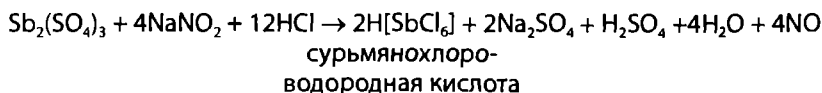
Для обнаружения сурьмы в минерализате предложена атомно-абсорбционная спектроскопия и химический метод.

Атомно-абсорбционная спектрометрия. Обнаружение сурьмы проводится по характерной для сурьмы линии резонансного перехода при длине волны 217,6 нм.

Оценка метода Предел обнаружения сурьмы составляет 1 мкг в 1 мл исследуемой пробы

Химический метод основан на использовании реакций с малахитовым (бриллиантовым) зеленым и образования сульфида сурьмы при взаимодействии с тиосульфатом натрия

Реакция с малахитовым (бриллиантовым) зеленым (предварительная). 5 мл минерализата помещают в делительную воронку, добавляют 1 мл концентрированной серной кислоты, 3 мл 5 М раствора хлороводородной кислоты. Затем прибавляют 3 капли 5% раствора нитрита натрия (для окисления сурьмы в пятивалентную), 7 капель 0,5% раствора малахитового зеленого, 2 г безводного сульфата натрия (с целью высаливания образующегося комплекса) и 5 мл толуола. Смесь энергично встряхивают в течение 15 с. При наличии сурьмы в минерализате слой толуола окрашивается в синий или голубой цвет, водный слой сохраняет оранжевую окраску. Слой толуола отделяют от водной фазы и встряхивают ~5 с с 3 мл 25% серной кислоты – окраска должна сохраниться.

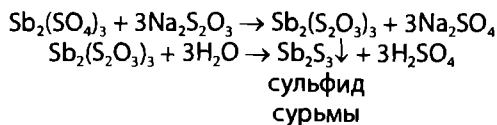


ионный ассоциат голубого цвета

Оценка Предел обнаружения по этой реакции – 0,05 мкг сурьмы в 1 мл исследуемого раствора, граница обнаружения 0,1 мг в 100 г объекта.

Комплекс голубого цвета с малахитовым зеленым образуют ионы таллия, золота и железа. При взбалтывании окрашенного слоя толуола с 25% раствором серной кислоты комплекс HFeCl_4 с малахитовым зеленым разрушается и окраска исчезает. Золото редко встречается в практике химико-токсикологического анализа как причина отравления или токсического действия на организм. Цвет комплекса с ионами таллия сохраняется.

Реакция с тиосульфатом натрия (подтверждающая). 5 мл минерализата помещают в пробирку, добавляют 5 капель насыщенного раствора тиосульфата натрия и кипятят 1–2 мин. В присутствии сурьмы сразу или через несколько минут образуется осадок сульфида сурьмы оранжевого цвета.



Таллий эту реакцию не дает, золото образует сульфид черного цвета.

Оценка Предел обнаружения – 0,01 мг сурьмы в исследуемом объеме минерализата.

Количественное определение. Для определения сурьмы предложена атомно-абсорбционная спектрометрия и экстракционно-фотометрический метод

Атомно-абсорбционная спектрометрия. Определение проводят по величине светопоглощения при длине волны 217,6 нм. Для расчета концентрации используют градуировочный график или метод добавок

Экстракционно-фотометрическое определение основано на получении ионного ассоциата сурьянохлороводородной кислоты с малахитовым зеленым, экстрагируемого толуолом. Реакцию проводят по методике, описанной в разделе «обнаружение сурьмы». Слой толуола, окрашенный в голубой (синий) цвет, отделяют и оптическую плотность определяют при длине волны 610 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Расчет концентрации ведут по калибровочному графику. Сурьма этим методом достоверно определяется при содержании в 100 г объекта в количестве 0,1–10 мг и более.

10.5.11. Соединения таллия

Свойства и токсикологическое значение. Таллий – белый металл с голубоватым оттенком. Он быстро окисляется на воздухе. Таллий применяется для производства подшипниковых кислотоустойчивых сплавов, в производстве специальных термометров, в различных приборах.

В настоящее время применяются неорганические и органические соединения таллия, они находят применение для изготовления линз и деталей приборов ИК-техники, ювелирных украшений, наполнения газозарядных ламп зеленого цвета, в производстве средств для удаления волос, в качестве дератизаторов и для других целей.

Соединения таллия могут попасть в организм через ЖКТ, ингаляционным путем в виде аэрозоля и через кожные покровы (в течение часа соли таллия могут всасываться на 100%). В организме таллий конкурирует с ионами калия в биохимических процессах за механизмы переноса ионов через биологические мембраны. Таллий замещает калий и выступает конкурентом в других жизненно важных процессах. Он вступает во взаимодействие с жирными кислотами сальных желез кожи, образует жирорастворимые соединения и таким образом проникает через кожный барьер.

Острое отравление. Скрытый период продолжается до 12–14 ч. Наиболее выраженная картина на 2–3-й неделе от момента отравления. Наблюдается тошнота, общая слабость, бессонница, усиленное слюноотделение. Затем развивается тахикардия, перебои в сердце в виде парестезий, онемение рук, губ. Токсическое действие усугубляется обезвоживанием и приводит к судорогам, галлюцинациям, болям в суставах, воспалению почек, интоксикационным психозам. Смерть наступает в результате нарушения сердечной деятельности и функции почек. Смертельная доза составляет при поступлении через ЖКТ 0,1–2 г. Водорастворимые соли таллия (ацетат, хлорид) более токсичны, чем малорастворимые (йодид).

Хроническое отравление протекает незаметно, начинается облысение, дерматиты, лишаеподобные сыпи. Возникает слабость мышц, их атрофия, изменяется окраска волос, они чернеют, выпадают. Действие таллия на волосы объясняется нарушением образования кератина в волосяных луковицах. Ногти деформируются, характерна голубоватая линия на деснах около зубных лунок. Обнаруживается неврит, атрофия зрительного нерва (снижение остроты зрения, нарушение цветоощущения), снижение памяти и интеллекта.

Таллий накапливается в организме в межклеточной жидкости, вступает в соединение с аминокислотами, откладывается в костях в виде фосфатов. Таллий быстро исчезает из крови после всасывания, распределяется по органам, концентрируясь, в основном, в почках и слюнных железах, костях, кишечнике, селезенке. Накапливается таллий в костях и волосах.

При вскрытии погибших от отравления соединениями таллия наблюдают кровоизлияния и некроз слизистой оболочки пищеварительного канала, дистрофические и некротические изменения в почках, перерождение печени и миокарда.

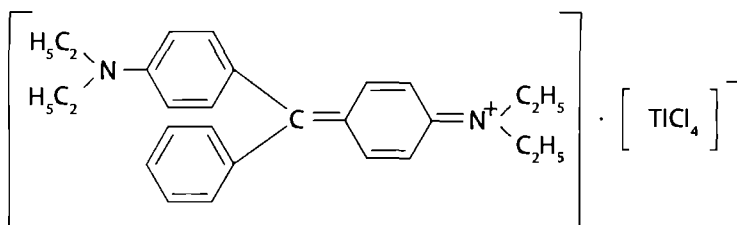
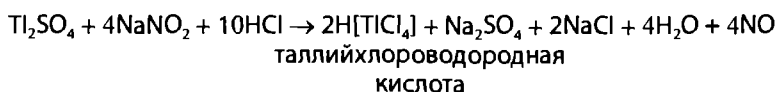
При химико-токсикологических исследованиях для обнаружения таллия в минерализате предложены атомно-абсорбционная спектрометрия и химический метод.

Атомно-абсорбционная спектрометрия. Обнаружение таллия основано на выявлении в спектре характерной для таллия линии резонансного перехода при длине волны 276,8 нм.

Оценка метода. Предел обнаружения таллия составляет 0,8 мкг в 1 мл исследуемой пробы.

Химический метод основан на взаимодействии сульфатов таллия(I) и таллия(III) с бриллиантовым зеленым и дитизоном.

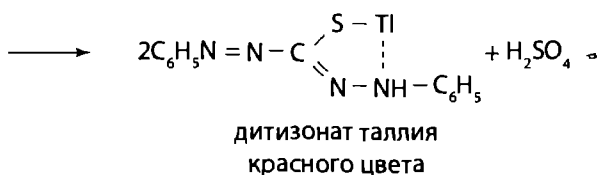
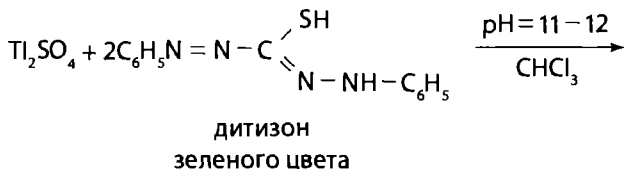
Реакция с бриллиантовым (малахитовым) зеленым. 5 мл минерализата помещают в делительную воронку, добавляют 1 мл концентрированной серной кислоты, 3 мл 5 М хлороводородной кислоты, 2 капли 5% раствора нитрита натрия с целью окисления таллия до трехвалентного. Через 5 мин добавляют 1 мл насыщенного раствора тиомочевины, 7 капель 0,5% раствора бриллиантового зеленого, 2 г безводного сульфата натрия и 5 мл толуола. Смесь энергично взбалтывают. Слой толуола окрашивается в голубой или синий цвет при сохраняющейся оранжевой окраске водной фазы. Слой толуола отделяют от водной фазы и взбалтывают с 3 мл 25% раствора серной кислоты. Окраска слоя толуола в синий или голубой цвет должна сохраниться.



ионный ассоциат голубого цвета

Оценка. Предел обнаружения – 0,03 мкг таллия в 1 мл минерализата. Реакция неспецифична, так как сурьма также дает положительную реакцию.

Реакция с дитизоном (для отличия от сурьмы, подтверждающая). В делительную воронку вносят 5 мл минерализата, 2 мл 20% раствора лимонной кислоты, 2 мл насыщенного раствора тиомочевины, 2 мл 10% раствора гидросиламина и 2 мл 5% раствора цианида натрия (*осторожно, яд!*). С помощью 3 М раствора аммиака в смеси доводят pH до 11–12 (по универсальному индикатору). Содержимое воронки взбалтывают, прибавляют еще 1 мл 3 М раствора аммиака и 3 мл 0,01% раствора дитизона в хлороформе. В присутствии ионов таллия слой хлороформа окрашивается в красный цвет.



Оценка. Предел обнаружения – 0,1 мкг таллия в 1 мл исследуемого раствора. Сурьма этой реакции не дает.

Количественное определение. Содержание в минерализате таллия проводят с помощью атомно-абсорбционной спектроскопии и экстракционно-фотометрическим методом.

Атомно-абсорбционная спектроскопия. Определение проводят по величине светопоглощения при длине волны 276,8 нм. Для расчета концентрации таллия в объекте используют градуировочный график или метод добавок.

Экстракционно-фотометрический метод основан на получении ионного ассоциата таллийхлороводородной кислоты с бриллиантовым зеленым, экстрагируемого толуолом по методике, описанной в разделе «обнаружение таллия». Слой толуола, окрашенный в голубой или синий цвет, отделяют от водной фазы и оптическую плотность измеряют при 640 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. По этой методике возможно определение таллия при его содержании в 100 г объекта в количестве 0,1–10 мг и более.

10.5.12. Соединения кадмия

Свойства и токсикологическое значение. Кадмий – серебристо-белый, мягкий, пластичный металл. Применяется как компонент сплавов для припоев, подшипников, типографских клише, электродов сварочных машин, при изготовлении ювелирных изделий, стержней ядерных реакторов. Применение находят органические и неорганические соединения кадмия. Органические соединения находят применение в синтезе кетонов, хлорангидридов, ангидридов кислот и гидропероксидов. Неорганические соединения кадмия находят применение в гальванотехнике, в качестве катализаторов при гидрировании жиров, в фотографии, как пигмент для окраски фарфора, стекла, эмалей, глазури, печатных тканей и других материалов, в пиротехнике, для изготовления светящихся составов, масляных красок для живописи и в других областях.

В организм соединения кадмия поступают с водой и пищей, ингаляционным путем в виде аэрозоля (чаще оксид кадмия). Все соединения кадмия ядовиты. Растворимые соединения поражают в первую очередь органы дыхания и ЖКТ. Резорбтивное действие проявляется в поражении периферической и центральной нервной системы, внутренних органов, в первую очередь сердца, почек, печени, а также скелетной мускулатуры и костной ткани.

Ингаляционные отравления пылью и дымом оксида кадмия проявляются через 10–36 ч. Наблюдается раздражение слизистых оболочек верхних и глубоких дыхательных путей, сладкий вкус во рту, боль в области лба, головокружение, слабость, тошнота, боль в подложечной области. Возникают бронхиты, судорожный кашель с мокротой, одышкой, отеком легких, пневмонией. После 2 лет работы в цехах, связанных с производством кадмия, наблюдается снижение обоняния вплоть до полной его утраты, «кадмиевый насморк», желто-золотое окрашивание десен у шейки зубов – «кадмиевая кайма». Позже – носовые кровотечения, прободение носовой перегородки, эмфизема легких, выраженные формы неврастении, вегетативные неврозы, желудочно-кишечные расстройства, поражение печени и почек.

На кожу концентрированные растворы солей кадмия действуют прижигающе. Соли кадмия плохо всасываются при любом пути поступления в организм и длительно остаются на месте введения, постепенно переходя в кровь. Накапливается кадмий в эритроцитах, связывается с гемоглобином и длительно сохраняется в крови. Откадмивается кадмий в костях, почках, железах внутренней секреции. Выделяется из организма медленно, главным образом через желудочно-кишечный тракт.

На вскрытии наблюдают отек и кровоизлияния в легких, воспаление легких, жировую дегенерацию печени и почек, атрофию слизистой носа, интенсивное желтое окрашивание обонятельных луковиц, буллезную эмфизему легких.

Обнаружение кадмия в минерализате возможно проводить атомно-абсорбционной спектроскопией и химическим методом.

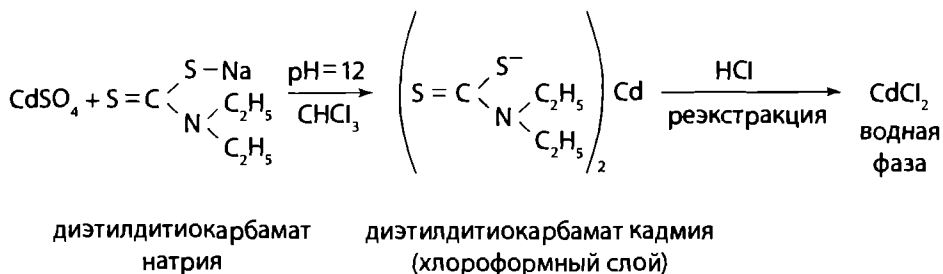
Атомно-абсорбционная спектрометрия. Обнаружение кадмия основано на выявлении в спектре характерной для кадмия линии резонансного перехода при длине волны 228,8 нм

Оценка метода Предел обнаружения кадмия составляет 0,03 мкг в 1 мл исследуемого раствора

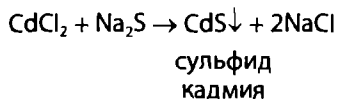
Химический метод. После разрушения объекта концентрированными серной и азотной кислотами кадмий находится в минерализате в виде сульфата – CdSO_4 . Обнаружение кадмия дробным методом основано на экстракции его из минерализата в виде диэтилдитиокарбамата при $\text{pH}=12$ с последующей реэкстракцией в водную фазу с помощью хлороводородной кислоты и проведения характерных реакций на ион кадмия

Выделение ионов кадмия из минерализата. В колбу вносят 10 мл минерализата, прибавляют 2 мл 10% водного раствора глицерина, 4 мл 10% раствора калия-натрия тартрата. Смесь нейтрализуют в присутствии нильского голубого 10% раствором гидроксида натрия до появления розовой окраски. Раствор переносят в делительную воронку, добавляют 2–3 мл 1% раствора диэтилдитиокарбамата натрия и 10 мл хлороформа. Смесь встряхивают 30 с. Слой хлороформа отделяют, промывают водой очищенной, добавляют 3 мл 1 М раствора хлороводородной кислоты и повторно встряхивают 30 с.

Полученный реэкстракт (водная фаза) отделяют и исследуют характерными для кадмия реакциями



Реакция с сульфидом натрия. К 1 мл реэкстракта добавляют по каплям 10% раствор гидроксида натрия до $\text{pH}=5$ (по универсальному индикатору) и 3–4 капли свежеприготовленного сульфида натрия – образуется осадок сульфида кадмия желтого цвета



Оценка Предел обнаружения – 50 мкг кадмия в исследуемой пробе. Имеет судебно-химическое значение при отрицательном результате

Реакция с гексацианоферратом(II) калия. К 1 мл реэкстракта добавляют по каплям раствор гидроксида натрия до $\text{pH}=5$ (по универсальному индикатору) и 2–3 капли 5% раствора гексацианоферрата(II) калия – образуется осадок или муть белого цвета



Оценка Реакция позволяет обнаружить в 100 г объекта 4 мг кадмия. Реакция имеет судебно-химическое значение при отрицательном результате

Реакция с бруцином и бромидом калия (подтверждающая). 2–3 капли реэкстракта выпаривают на предметном стекле досуха. На сухой остаток наносят каплю насыщенного раствора бруцина в 1 М растворе серной кислоты и каплю 5% раствора бромида калия. В присутствии кадмия образуются бесцветные призматические кристаллы в виде сфероидов (рис. 95). При добавлении к осадку йодида калия цвет кристаллов не меняется (в отличие от висмута, кристаллы которого при проведении этой реакции изменяют цвет на красный)

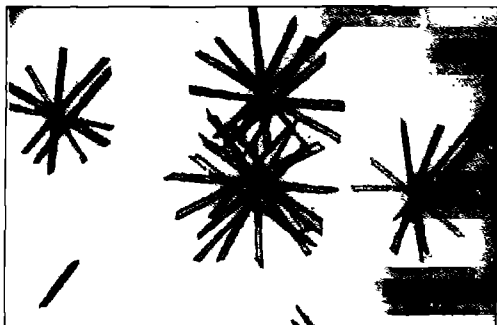
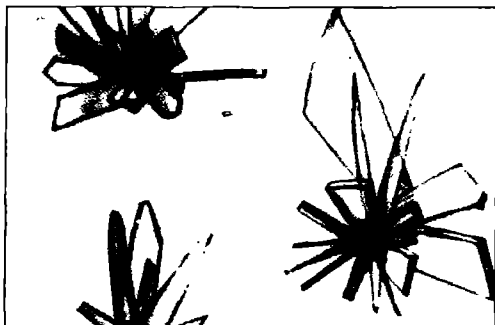
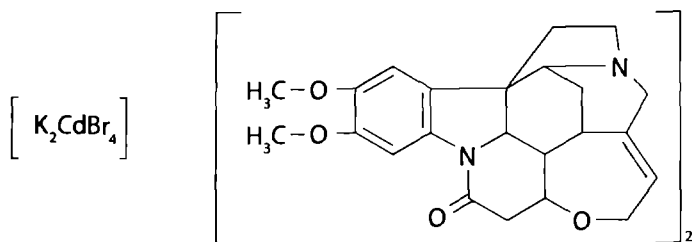


Рис. 95. Кристаллы кадмия с бруцином и бромидом калия.

Рис. 96. Кристаллы кадмия с пиридином и бромидом калия.

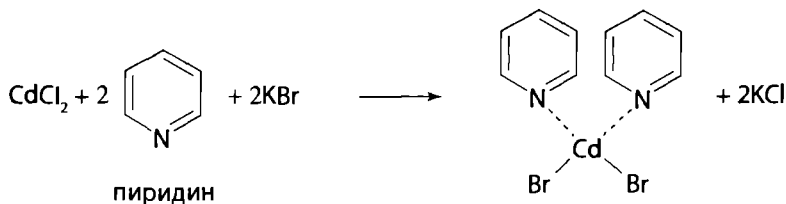
Образующийся комплекс можно представить следующей формулой:



Оценка. Реакция чувствительна, с ее помощью можно обнаружить 0,12 мкг кадмия в исследуемой пробе.

Реакция с пиридином и бромидом калия (подтверждающая). 2–3 капли резэкстракта выпаривают на предметном стекле. На остаток наносят каплю 5% раствора бромида калия и каплю пиридина – образуются бесцветные кристаллы в виде сфероидов (рис. 96).

Реакция хлорида кадмия с пиридином и бромидом калия идет по схеме.



Оценка. Предел обнаружения по данной реакции – 0,05 мкг кадмия в исследуемой пробе.

Количественное определение. Для определения кадмия предложены атомно-абсорбционная спектрометрия и метод комплексонометрического титрования.

Атомно-абсорбционная спектрометрия. Определение проводят по величине светопоглощения при длине волны 228,8 нм. Для расчета содержания кадмия в объекте используют градуировочный график или метод добавок.

Комплексонометрическое титрование. Метод основан на выделении кадмия из минерализата в виде диэтилдитиокарбамата с последующей резэкстракцией в водную фазу с помощью 10 мл 1 М раствора хлороводородной кислоты по методике, описанной в разделе «обнаружение кадмия». К полученному резэкстракту добавляют 150–200 мл воды очищенной, 1 мл 20% раствора лимонной кислоты, создают рН=8 и титруют 0,01 М раствором комплексона III в присутствии эриохрома черного ЕТ-00 до перехода краснофиолетовой окраски в голубую. Этим методом кадмий определяется при содержании его в 100 г объекта в количестве 1–100 мг и более.

10.5.13. Соединения ртути

Свойства и токсикологическое значение. Ртуть – серебристо-белый металл, в парах – бесцветный. Это единственный жидкий металл и летучий при комнатной температуре. Металлическую ртуть используют для изготовления катодов при электрохимическом получении едких щелочей и хлора, для полярографов, в производстве ртутных вентилях, газоразрядных источников света (люминесцентных и ртутных ламп), приборов (термометров, барометров, манометров) и т.д.

Из неорганических соединений ртути находят применение ее соли и оксиды. Эти соединения применяют для приготовления электродов сравнения, в качестве катализаторов органических реакций, для синтеза ртутьорганических соединений, в люминесцентных лампах, как антисептики, протравка для семян, для дубления кож, при изготовлении катодов и для других целей.

Соединения ртути являются высокотоксичными веществами. В организм они могут проникать через кожные покровы, ЖКТ и легкие. Смертельной дозой хлорида ртути(II) считают 0,2–0,3 г.

Органические соединения ртути имеют общую структуру $R-Hg-R_1$, они токсичнее неорганических соединений ртути, так как являются липидорастворимыми и легко проникают через гистогематические барьеры, в том числе через гематоэнцефалический, в мозг, через плаценту в организм плода. Опасны растворимые соли ртути. Хлорид и нитрат ртути(II) более токсичны, чем хлорид ртути(I) и сульфид ртути(II). Соли ртути взаимодействуют с жирными кислотами солей железа и проникают через кожный барьер.

Ртуть в виде паров легко всасывается через легкие, и после ферментативного окисления циркулирующая в крови («ионизированная») ртуть вступает во взаимодействие с белковыми молекулами. В первую очередь ионы ртути реагируют с сульфгидрильными, карбоксильными и аминными группами тканевых белков. В результате образуются более или менее прочные комплексы – металлопротеиды. При этом поражаются тиоловые (сульфгидрильные) ферменты. В организме возникают глубокие нарушения функций ЦНС, особенно ее высших отделов. Вначале возбудимость коры больших полушарий повышается. Это связано с ослаблением активного внутреннего торможения, а затем возникает инертность корковых процессов. Позже развивается запредельное торможение.

В организме ртуть длительно задерживается. Она накапливается в виде соединений с белком (альбуминатов) в различных органах, главным образом в печени, почках, желчи. Выводятся соединения ртути через почки, желудочно-кишечный тракт, слюнные и молочные железы.

Острые отравления могут возникнуть при вдыхании паров металлической ртути или пыли ртутьсодержащих пестицидов. Признаки отравления проявляются через 1–2 дня или через несколько часов. Ощущается общее недомогание, головная боль, металлический вкус во рту, покраснение и набухание десен с появлением на них темной каймы (ртутный стоматит) за счет образования сульфида ртути. Возникает озноб, и процесс протекает по типу «металлической лихорадки», позже – токсический отек легких. Смерть наступает от острой сердечно-сосудистой недостаточности или тяжелой уремии.

При приеме внутрь соединения ртути глубоко проникают в ткани за счет образования рыхлого альбумината и оказывают прижигающее действие на слизистые оболочки пищеварительного аппарата, ощущается жжение пищевода, желудка, рвота с кровью, боли, диарея. Через 2–3 дня наступает тяжелое повреждение почек с развитием анурии и уремии, с массовым некрозом почечных канальцев.

Хронические отравления характеризуются симптомами, возникающими при поступлении небольших доз соединений ртути в течение нескольких лет. У человека появляются быстрая утомляемость, слабость, частые головные боли, выпадение волос, шелушение кожи, ломкость ногтей. Развивается «ртутный эретизм»: застенчивость, неуверенность в себе, мнительность, невозможность выполнять работу при посторонних. Появляются стоматит, ртутная энцефалопатия, депрессия, зрительные и слуховые галлюцинации, эмоциональная тупость, судорожные сокращения различных мышц, дрожание рук. Больные

умирают через 3–4 года после начала заболевания. Причинами смерти являются паралич жизненно важных центров, острая сердечно-сосудистая недостаточность (угнетение сердечной деятельности), капилляротоксическое действие ртути и тяжелая уремия («сулемовая почка»)

Патологоанатомическая картина при отравлении препаратами ртути характерна. Наблюдаются типичные изменения внутренних органов: гиперемия слизистой оболочки глотки и пищевода с образованием белесовато-серого струпа, в желудке – некроз слизистой, она сероватая, плотная, напоминает шагреньевую кожу, некрозы с образованием язв на месте воздействия яда. При длительности отравления от 5 до 14 дней наблюдается характерная картина «сулемового нефроза». При гибели от хронической интоксикации основные изменения наблюдаются в ЦНС

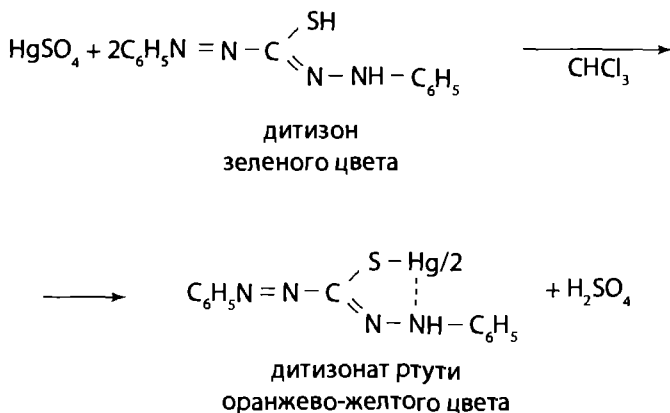
Для обнаружения ртути в минерализате рекомендованы атомно-абсорбционная спектрометрия и химический метод

Атомно-абсорбционная спектрометрия. Обнаружение проводится путем выявления в спектре характерной для ртути линии резонансного перехода при длине волны 253,7 нм

Оценка метода Предел обнаружения ртути составляет 15 мкг в 1 мл исследуемой пробы.

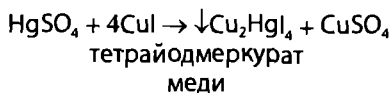
Химический метод. В минерализате, полученном по методу А.Н Крыловой, ртуть содержится в виде сульфата ртути – HgSO_4 . Для обнаружения иона ртути используют реакции с дитизином и йодидом меди(I).

Реакция с дитизином (предварительная). 1/2 часть минерализата помещают в делительную воронку, прибавляют 10 мл 10% раствора сернокислого гидроксилamina или аскорбиновой кислоты, 5 мл хлороформа и 3 мл 0,01% раствора дитизона. Смесь взбалтывают. При наличии ртути в минерализате наблюдают желто-оранжевую окраску слоя хлороформа



Оценка Предел обнаружения ртути по данной реакции составляет 0,05 мкг в 1 мл исследуемого раствора. Реакции придается судебно-химическое значение при отрицательном результате

Реакция с йодидом меди(I) – подтверждающая. К части минерализата прибавляют 10 мл взвеси йодида меди(I). Наблюдают образование розового, красного или оранжево-красного осадка.



Оценка Предел обнаружения – 1 мкг ртути в исследуемом объеме

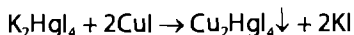
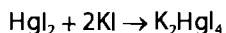
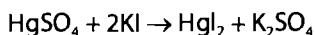
Количественное определение. Для определения содержания ртути используют атомно-абсорбционную спектрометрию, фотоколориметрический метод и визуальную колориметрию.

Атомно-абсорбционную спектрометрию проводят по величине светопоглощения при длине волны характерной для ртути линии резонансного перехода при 253,7 нм. Для расчета концентрации используют градуировочный график или метод добавок.

Фотоколориметрический метод основан на получении окрашенного комплекса с дитизоном. 1/2 часть минерализата помещают в делительную воронку, добавляют 10 мл 10% раствора сульфата гидроксилamina, 5 мл четыреххлористого углерода и 0,3 мл 0,01% раствора очищенного дитизона до получения устойчивого изумрудно-зеленого окрашивания органической фазы. Затем производят в течение 30 с энергичное встряхивание делительной воронки. Слой органической фазы окрашивается в желтый или оранжевый цвет. Экстракцию повторяют несколько раз. Определяют величину светопоглощения экстракта при длине волны 485 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм по отношению к четыреххлористому углероду. Расчет содержания ртути в деструктате проводят по калибровочному графику. По этой методике возможно определение 5 и более мг ртути в 100 г объекта.

Визуальный колориметрический метод основан на получении окрашенного соединения соли ртути с йодидом меди(I). Полученную окраску сравнивают с цветом серии стандартов с известной концентрацией того же соединения. Этот анализ отличается простотой и быстротой проведения, но не отличается достаточной точностью. Метод рекомендован А.Ф.Рубцовым для определения ртути в биологических объектах. В настоящее время этот метод используется, в основном, при определении ртути в различных пищевых продуктах после их минерализации.

К половине объема деструктата добавляют 250 мл воды очищенной и 10 мл взвеси йодида меди(I). Взвесь окрашивается в телесный, розовый или кирпично-красный цвет в зависимости от количества ртути.



Полученный и промытый 50 мл смеси ацетона или этанола с 2% раствором сульфата натрия (1:1) осадок визуально сравнивают со шкалой, содержащей от 0,5 до 12 мкг ртути и приготовленной по той же методике.

Метод является специфичным и чувствительным и позволяет определять 0,5 мкг ртути в половине объема деструктата. Ошибка метода составляет, в зависимости от количества ртути, от 2 до 13%.

Обнаружение и определение ртути в моче

Необходимость анализа мочи на присутствие ртути и определение ее количества возникает во время профилактических осмотров работающих, связанных с вредными условиями труда и при подозрении на контакт больного с ртутью или его препаратами в домашних условиях.

К суточному объему мочи прибавляют 2–5 мл куриного белка и 0,5–1,0 г хлорида натрия. Полученную смесь нагревают на водяной бане при постоянном помешивании.

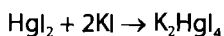
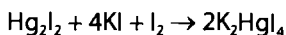
В процессе нагревания белок коагулирует в виде хлопьев, сорбируя на себе ртуть. Полученный альбуминат ртути отфильтровывают, промывают водой и растворяют в концентрированной хлороводородной кислоте. В полученный раствор вносят маленькие медные спиральки. Через сутки спиральки вынимают, промывают водой, спиртом и осушают эфиром. Если в моче содержалась ртуть, на спиральках появляется налет металлической ртути. Спиральки помещают в узкую пробирочку, добавляют 2–3 кристаллика йода. Пробирочку на расстоянии 1–2 см от верхнего края охлаждают с помощью мокрой



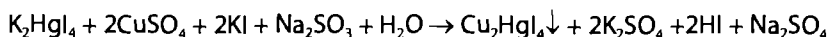
Рис. 97. Кристаллы йодида ртути(I) и йодида ртути(II).

ваты или фильтровальной бумаги. Затем осторожно проводят нагрев места пробирочки, где находятся спиральки и йод. При нагревании ртуть и йод возгоняются, образуя йодиды ртути(I и II), которые на месте охлаждения пробирочки образуют кристаллический налет. При рассматривании налета под микроскопом наблюдают красные (HgI_2) и зеленые (Hg_2I_2) ромбической формы кристаллы (рис. 97).

Для определения содержания ртути в анализируемом объеме мочи полученный возгон в пробирочке обрабатывают раствором йода в йодиде калия.



К полученному раствору тетраiodмеркурата калия добавляют сульфат меди(II), сульфит натрия. Образуется осадок, окрашенный в телесный или розовый цвет.



Полученный осадок тетраiodмеркурата меди сравнивают визуально с калибровочной шкалой, построенной с разными концентрациями ртути, и определяют содержание ртути в исследуемом суточном объеме мочи.

Глава 11. ГРУППА ПЕСТИЦИДОВ

11.1. Общая характеристика пестицидов

Пестициды (*от лат. pestis – «зараза» и caedo – «убивать»*) или ядохимикаты составляют большую группу соединений, являющихся главной причиной профессиональных отравлений в сельской местности. Чаще всего подвергаются токсическому воздействию лица, непосредственно соприкасающиеся с ними – работники сельского хозяйства, специалисты в области химической промышленности, производящей данные вещества. Пестициды являются одной из причин «токсической ситуации» в мире, так как они наряду с непосредственным воздействием на живой организм проникают в растения, в почву, в воду и т.п. Поэтому источниками отравления людей и животных могут быть не только сами пестициды, но и различные объекты внешней среды, растения, пищевые продукты и т.п. Отдельные пестициды длительное время сохраняются во внешней среде, в организме теплокровных животных, поедающих обработанные ядохимикатами растения, и могут попадать в организм человека с молоком, мясом указанных животных.

В организме человека и теплокровных животных пестициды подвергаются различным превращениям. Продукты их превращения – метаболиты – выводятся из организма с мочой, калом. Образующиеся метаболиты в некоторых случаях являются более токсичными, чем сами пестициды.

Внимание пестицидам как группе токсикологически важных объектов стало уделяться в 1950-е годы, особенно с началом войны во Вьетнаме, когда массированное использование хлорорганических гербицидов привело к массовым заболеваниям людей. В этот период начались активные исследования по изучению токсичности различных классов пестицидов и разработке методов их анализа в биологических объектах.

В настоящее время ситуация не смягчается, а обостряется. Для повышения урожайности и сохранения сельскохозяйственных продуктов требуются все более эффективные пестициды. Это означает, что их токсичность для людей и опасность для окружающей среды будут постоянно возрастать. Следует отметить, что в настоящее время действующим органом, осуществляющим контроль за качеством применяемых и разрабатываемых пестицидов, является санэпиднадзор, который работает в тесном контакте с химиками и токсикологами. Благодаря деятельности санэпиднадзора к пестицидам предъявляются требования по ограничению длительности сохранения в окружающей среде (персистентность). Для большинства пестицидов установлены нормы предельно допустимых концентраций (ПДК) в окружающей среде, пищевых продуктах, зерновых, плодовых, овощных культурах и др., а также правила техники безопасности при работе с ними. Однако химико-токсикологический анализ биологических объектов – это задача химиков.

Принципы классификации пестицидов

Классификация имеет прикладное значение для каждого специалиста. С точки зрения специалиста-аграрника, классификация пестицидов проводится по принципу воздействия на вредные растения, грибы, насекомые, грызунов и т.д. С точки зрения химика классификация проводится по принципу химического строения, который позволяет

унифицировать методы изолирования и анализа пестицидов. Для токсикологов, медицинских работников важна классификация по токсичности используемых соединений. Ознакомимся с принятыми классификациями пестицидов.

По воздействию на живой организм и растения пестициды делят на следующие группы:

- препараты, действующие на траву, кустарники, водоросли, – гербициды, арборициды, альгициды;
- препараты, действующие на грызунов, диких животных, хищников, – зооциды, родентициды;
- препараты, действующие на насекомых, – инсектициды, акарициды;
- препараты для борьбы с червями, моллюсками – нематоциды, лимациды;
- препараты для борьбы с заболеваниями растений – фунгициды, бактерициды.

Имеется группа препаратов, используемых для стимулирования роста растений, для подсушивания или удаления листвы и т.д.

По химическому строению пестициды делят на следующие основные группы:

- хлорорганические соединения;
- фосфорсодержащие пестициды;
- производные карбаминовой кислоты;
- синтетические пиретроиды;
- неорганические пестициды;
- органические соединения ртути и др.

По токсичности пестициды делятся на четыре группы:

- высокотоксические пестициды, LD_{50} составляет до 50 мг/кг веса животного;
- сильнодействующие (токсичные) пестициды, LD_{50} находится в пределах 50–200 мг/кг;
- пестициды средней токсичности, LD_{50} составляет 200–1000 мг/кг;
- малотоксичные соединения, LD_{50} выше 1000 мг/кг.

В организм насекомых инсектициды могут проникать несколькими путями. В зависимости от этого они подразделяются на 4 основные группы: *контактные*, проявляющие действие при соприкосновении с любой частью тела насекомого; *кишечные*, оказывающие вредное воздействие после попадания их через органы пищеварения и кишечник; *системные*, попадающие в организм насекомого после поедания обработанных ими растений; *фумиганты*, попадающие в организм через дыхательные пути.

Гербициды по избирательности действия на растения подразделяют на гербициды сплошные, пагубно действующие на все виды растений, и избирательные (селективные), действующие только на один или ограниченное число видов растений. Гербициды по характеру действия подразделяются на гербициды контактного действия, поражающие растения при непосредственном контакте с листьями и стеблями растений, гербициды системного действия, которые проникают в сосудистую систему растений и вызывают их гибель, и гербициды, действующие на корневую систему растений или на прорастающие семена. Основными формами применения пестицидов являются порошки (дусты), концентраты эмульсий, гранулы, аэрозоли.

В токсикологической химии при исследовании пестицидов используется химическая классификация.

11.2. Химико-токсикологическое значение и анализ хлорорганических пестицидов

В группу хлорорганических пестицидов входят перхлорированные углеводороды, которые широко применяются, в основном, как инсектициды. Производные хлорфеноксисуксусной кислоты используются как средства для борьбы с сорными растениями. Особенностью хлорсодержащих ядохимикатов является их способность сохраняться в почве, воде и растениях длительное время. Например, ДДТ может сохраняться в почве

8–12 лет после обработки растений. Некоторые хлорорганические пестициды обнаруживаются в тканях животных за много километров от места применения за счет переноса их воздушными потоками. Все они медленно разрушаются в окружающей среде, поэтому вымываются водой из почвы и могут попадать в водоемы.

В организм человека хлорорганические соединения попадают через ЖКТ вместе с пищевыми продуктами, через легкие при вдыхании пыли. Некоторые пестициды этой группы могут всасываться через неповрежденную кожу. Большинство хлорсодержащих пестицидов обладает кумулятивными свойствами, поэтому при длительном контакте с ними могут наблюдаться хронические отравления.

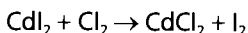
Предварительный анализ объекта на группу хлорорганических пестицидов

Специальных тестов для этих целей не разработано, предложено использовать метод тонкослойной хроматографии и реакцию отщепления хлора. Этим методам можно придать судебно-химическое значение при отрицательном результате.

Объект анализа массой 10 г (содержимое желудка, образцы веществ, изъятых с места происшествия) экстрагируют дважды петролевым эфиром, используя роторный смеситель. Эфирные экстракты промывают последовательно водой очищенной, раствором гидроксида натрия и еще раз водой очищенной. Слой петролевого эфира фильтруют через безводный сульфат натрия.

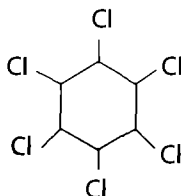
Анализ с помощью хроматографии в тонком слое сорбента. Часть полученного экстракта наносят на хроматографическую пластинку с тонким слоем силикагеля, подсушивают и хроматографируют. В качестве подвижной системы используют циклогексан. Затем пластинку вынимают, высушивают и обрабатывают раствором перманганата калия, опрыскивают 2-аминоэтанолом и нагревают 20 мин при 100°C. Охлажденную пластинку обрабатывают раствором нитрата серебра и облучают УФ-лампой (254 нм) в течение 10–15 мин. При наличии в объекте хлорсодержащих пестицидов образуются пятна коричневого или черного цвета.

Реакция отщепления хлора. Часть извлечения из объекта в специальном приборе испаряют досуха, добавляют к остатку концентрированную серную кислоту, дихромат калия и сульфат серебра в качестве катализатора. Смесь нагревают, происходит разрушение хлорсодержащего соединения, и выделяется свободный хлор, который улавливают в раствор йодида кадмия в присутствии крахмала – образуется синее окрашивание за счет вытеснения йода хлором.



При обнаружении пятен на пластинке и получении положительной реакции отщепления хлора проводят основное исследование на отдельные хлорсодержащие пестициды.

11.2.1. Гексахлорциклогексан (ГХЦГ)



1,2,3,4,5,6-гексахлорциклогексан (гексахлоран)

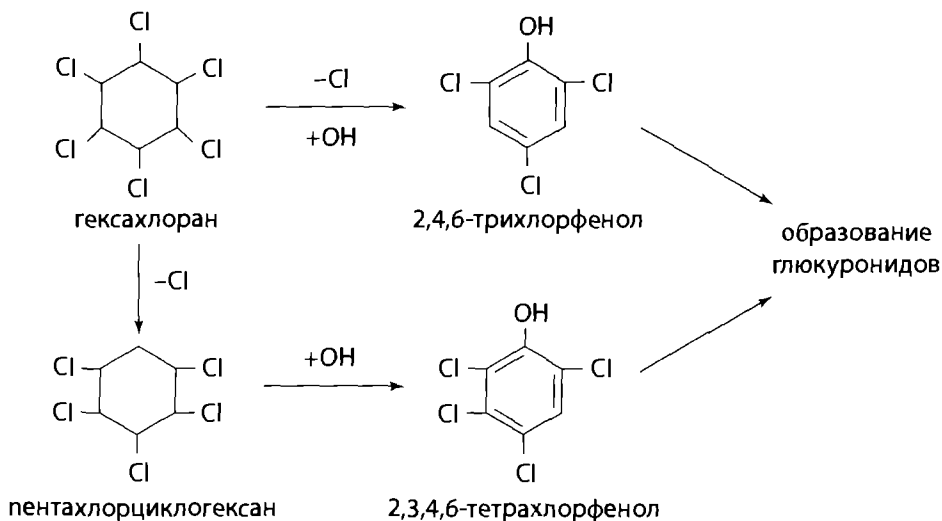
Гексахлоран имеет несколько пространственных изомеров, из них γ -изомер проявляет инсектицидные свойства и выпускается по названию *линдан*.

ГХЦГ – вещество темно-серого или светло-серого цвета, малорастворимое в воде, при повышенной температуре возгоняется с частичным разложением. Применяется

ГХЦГ в виде порошков (дустов), эмульсий, дымовых шашек. Он используется для борьбы с вредителями зерновых культур, садов, лесных насаждений, паразитами животных.

Токсическое действие ГХЦГ на человека проявляется в виде гиперемии кожи, отечности, раздражении конъюнктивы глаз. ГХЦГ длительно задерживается в организме (в жировой ткани), медленно выводится через почки, ЖКТ, переходит в молоко кормящей матери. При приеме внутрь ГХЦГ вызывает тошноту, при всасывании в кровь поражается ЦНС, наблюдаются клонические и тонические судороги. Летальная доза составляет 200 мг/кг.

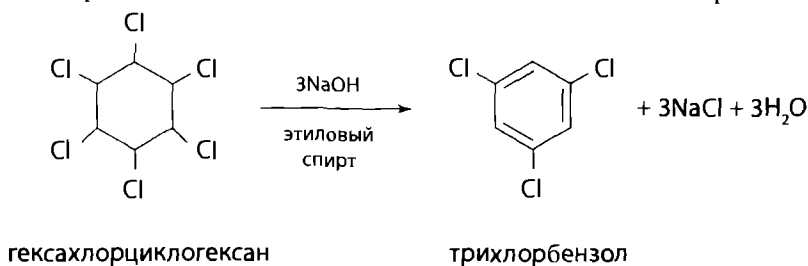
Метаболизм гексахлорана в организме проходит по пути дехлорирования, гидроксилирования и образования глюкуронидов во второй фазе метаболизма.



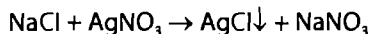
Объекты исследования: желудок с содержимым, печень, почки, кровь, моча.

Для изолирования из желудка с содержимым, печени или почек 100 г объекта измельчают, помещают в круглодонную колбу, смешивают с водой до кашицеобразной массы. Далее проводят перегонку с водяным паром. Собирают 300 мл дистиллята. В ходе перегонки на внутренней стенке холодильника может появиться серовато-белый налет, а в дистилляте белые частицы ГХЦГ. После отгонки холодильник промывают эфиром. Эфирный раствор присоединяют к дистилляту. Дистиллят переносят в делительную воронку и три раза экстрагируют диэтиловым эфиром по 100 мл. Эфирные вытяжки объединяют, промывают водой в делительной воронке. Затем эфир отгоняют до небольшого объема, переносят в выпарительную чашку и осторожно упаривают до сиропообразной массы. Эту массу используют для обнаружения ГХЦГ следующими испытаниями.

Реакция дехлорирования с последующим нитрованием. Часть остатка из чашки помещают в колбу с обратным холодильником, добавляют двукратный объем 10% спиртового раствора гидроксида калия и нагревают в течение часа на водяной бане. При кипячении со спиртовой щелочью ГХЦГ отщепляет 3 и более атомов хлора.

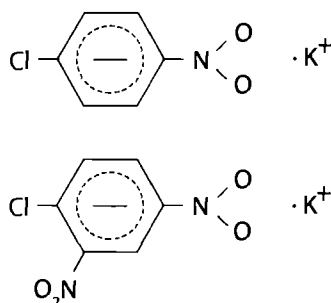


Затем упаривают эту смесь до 1/3 объема, подкисляют азотной кислотой и прибавляют раствор нитрата серебра. При этом выпадает белый осадок хлорида серебра.



Полученный осадок отфильтровывают, фильтрат упаривают до небольшого объема, добавляют к нему 0,1 г нитрата натрия и 2 мл концентрированной серной кислоты. Смесь нагревают на песчаной бане в течение 10 мин при температуре 125–130°C. После охлаждения смесь экстрагируют в делительной воронке диэтиловым эфиром. Эфир осторожно выпаривают. Остаток растворяют в 0,5 мл ацетона и добавляют 2 мл 10% спиртового раствора гидроксида калия – появляется красно-фиолетовая или розовая окраска. Предел обнаружения – 4 мг ГХЦГ в 100 г объекта.

При дехлорировании ГХЦГ образуется бензол или хлорбензол, которые при взаимодействии с серной кислотой и нитратом натрия превращаются в п-нитро- или м-динитропроизводные. Нитропроизводные с ацетоном и гидроксидом калия образуют окрашенные соединения состава:



Реакция с янтарной кислотой и сульфатом железа(III). К части сухого остатка из чашки добавляют несколько кристалликов янтарной или фталевой кислоты. Отверстие пробирки закрывают фильтровальной бумагой, смоченной 0,1% раствором сульфата железа(III). Пробирку погружают в глицериновую баню, нагретую до 200°C, и температуру бани постепенно повышают до 230°C. При наличии ГХЦГ в пробе на бумаге появляется синее пятно.

Можно предположить, что в результате реакции ГХЦГ с янтарной (фталевой) кислотой образуются летучие фенольные соединения, которые дают с сульфатом железа(III) синее окрашивание. Предел обнаружения составляет 30 мг ГХЦГ в пробе.

Для изолирования ГХЦГ из крови в пробирку с притертой пробкой вносят 2 мл цельной крови, 10 мл диэтилового эфира, смесь взбалтывают 15 мин и сливают эфирную вытяжку. Экстрагирование повторяют еще 2 раза с 10 мл эфира. Эфирные вытяжки сливают вместе, добавляют к ним 5 г безводного сульфата натрия и взбалтывают в течение 10 мин. Затем эфирную вытяжку отделяют, осторожно упаривают до небольшого остатка (около 1 мл).

Для изолирования ГХЦГ из мочи 20 мл мочи экстрагируют трижды эфиром по 20 мл. Далее экстракты обрабатывают безводным сульфатом натрия и после упаривания оставшуюся эфирную вытяжку используют для обнаружения и количественного определения ГХЦГ.

Обнаружение ГХЦГ в извлечениях из крови и мочи проводят с помощью тонкослойной хроматографии и описанных выше реакций.

Обнаружение ГХЦГ методом ТСХ. На линию старта хроматографической пластинки со слоем силикагеля наносят несколько капель эфирной вытяжки. Рядом наносят каплю «стандарта». Пятна подсушивают и хроматографируют, используя в качестве подвижной фазы н-гексан. После окончания хроматографирования пластинку подсушивают и обрабатывают водно-ацетоновым аммиачным раствором нитрата серебра, а затем облучают УФ-лучами в течение 15–20 мин. ГХЦГ проявляется в виде серо-черных пятен.

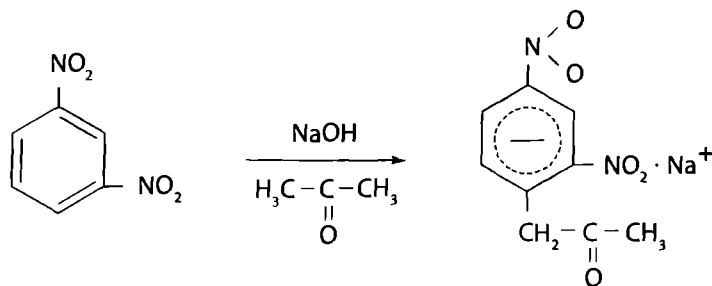
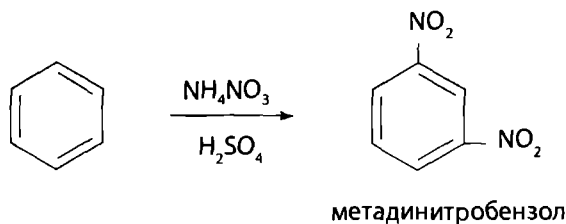
Для количественного определения ГХЦГ рекомендованы методы ГЖХ, фотокolorиметрии и аргентометрии.

При *газожидкостной хроматографии* используют электрозахватный детектор (ДЭЗ). Определение с помощью детекторов такого типа основано на измерении электропроводности между двумя электродами. В ДЭЗ ионы образуются под воздействием радиоактивного излучения. Его источником могут быть ^3H , ^{63}Ni , ^{90}Sr и др. Детектор состоит из ионизационной камеры с источником радиоактивного излучения и блока питания (2 электрода с определенной разницей потенциалов). Когда в детектор поступает соединение, способное захватывать электроны, происходит изменение электропроводности между электродами. Свойством захватывать электроны обладают молекулы химически соединений, в состав которых входят атомы галогенов, фосфора, серы, азота, кислорода. Обнаружение хлорсодержащих пестицидов проводят по времени удерживания, а количественное определение – по высоте или площади пика.

Фотокolorиметрический метод. Он используется чаще всего для определения ГХЦГ в крови и моче. Метод основан на дехлорировании ГХЦГ до бензола или хлорбензола, переведении их в нитропроизводные и получении окрашенных соединений с гидроксидом калия в присутствии ацетона. Дехлорирование ГХЦГ в остатке после испарения эфира проводят с помощью цинковой пыли в присутствии 2 мл ледяной уксусной кислоты.



К полученному раствору добавляют 1 мл нитрующей смеси (10% раствор нитрата аммония в концентрированной серной кислоте) и нагревают в течение часа на асбестовой сетке. После охлаждения смесь экстрагируют эфиром, эфир испаряют и к сухому остатку добавляют ацетон и 1 мл 40% раствора гидроксида натрия.

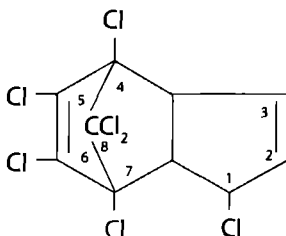


фиолетовая окраска

Через 20 мин измеряют оптическую плотность окрашенного в фиолетовый цвет раствора с помощью фотоколориметра в кювете с толщиной поглощающего слоя 20 мм с зеленым светофильтром.

Определение ГХЦГ аргентометрическим методом проводят по методике, описанной ранее при определении алкилгалогенидов (см. раздел 9.4.6).

11.2.2. Гептахлор



1,4,5,6,7,8,8-гептахлор-4,7-эндометилен
тетрагидроинден

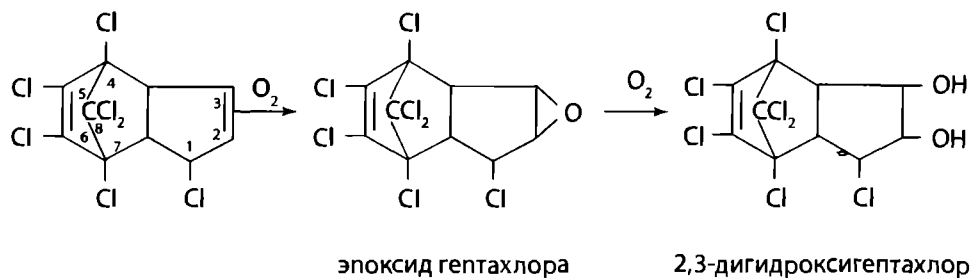
Гептахлор – это белое кристаллическое вещество со слабым камфорным запахом, нерастворим в воде, растворяется в органических растворителях. Промышленностью гептахлор выпускается в виде 25% концентрата эмульсии и применяется в качестве инсектицида.

При попадании в организм через кожу проявляется резорбтивное действие гептахлора. При вдыхании пыли отмечают головные боли, тошнота, диспепсические явления ПДК в воздухе рабочей зоны составляет 0,01 мг/м³. Остаточные количества в пищевых продуктах не допускаются. При попадании в желудок гептахлор вызывает тяжелые поражения паренхиматозных тканей и ЦНС.

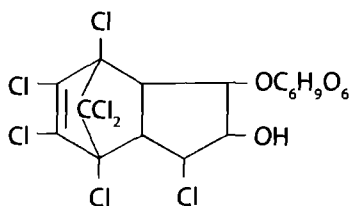
В организме гептахлор окисляется до эпоксигептахлора, который отличается более высокой токсичностью, чем сам гептахлор. Гептахлор и эпоксигептахлор накапливаются в тканях организма и оказывают токсическое действие. В почве продукты метаболизма гептахлора сохраняются в течение нескольких лет.

Метаболизм гептахлора

I фаза – окисление



II фаза – образование глюкуронидов



моноглюкуронид 2,3-дигидрохептахлора

Объектами исследования являются кровь, моча, при смертельном отравлении – желудок с содержимым, печень.

Для изолирования гептахлора лучшими экстрагентами являются диэтиловый эфир, бензол, гексан.

Извлечение гептахлора из цельной крови проводят 3 раза по 10 мл, из 20 мл мочи 3 раза по 20 мл экстрагента. Для изолирования из парейхиматозных органов 100 г объекта настаивают трехкратно в течение 30 мин с диэтиловым эфиром или гексаном по 100, 50 и 50 мл. Вытяжки в каждом случае объединяют, обрабатывают безводным сульфатом натрия или взбалтывают с насыщенным раствором сульфата натрия в 20% растворе серной кислоты с целью очистки, упаривают до минимального объема и далее используют для качественного и количественного определения.

Для обнаружения гептахлора используют следующие реакции.

Реакция гептахлора с диэтиламином. Часть извлечения выпаривают досуха. Остаток растворяют в дихлорэтаноле, затем по стенке пробирки добавляют 5–7 капель смеси диэтиламина и 0,1 М раствора гидроксида калия в метаноле (1:2). Смесь взбалтывают – появляется зеленая, быстро исчезающая окраска.

Реакция с диэтаноломином проводится, как и предыдущая. В качестве реактива используется смесь диэтаноломина и 0,1 М раствора гидроксида калия в метаноле (1:2). При наличии гептахлора появляется фиолетовое окрашивание.

Реакция с анилином и пиридином. Часть извлечения испаряют досуха, остаток растворяют в бензоле, добавляют 5 капель анилина и 2 капли 0,1 М раствора гидроксида калия в метаноле. Смесь нагревают на водяной бане 15 с и прибавляют 1 мл пиридина и снова помещают в водяную баню на 10 с. Смесь перемешивают. Через 1–3 мин появляется темно-зеленое окрашивание.

Реакция с раствором гидроксида калия. К части извлечения прибавляют 1 мл 0,1 М раствора гидроксида калия в метаноле и взбалтывают. Пробирку помещают на 30 с в водяную баню, затем прибавляют 1 мл бензола. Постепенно развивается розовое или пурпурное окрашивание.

Количественное определение. Для количественного определения используют метод ГЖХ с электронно-захватным детектором. Определение ведут по высоте или площади пика в присутствии внутреннего стандарта.

11.2.3. Токсикологическое значение других хлорорганических пестицидов

В настоящее время число хлорорганических пестицидов насчитывает несколько десятков. Все они имеют определенное токсикологическое значение и вносят вклад в «токсическую ситуацию» в мире. Поэтому все импортируемые и производимые пищевые продукты в нашей стране подвергаются анализу на содержание хлорорганических соединений.

ДДТ – 4,4'-дихлордифенилтрихлорметилметан. Это белый кристаллический порошок, малорастворим в воде, растворим в органических растворителях. Токсическое воздействие ДДТ выражается в быстрой усталости, головных болях, нарушениях сердечной деятельности, тошноте, рвоте. Отмечаются снижение в крови содержания эритроцитов и повышение содержания лейкоцитов. На кожу и слизистую оболочку глаз оказывает раздражающее действие.

Полихлоркамфен – твердое, воскообразное вещество коричневого цвета, практически нерастворимое в воде, растворимое в большинстве органических растворителей. Токсическое действие выражается подобно предыдущему препарату. Так как полихлоркамфен накапливается в фосфолипидях спинного и головного мозга, его действие более выражено на ЦНС. При попадании в организм большой ощущает сначала дискомфорт, потом действие проявляется бессистемно: может быть нарушена ориентация в пространстве, появиться нарушение памяти и т.д.

Полихлорпинен – это вязкое бесцветное вещество, практически нерастворимое в воде, хорошо растворимо в органических растворителях. Токсическое действие проявляется как раздражение кожи, отечность, изъязвления, при попадании в глаза развивается серозно-гнойный конъюнктивит. При всасывании в кровь большой теряет сознание с тонико-клоническими судорогами, может развиваться отек легких. При вскрытии отмечается полнокровие внутренних органов, отек мозга.

Хлорфеноксисукусные кислоты. Чаще всего применяют производные 2,4-Д (2,4-дихлорфеноксисукусной кислоты), реже производные 2,4,5-Т (2,4,5-трихлорфеноксисукусной кислоты). Токсическое действие 2,4-Д и 2,4,5-Т на организм теплокровных животных и человека сходно по характеру. Они действуют на центральную и периферическую нервную системы, эндокринные железы. При отравлении наблюдаются повышенная саливация, раздражение слизистых оболочек глаз, дыхательных путей, диспепсические явления, судороги.

Химико-токсикологический анализ перечисленных хлорорганических соединений проводится по схемам, как указано для ГХЦГ и гептахлора, с использованием хроматографии в тонком слое сорбента, ГЖХ, для некоторых веществ – реакций окрашивания, ГХ-МС (после дериватизации), УФ-спектрофотометрии, ВЭЖХ и др.

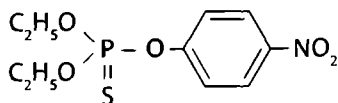
11.3. Химико-токсикологическое значение и анализ фосфорсодержащих пестицидов

11.3.1. Характеристика некоторых фосфорсодержащих пестицидов

Пестициды из группы фосфорсодержащих органических соединений применяют в сельском хозяйстве в качестве инсектицидов, акарицидов, гербицидов, дефолиантов, десикантов и др. Широкое применение фосфорсодержащих органических пестицидов обусловлено тем, что многие из них, обладая высокой активностью, сравнительно быстро разлагаются в организме животных и в окружающей среде. Они не накапливаются в больших количествах в тканях животных и человека и не вызывают хронических отравлений. Однако при поступлении в организм фосфорсодержащих органических пестицидов наблюдаются тяжелые отравления.

Токсическое действие фосфорсодержащих органических пестицидов заключается в их угнетающем влиянии на ферментативные системы, прежде всего холинэстеразу. Путем фосфорилирования холинэстеразы блокируется разложение ацетилхолина, а это приводит к нарушению ряда физиологических процессов. Однако одним действием на холинэстеразу нельзя объяснить всего спектра токсического действия фосфорсодержащих пестицидов. Это подтверждается тем, что, исключив действие некоторых пестицидов на холинэстеразу, наблюдают токсическое действие этих препаратов на организм

Тиофос

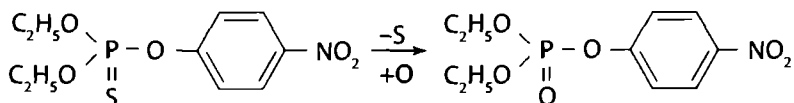


диэтиловый эфир п-нитрофенокситиофосфорной кислоты

Тиофос представляет собой маслянистую жидкость со слабым запахом чеснока, при температуре $6,1^{\circ}\text{C}$ затвердевает. Тиофос малорастворим в воде, но хорошо растворяется в органических растворителях. Промышленностью выпускается в виде концентрата эмульсии 30%, из которого готовят 0,03–0,05% водные разведения и используют как инсектицид.

При легкой форме отравления тиофосом наблюдается общая слабость, головокружение, вялая реакция зрачков. При отравлении средней тяжести – головокружение, беспокойство, рвота, понос, маскообразное лицо, дрожание рук, головы, понижение сухожильных рефлексов. При тяжелых формах возникают клонико-тонические судороги, кома с глубокой потерей сознания, отек легких.

В организме у тиофоса отщепляется сера, и образуется более ядовитое соединение – параоксон (летальный синтез)

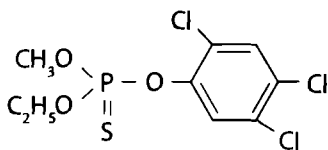


пратион (тиофос)

параоксон

При вскрытии трупов обычно наблюдают отек легких, головного мозга, полнокровие внутренних органов

Трихлорметафос-3

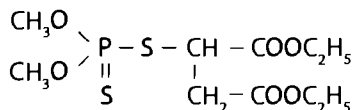


этилметилвый эфир (2,4,5-трихлорфенокси)-тиофосфорной кислоты

Трихлорметафос-3 представляет собой бесцветную или маслянистую желтоватую жидкость со слабым неприятным запахом. Вещество малорастворимо в воде, хорошо растворимо в большинстве органических растворителей. Препарат выпускают в виде 50% концентрата-эмульсии. Применяют после разведения минеральным маслом в качестве контактного инсектицида и акарицида в борьбе с комнатными мухами, их личинками, клопами, вредителями сахарной свеклы, виноградников и других культур.

Токсичность трихлорметафоса-3 значительно ниже, чем тиофоса. Токсическое действие проявляется в виде раздражения кожи и слизистой оболочки глаз, нарушении обменных процессов, понижении кровяного давления, снижении активности холинэстеразы.

Карбофос

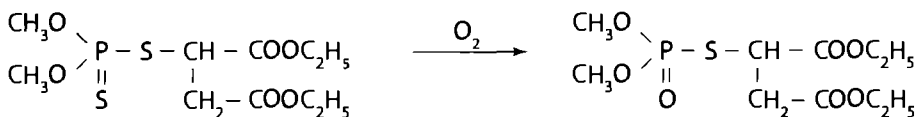


диметиловый эфир S-[1,2-ди-(карбоксиэтил)]-дитиофосфорной кислоты

Карбофос – это бесцветная маслянистая жидкость с характерным неприятным запахом, мало растворяется в воде и предельных углеводородах. Растворяется в большинстве органических растворителей. Карбофос выпускается в виде 30–60% концентрата-эмульсии, которая после разведения применяется в качестве контактного инсектицида и акарицида в борьбе с тлями, клещами на плодовых и полевых культурах.

Токсическое действие карбофоса по сравнению с тиофосом менее выражено и развивается медленнее. Основные симптомы отравления: слюнотечение, рвота, понос, одышка, цианоз, клонические судороги.

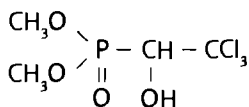
В организме карбофос подвергается окислению с образованием малаоксона, который обладает выраженной антихолинэстеразной активностью.



карбофос

малаоксон

Хлорофос

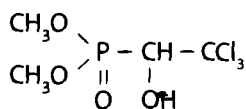


диметиловый эфир 2,2,2-трихлор-1-оксиэтилфосфоновой кислоты

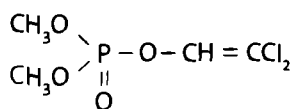
Хлорофос – это белый кристаллический порошок, растворим в воде, бензоле, хлороформе и других органических растворителях. Он малорастворим в предельных углеводородах. Хлорофос выпускается в виде порошка, содержащего 80% основного вещества. В виде 0,1–0,3% водного раствора применяется как контактный и кишечный инсектицид для обработки садов, виноградников, зерновых, бахчевых и других культур. В быту применяются 0,3% растворы для борьбы с мухами, обработки жилых помещений.

Токсическое воздействие на человека ниже по сравнению с тиофосом и проявляется в раздражающем действии на кожу и слизистые оболочки глаз, понижении активности холинэстеразы в крови. При хронических отравлениях наблюдаются нарушения функции печени и сердечно-сосудистой системы.

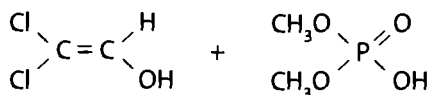
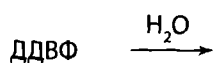
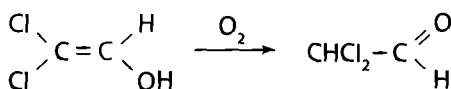
В организме продуктом разложения хлорофоса является дихлофос (ДДВФ – диметиловый эфир 2,2-дихлорвинилфосфорной кислоты), который обладает более выраженным холинэстеразным эффектом.



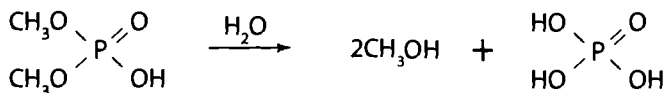
хлорофос

диметиловый эфир 2,2-дихлорвинил-
фосфорной кислоты (дихлофос)

При гидролизе ДДВФ образуется диметилфосфорная кислота и дихлорвиниловый спирт, который окисляется в дихлоруксусный альдегид.

дихлорвиниловый
спиртдиметилфосфорная
кислотадихлоруксусный
альдегид

Диметилфосфорная кислота при гидролизе образует фосфорную кислоту.



11.3.2. Методы изолирования и обнаружения фосфорсодержащих пестицидов

Из биологических объектов тиофос, трихлорметафос-3, карбофос извлекают органическими растворителями. Для очистки полученных извлечений используют методы: вымораживание липидов при низких температурах, рекстракцию, иногда рекомендуется колоночная хроматография.

Карбофос, трихлорметафос-3, тиофос. К 100 г измельченного биологического материала добавляют воду до кашицы, 100 мл хлороформа (или беизола) и смесь оставляют на 4 ч при периодическом перемешивании. Затем органический растворитель сливают и настаивают объект с растворителем еще 2 раза (по 50 мл) в течение 2 ч при взбалтывании. Экстракты объединяют, фильтруют и выпаривают досуха. Остаток растворяют в 10 мл хлороформа и исследуют.

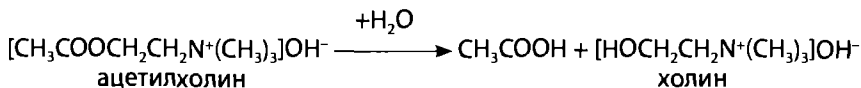
Для извлечения трихлорметафоса-3 используют также ацетон, хлороформ или их смесь.

Хлорофос. 100 г измельченного биологического материала заливают 150 мл воды очищенной, подкисляют серной кислотой до pH=2–2,5 и оставляют на 2 ч. Затем извлечение процеживают через марлю. К объекту еще 2 раза добавляют воду очищенную (каждый раз по 75 мл) и настаивают по часу. Полученные извлечения объединяют, центрифугируют и экстрагируют 30 мл хлороформа 4 раза. Хлороформные экстракты объединяют, выпаривают до сухого остатка, который растворяют в 5 мл воды очищенной, раствор фильтруют и анализируют.

Предварительное исследование на фосфорорганические пестициды

Холинэстеразная проба. В основе реакции – способность фосфорсодержащих органических соединений снижать активность ацетилхолинэстеразы. Она является общей для фосфорорганических ядохимикатов.

Ацетилхолин (гидроксид (2-ацетоксиэтил) триметиламмония) в присутствии ацетилхолинэстеразы способен разлагаться с образованием уксусной кислоты. Этот процесс можно зафиксировать, если к смеси добавить индикатор бромфеноловый синий.



При появлении в растворе уксусной кислоты окраска индикатора меняется от синей до желтой. Если в растворе присутствует фосфорорганическое соединение, являющееся ингибитором ацетилхолинэстеразы, то разложение ацетилхолина до уксусной кислоты не происходит и окраска бромтимолового синего не меняется.

Для проведения испытания в фарфоровую чашку вносят индикатор, каплю исследуемого раствора (извлечения из объекта) и каплю раствора холинэстеразы (или плазмы крови, содержащей этот фермент). Через 10 мин добавляют каплю раствора ацетилхолина. Если окраска раствора меняется на желтую, делают вывод о необнаружении в объекте фосфорорганических ядохимикатов.

Пробе придется судебно-химическое значение при отрицательном результате из-за ее неспецифичности, так как некоторые другие соединения (например, севин, эзерин) могут также подавлять активность ацетилхолинэстеразы, хотя и не содержат в своей молекуле фосфор.

Обнаружение фосфора. В тигель вносят 0,2–0,3 г смеси из 2 частей безводного карбоната натрия и 5 частей пероксида натрия. К полученной смеси добавляют несколько капель полученного извлечения из объекта. Тигель осторожно нагревают до выпаривания жидкости. Затем усиливают нагревание до расплавления смеси. После охлаждения остаток переносят в фарфоровую чашку, добавляют немного карбоната натрия и 10 мл воды, растирают, фильтруют. В полученном растворе могут быть фосфаты, сульфаты, галогениды, арсенаты. Обнаружению фосфора мешают арсенаты. Чтобы их удалить, добавляют хлороводородную кислоту до pH=0,5 и пропускают сероводород. При наличии арсенатов выпадает осадок сульфида мышьяка. Осадок отфильтровывают и в фильтрате обнаруживают фосфат-ионы.

В пробирку вносят 3–5 капель фильтрата (свободного от арсенатов), добавляют 5 капель молибдата аммония и 10% азотную кислоту. При наличии фосфатов появляется желтая окраска. К полученному раствору добавляют 3–5 капель насыщенного водного раствора гидрохлорида бензидина и 10% раствор аммиака до щелочной реакции (по лакмусу). При наличии фосфат-ионов появляется синяя окраска.

При получении положительных результатов предварительных реакций проводят исследование на индивидуальные вещества из группы фосфорсодержащих пестицидов.

Обнаружение тиофоса

Реакция с о-анизидином. К 1 мл хлороформного раствора остатка прибавляют 0,5 мл раствора о-анизидина и 2 мл раствора пербората натрия ($\text{NaBO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$). Через 5–30 мин появляется окрашивание от желтого до красноватого цвета в зависимости от количества тиофоса.

Метод ТСХ. На хроматографическую пластинку со слоем силикагеля, закрепленного крахмалом, наносят 2 капли хлороформного раствора остатка. Рядом наносят хлороформный раствор «стандарта». Пластинку помещают в систему растворителей н-гексан – хлороформ (1:2). После хроматографирования пластинку подсушивают и опрыскивают смесью растворов бромфенолового синего и нитрата серебра. Затем пластинку вносят в сушильный шкаф и выдерживают при температуре 60°C в течение 20 мин. После охлаждения пластинку обрабатывают раствором лимонной кислоты. Тиофос-д «стандарт» проявляются в виде красных пятен на желтом фоне.

Реакция щелочного гидролиза. К сухому остатку прибавляют 4–5 мл пероксида водорода и нагревают на водяной бане до обесцвечивания жидкости. После охлаждения вносят в раствор 2 мл 20% раствора гидроксида натрия и нагревают на водяной бане 20 мин. Появляется желтое окрашивание.

Обнаружение трихлорметафоса-3

На хроматографическую пластинку с нанесенным слоем силикагеля, закрепленного крахмалом, наносят 3 капли хлороформного извлечения и параллельно раствор «стандарта». Пластинку помещают в систему растворителей н-гексан – ацетон (2:1). После хроматографирования и высушивания пластинки на воздухе ее обрабатывают щелочным раствором о-толидина и облучают УФ-светом в течение 3–5 мин. Трихлорметафос-3 и «стандарт» проявляются в виде желтых пятен.

Обнаружение карбофоса

Реакция с диазотированной сульфаниловой кислотой. Несколько миллилитров хлороформного раствора остатка выпаривают досуха. К сухому остатку прибавляют 2 мл воды очищенной, 1 мл раствора диазотированной сульфаниловой кислоты и 0,5 мл 5% раствора гидроксида натрия – появляется вишнево-красное окрашивание.

Реакция с реактивом Марки. Несколько миллилитров хлороформной вытяжки выпаривают досуха. К остатку добавляют 5–10 капель реактива Марки – появляется оранжевая окраска, переходящая в желто-коричневую.

Реакция с сульфатом меди(II). К сухому остатку после испарения экстракта из объема прибавляют 1 мл 10% спиртового раствора гидроксида натрия и нагревают на кипящей водяной бане 10 мин. После охлаждения pH раствора доводят до 4–5 с помощью 25% серной кислоты, прибавляют 1 мл хлороформа и 2 капли 10% раствора сульфата меди(II). При наличии карбофоса слой хлороформа окрашивается в зеленовато-желтый цвет.

Микрорекристаллоскопические реакции. Для проведения этих реакций спиртовый раствор остатка, содержащего карбофос, помещают в углубление на предметном стекле и к нему добавляют один из нижеперечисленных реактивов, закрывают покровным стеклом и помещают во влажную камеру. Карбофос с хлоридом ртути(II) образует желтоватые кристаллы в форме звездочек; с йодидом висмута – темно-красные кристаллы в форме игл; с хлористым йодом – бурые кристаллы, которые исчезают через некоторое время.

Метод ТСХ. На хроматографическую пластинку со слоем силикагеля, закрепленного гипсом, наносят несколько капель раствора остатка. Параллельно наносят раствор «стандарта». Пластинку помещают в систему растворителей н-гексан – ацетон (2:1). После хроматографирования пластинку опрыскивают бромтимоловым синим и нитратом серебра. Затем пластинку нагревают в термостате 20 мин при 60°C. После охлаждения пластинку опрыскивают 10% раствором уксусной кислоты – появляются пятна лилового цвета при наличии карбофоса.

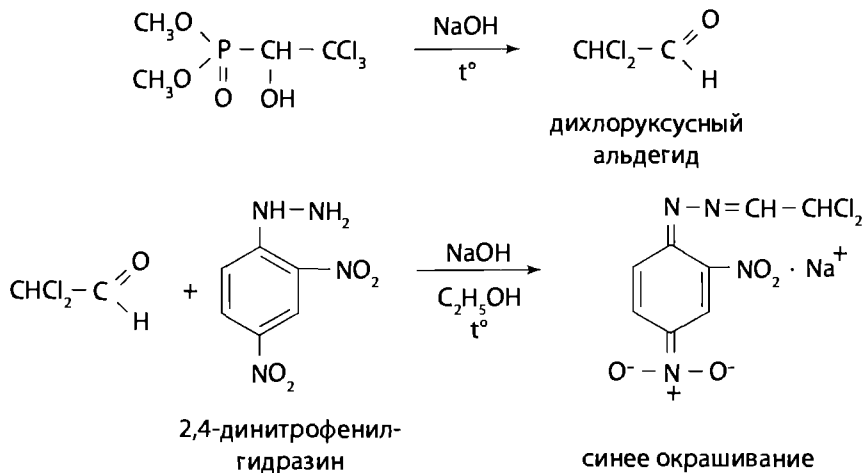
Обнаружение хлорофоса

Реакция с пиридином (реакция Фудживара). В пробирку вносят 1 мл исследуемого раствора, 1 мл пиридина и 1 мл 50% раствора гидроксида натрия. Смесь нагревают на кипящей водяной бане – появляется красное или розовое окрашивание. Предел обнаружения составляет 10 мкг хлорофоса в пробе. Реакция неспецифична.

Реакция с о-толидином. В пробирку вносят водный раствор исследуемого вещества, 1 мл о-толидина в ацетоне, 1 мл смеси пероксида водорода и гидроксида натрия – постепенно развивается желтое или оранжевое окрашивание. Такой же результат получается в присутствии метафоса и тиофоса.

Реакция с 2,4-динитрофенилгидразином. В пробирку вносят 1–10 капель исследуемого раствора и 2 капли 1 М раствора гидроксида натрия. Через 20 мин добавляют 1 каплю 0,1% раствора 2,4-динитрофенилгидразина в 4 М растворе хлороводородной кислоты. Смесь нагревают на водяной бане 30 мин. После охлаждения прибавляют 1 каплю

4 М раствора гидроксида натрия и 0,5 мл этилового спирта. Появляется синее или синефиолетовое окрашивание.



Эта реакция положительна при наличии хлорофоса и его основного метаболита – дихлоруксусного альдегида.

Реакция с ацетоном. В пробирку помещают 0,1–0,5 мл исследуемого раствора в этиловом спирте и прибавляют 1 мл ацетона и 0,5 мл 0,5 М спиртового раствора гидроксида натрия. Через 5–15 мин появляется розовая окраска, переходящая в оранжевую

Реакция образования изонитрила. В пробирку вносят раствор исследуемого вещества в спирте, добавляют 2 мл 10% спиртового раствора гидроксида натрия и 1 каплю анилина. При нагревании ощущается характерный запах изонитрила. Реакция неспецифична.

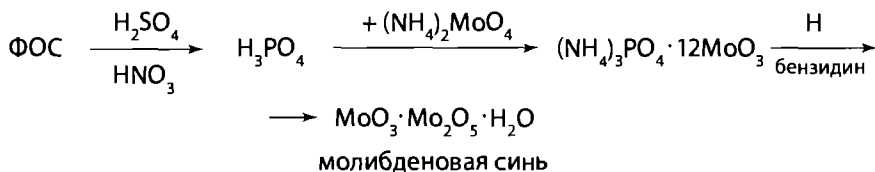
Реакция с о-анизидином. Проводится так же, как и с тиофосом. Появляется желтое или красноватое окрашивание.

Метод ТСХ. Анализ проводят в присутствии «стандарта» на пластинке с тонким слоем силикагеля с использованием системы растворителей ацетон – гексан (1:1). После хроматографирования пластинку высушивают, обрабатывают смесью 2% раствора резорцина в 10% растворе карбоната калия, затем пластинку выдерживают 10 мин в сушильном шкафу при 100°C. Хлорофос проявляется в виде пятна оранжевого цвета

11.3.3. Методы количественного определения фосфорорганических пестицидов

Фотокolorиметрический метод. Он основан на минерализации ФОС с помощью серной и азотной кислот. Определенный объем извлечения из объекта помещают в колбу Кьельдаля, добавляют 3 мл концентрированной серной, 10 мл концентрированной азотной кислот. Смесь нагревают до просветления жидкости и появления белых паров. Минерализат охлаждают и доводят до определенного объема водой очищенной. К части раствора прибавляют молибдат аммония и бензидин. Регистрируют величину оптической плотности окрашенного раствора. Расчет содержания фосфорорганического соединения ведут по калибровочному графику.

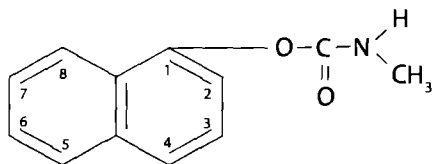
Порядок выполнения реакций приведен ниже.



Метод газожидкостной хроматографии. Анализ проводится по высоте или площади пика. Используются термоионный, пламенно-фотометрический или электронно-захватный детекторы.

11.4. Химико-токсикологическое значение и анализ эфиров карбаминовой кислоты

В настоящее время синтезировано большое количество эфиров карбаминовой кислоты (карбаматов). В сельском хозяйстве нашли применение немногие из них. Токсикологическое значение из этой группы веществ имеет *севин* или *карбарил*.

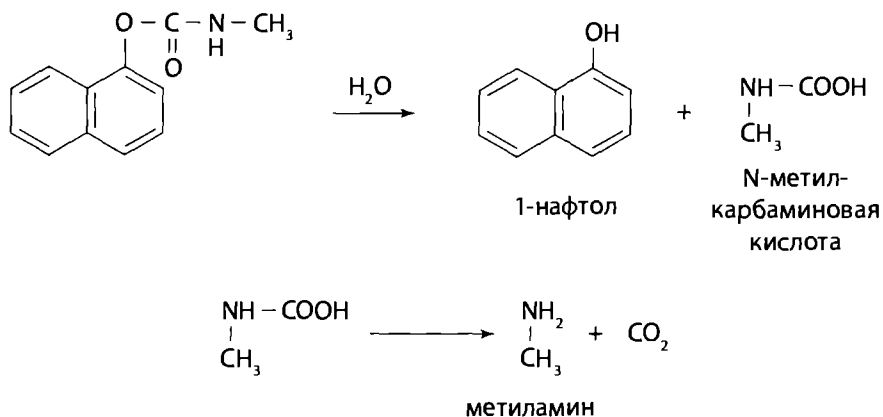


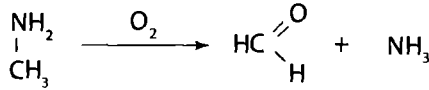
1-нафтил-N-метилкарбамат
(севин, карбарил)

Севин – это белое кристаллическое вещество, малорастворимое в воде, растворимо в большинстве органических растворителей. Он выпускается в виде 50–85% порошка (дуста) или гранул. Применяется как высокоэффективный инсектицид широкого спектра действия для борьбы с вредителями сельскохозяйственных культур и деревьев.

Токсическое действие севина выражено слабо. Он обладает умеренной токсичностью и медленно накапливается в организме. В основе токсического действия лежит торможение активности холинэстеразы, нарушение синтеза биогенных аминов. Севин оказывает неблагоприятное действие на паренхиматозные органы, эндокринную систему, генеративную функцию организма, обладает эмбриотоксическим, тератогенным и мутагенным действием. Описаны отравления средней тяжести при приеме внутрь 250 мг препарата. Смертельные отравления наблюдались в случае приема внутрь 0,5 л 80% суспензии. При смертельных отравлениях наблюдается отек легких.

Метаболизм севина При пероральном поступлении севин быстро проникает в различные органы. В результате ферментативного гидролиза эфирной связи (преимущественно в крови и печени) образуются 1-нафтол и N-метилкарбаминовая кислота, которая затем распадается на метиламин и оксид углерода (IV). Метиламин подвергается окислительному деметилированию.

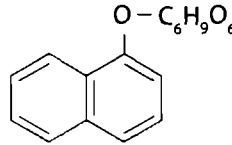
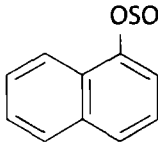




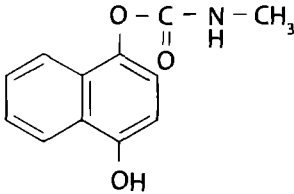
формальдегид

Продукты метаболизма оксид углерода, формальдегид и 1-нафтол из организма выводятся различными путями.

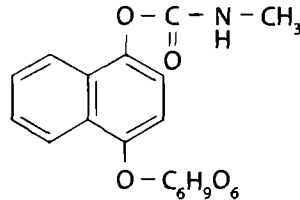
1-нафтол образует конъюгаты с серной и глюкуроновой кислотами и выделяется с мочой.



Кроме того, севин может в организме присоединять в пароположении гидроксильную группу, а затем конъюгироваться с глюкуроновой кислотой



парагидроксисевин

глюкуронид
парагидроксисевина

Предварительное исследование объекта на карбаматы

Реакция с фурфуролом. К 1 мл исследуемого объекта (содержимого желудка) добавляют 0,5 мл разбавленной хлороводородной кислоты и экстрагируют 4 мл хлороформа. Хлороформный экстракт выпаривают досуха. Остаток растворяют в 0,1 мл метилового спирта и раствор наносят на фильтровальную бумагу. После подсушивания на пятно наносят 0,1 мл фурфурола и снова подсушивают. Фильтровальную бумагу выдерживают в течение 5 мин над концентрированной хлороводородной кислотой. При наличии производных карбаминовой кислоты пятно окрашивается в черный цвет.

Изолирование севина и его основного метаболита 1-нафтола проводится бензолом. Навеску биоматериала массой 100 г заливают 100 мл бензола, периодически помешивают в течение часа. Затем бензол сливают и экстрагирование повторяют еще дважды (по 100 мл). Бензолные вытяжки объединяют, фильтруют и отгоняют бензол на водяной бане до небольшого объема. Остаток выпаривают под вытяжным шкафом при комнатной температуре досуха. Полученный остаток растворяют в 10 мл спирта. При получении окрашенного в желто-бурый цвет остатка его подвергают очистке. С этой целью к сухому остатку добавляют смесь из 20% раствора аммиака, концентрированной фосфорной кислоты и ацетона 3:2:5. Для удаления ацетона жидкость нагревают на водяной бане при 40°C. Затем охлажденный раствор экстрагируют трижды 20 мл хлороформа. Хлороформные вытяжки объединяют, выпаривают на водяной бане досуха, остаток растворяют в 5 мл этилового спирта. В полученном растворе будут находиться севин и 1-нафтол.

Обнаружение севина. Севин гидролизуют до 1-нафтола и проводят реакции с 4-аминофеназоном, хлоридом меди и бромидом калия, с хлоридом железа(III), с нитри-



Рис. 98. Кристаллы севина с пикриновой кислотой.

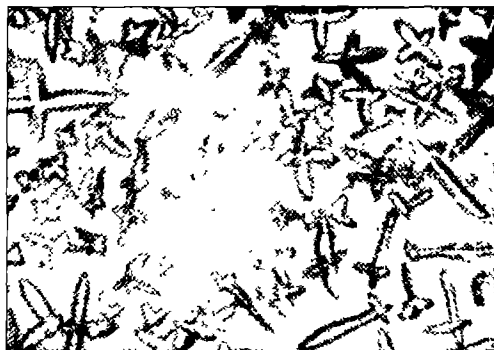


Рис. 99. Кристаллы севина после перекристаллизации его из спиртового раствора

том натрия. Для обнаружения севина используют также хроматографию в тонком слое сорбента и микрориссталлоскопические реакции.

Реакция с 4-аминофеназоном. В пробирку вносят 1 мл спиртового раствора, полученного после изолирования, и 0,5 мл аммиачной буферной смеси (растворяют 10 г хлорида аммония в 50 мл 25% раствора аммиака). Пробирку нагревают на водяной бане при температуре 55–60°C (с воздушным холодильником) в течение 15 мин. После охлаждения добавляют три капли 0,5% водного раствора 4-аминофеназона и 6 капель 10% водного раствора гексацианоферрата(III) калия – появляется оранжево-красное окрашивание.

Реакция с хлоридом меди и бромидом калия. В пробирку вносят 1 мл спиртового раствора полученного после изолирования, 0,4 мл 0,5 М раствора гидроксида натрия и нагревают на водяной бане в течение 10 мин при 55°C (с воздушным холодильником). После охлаждения добавляют 0,5 М хлороводородную кислоту до pH=5–6 и 1 мл свежеприготовленной смеси, содержащей 0,1 г хлорида меди(II), 4 г бромида натрия и 5,9 мл воды очищенной. При нагревании смеси до 60°C раствор окрашивается в красно-фиолетовый цвет. При взбалтывании с хлороформом окрашенное соединение переходит в слой хлороформа.

Реакция с хлоридом железа(III). При добавлении к спиртовому раствору капли 1% раствора хлорида железа(III) появляется розовое окрашивание.

Реакция с нитритом натрия. При добавлении к спиртовому раствору 0,5% раствора нитрита натрия и разбавленной серной кислоты образуется желтое окрашивание, которое переходит в оранжевое при добавлении гидроксида натрия.

Реакция с пикриновой кислотой. На предметное стекло наносят 1 каплю исследуемого раствора и испаряют досуха. К остатку добавляют 1 каплю раствора пикриновой кислоты. Через 10–15 мин появляются темно-желтые кристаллы, собранные в пучки. При малом содержании севина кристаллы образуются очень медленно (рис. 98).

Реакция перекристаллизации. Из спиртового раствора севин кристаллизуется (рис. 99) при испарении растворителя в виде характерных сростков кристаллов (крестов и дендритов).

Обнаружение севина и 1-нафтола методом ТСХ. На пластинку с закрепленным слоем оксида алюминия наносят каплю спиртового раствора остатка извлечения из образца и – в качестве «стандартов» – растворы севина и 1-нафтола. Пластинку помещают в систему растворителей хлороформ – бензол – ацетон (7:2:1). После хроматографирования и высушивания пластинки на воздухе ее облучают УФ-лампой. При наличии севина или 1-нафтола их пятна флуоресцируют. Затем пластинку опрыскивают щелочным раствором диазотированной сульфаниловой кислоты. При этом пятна на пластинке приобретают красное окрашивание.

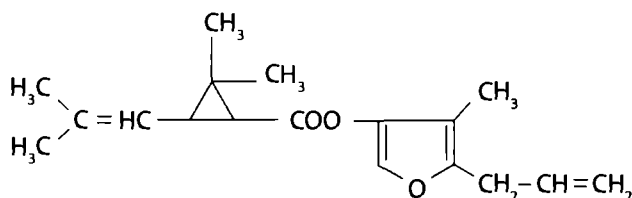
Количественное определение. Для количественного определения севина используют фотоколориметрический метод. Он основан на омылении севина до 1-нафтола и получении окрашенного соединения с хлоридом меди и бромидом калия (купробро-

мидом) по описанной в разделе «обнаружение севина» методике. Окрашенный в красно-фиолетовый или сине-фиолетовый цвет слой хлороформа отделяют и в полученном растворе регистрируют оптическую плотность с помощью фотоколориметра при 420 нм (синий светофильтр) в кювете с толщиной слоя 1 см. Расчет содержания севина в исследуемом объекте ведут по калибровочному графику.

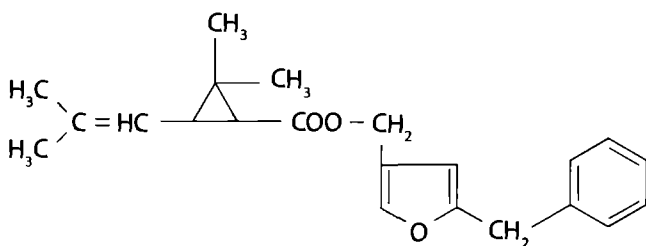
11.5. Химико-токсикологическое значение и анализ пиретроидов

В этой группе рассматриваются инсектициды, которые являются синтетическими аналогами природных пиретринов. Эти соединения обладают широким спектром действия, эффективны при очень малых нормах расхода – 16–300 г на один гектар. Их используют для обработки хлопчатника и многих других культур и садов. В настоящее время известны три поколения пиретроидов.

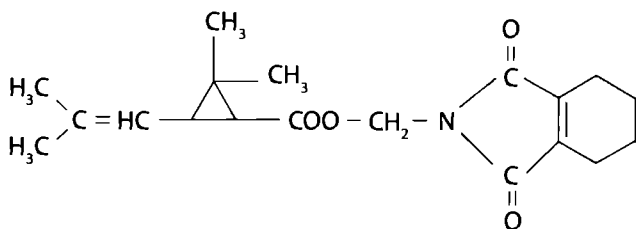
Пиретроиды 1-го поколения (эфиры хризантемовой кислоты)



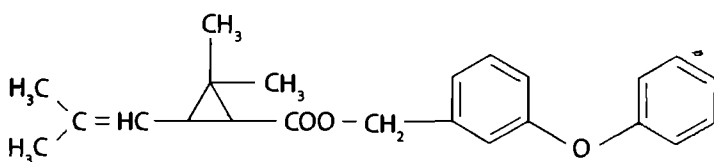
аллетрин



ресметрин

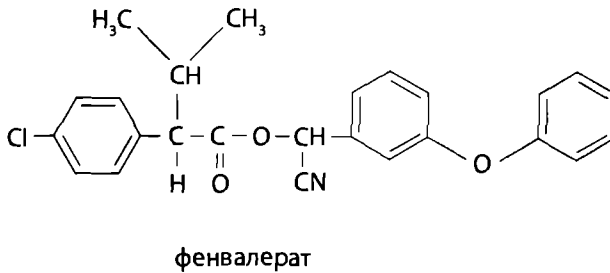
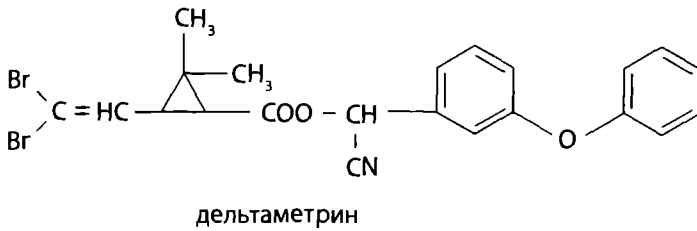
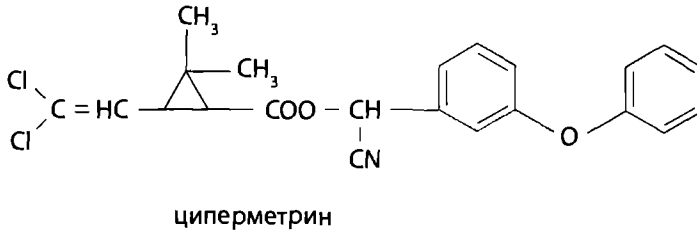
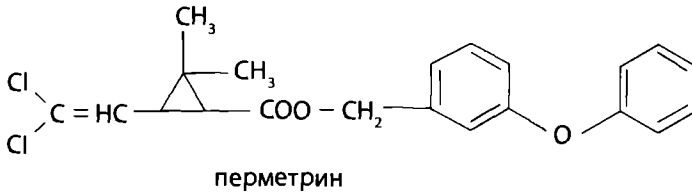


тетраметрин



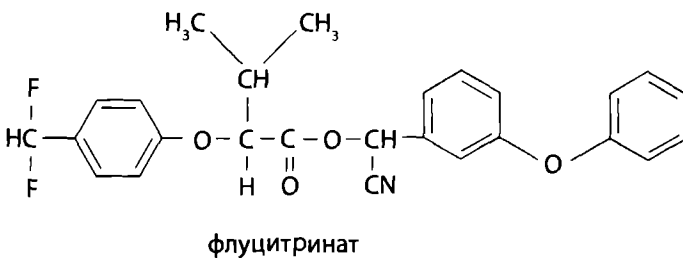
фенотрин

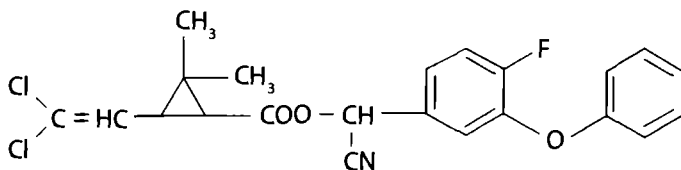
Пиретроиды 2-го поколения – эфиры 3-(2,2-дигалогенвинил)-2,2-диметилциклопропанкарбоновой кислоты



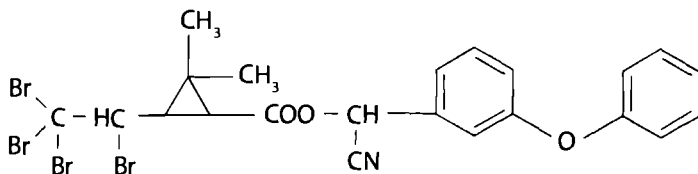
Недостатком пиретроидов 1-го и 2-го поколения является высокая токсичность для пчел и рыб и непригодность для почвообитающих насекомых

Пиретроиды 3-го поколения

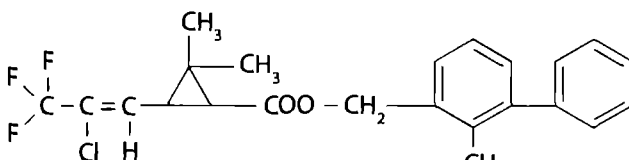




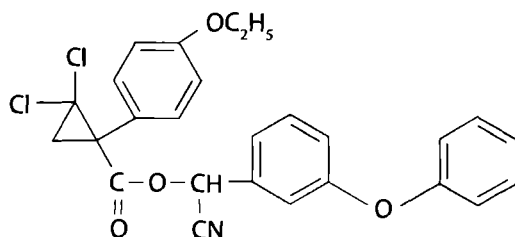
цифлутрин



тралометрин



бифетрин



циклопротрин

Предложенные пиретроиды третьего поколения обладают большей активностью в отношении клещей и меньшей токсичностью в отношении пчел, птиц и рыб. Кроме указанных соединений, применяются в практике еще более 100 синтетических пиретроидов.

Физико-химические свойства синтетических пиретроидов. Синтетические пиретроиды – это кристаллические, жидкие, пасто- и воскообразные вещества. Они летучи в разной степени, являются веществами нейтрального характера, хорошо растворимы в большинстве органических растворителей (ацетоне, гексане, хлороформе, ацетонитриле и др.) и плохо растворимы в воде. Промышленностью синтетические пиретроиды выпускаются в виде смачиваемых порошков или паст. Под действием кислорода, влаги и света разлагаются. Они устойчивы в слабощелочной и нейтральной средах, но как эфиры гидролизуются под действием щелочей и сильных кислот. Например, дельтаметрин при перегонке способен гидролизоваться с образованием синильной кислоты, которая может быть обнаружена в дистилляте.

В организм человека пиретроиды могут поступать через легкие и ЖКТ. В организме теплокровных, в частности человека, синтетические пиретроиды подвергаются гидролизу, а затем гидроксигированию. При наличии цианогруппы она подвергается трансформированию в тиоцианогруппу. Пиретроиды являются липофильными соединениями.

Токсикологическое значение. Смертельная доза большинства пиретроидов для человека не установлена. Все пиретроиды – яды нервного типа, они поражают центральную и периферическую нервную систему. При контакте с пиретроидами токсическое действие выражается в раздражении кожи в виде зуда, жжения, эритем. Затем появляются головная боль, головокружение, боли в суставах, тошнота, рвота, поражение печени. Позже проявляется нейротоксическое действие, тремор, судороги, параличи, мышечная слабость, глубокая депрессия. При высоких концентрациях наблюдается поражение нервных окончаний. Синтетические пиретроиды влияют на активность холинэстеразы и окислительно-восстановительные системы организма подобно действию севина. Смертельные случаи проявляются в виде инфаркта. По токсичности синтетические пиретроиды значительно отличаются друг от друга: от сильно токсичных ($LD_{50}=25$ мг/кг) до малотоксичных ($LD_{50}=10\ 000$ мг/кг).

При вскрытии погибших наблюдаются отек мозга, дистрофические изменения в паренхиматозных органах, кровенаполнение печени.

Методы изолирования пиретроидов

Изолирование из трупного материала. Как вещества органической природы нейтрального характера пиретроиды экстрагируются эфиром или хлороформом из растворов с $pH=2-3$. Преимущество отдается обычно изолированию спиртом. Из биологического материала спиртом способны извлекаться не только нативные соединения, но и полярные продукты метаболизма пиретроидов.

При направленной анализе в качестве экстрагентов предлагается использовать гексан, петролейный эфир или смесь гексана и ацетона в соотношении 9:1 или 7:3. Эти экстрагенты позволяют извлекать меньшее количество соэкстрактивных веществ.

Для очистки извлечений из трупного материала используют реэкстракцию или колоночную хроматографию.

Экстракционный метод очистки. Сухой остаток после испарения экстракта из объекта растворяют в 25–30 мл гексана и несколько раз экстрагируют ацетонитрилом. К ацетонитрильным вытяжкам добавляют 5–10% растворы хлорида натрия или калия и затем вновь проводят экстракцию пиретроидов гексаном.

Колоночная хроматография. Для цели очистки извлечений используют колонки диаметром 1 см и длиной 10 см со слоем силикагеля КСК, на который сверху помещают 2 г безводного сульфата натрия. Хлороформный экстракт упаривают до объема 5 мл и пропускают через колонку со скоростью 40–50 капель в минуту. Синтетические пиретроиды элюируют с колонки 96% этанолом.

Изолирование синтетических пиретроидов из крови и мочи. Для изолирования предложена твердофазная экстракция. 1 мл плазмы крови или мочи разбавляют 10 мл 70% раствора метанола (часть белков плазмы при этом осаждается). В качестве сорбента используют ненабухающие модифицированные силикагели, обладающие свойством с высокой скоростью устанавливать сорбционное равновесие. Разбавленную метанолом плазму (мочу) пропускают через патрон с сорбентом. Пиретроиды с колонки элюируют смесью метанол – вода (30:70).

Анализ извлечений. Наиболее эффективными методами обнаружения пиретроидов являются методы ТСХ, ГЖХ, ГХ/МС и иммунохимический анализ.

При проведении **хроматографии в тонком слое сорбента** используют пластинки «Сорбфил», пластинки со слоем силикагеля или оксида алюминия. В качестве систем рекомендуются 2- и 3-компонентные смеси на основе гексана, хлороформа, толуола с добавлением полярных и неполярных растворителей (ацетона, бензола, диэтилового эфира, этилацетата и др.). Чаще всего применяют системы хлороформ – метанол – 25% раствор аммиака (32:7:1) или гексан – ацетон (4:1).

Для обнаружения синтетических пиретроидов на пластинках используют следующие способы:

- Облучение УФ-лампой. Наблюдают флуоресцирующие пятна.

- При обработке 0,3% раствором перманганата калия и при последующем нагревании образуются пятна светло-желтого цвета.
- При обработке пластинки аммиачным раствором нитрата серебра в ацетоне и облучении в течение 10–15 мин УФ-лучами наблюдают серо-черные пятна пиретроидов. Обнаруживаются все соединения данной группы веществ, содержащие галоген.
- При обработке пластинки фосфорномолибденовой кислотой и этиловым спиртом с последующим нагреванием пиретроиды образуют серо-желтые пятна.
- При обработке пластинки реактивом Драгендорфа (в модификации Мунье) пиретроиды обнаруживаются в виде оранжевых пятен (на пластинках «Сорбфил»).
- При обработке пластинки параами брома, а затем о-толидином в ацетоне образуются синие пятна галогенсодержащих пиретроидов.
- При обработке пластинки модифицированным реактивом Дениже (оксид ртути(II), вода и концентрированная серная кислота) производные хризантемовой кислоты образуют пятна розового цвета.
- Пиретроиды, содержащие группу CN, при обработке пластинки 20% раствором гидроксида натрия, 1% раствором ацетата меди(II) и 1% раствором о-толидина в 10% растворе уксусной кислоты образуют пятна синего цвета.

Для некоторых пиретроидов, содержащих атомы серы, кислорода, азота, пластинку обрабатывают бромфеноловым синим в присутствии ацетона и серебра. Общий фон на пластинке обесцвечивают обработкой 2% раствором лимонной кислоты. Пиретроиды проявляются в виде синих пятен.

Более эффективным является *метод ГЖХ*, так как многие пиретроиды являются летучими соединениями. Идентификацию пиретроидов проводят по времени или объему удерживания. Газожидкостная хроматография используется после очистки экстрактов из биологических объектов. Иногда, чтобы увеличить летучесть препаратов перед обнаружением, их дериватизируют. Часто рекомендуется проводить гидролиз препаратов с последующим получением метиловых эфиров продуктов гидролиза, которые и подвергают анализу. Используют приборы с детекторами ПИД, ДЭЗ. Колонки обычно набивные или капиллярные кварцевые. Неподвижные жидкие фазы неполярные или слабополярные. Режим работы прибора чаще всего изотермический с программированной температурой.

Единой методики анализа с помощью ГЖХ для синтетических пиретроидов нет. Имеющиеся разработки касаются отдельных производных. Делаются попытки разработки скрининговых методов для анализа пиретроидов.

Метод хроматомасс-спектрометрии используется в качестве арбитражного и требует тщательной очистки извлечений. Он включает использование высокоселективного детектора. Наибольшее распространение при анализе синтетических пиретроидов получил метод ионизации молекул электронным ударом и реже – метод химической ионизации. Основной путь фрагментации молекул пиретроидов заключается в разрыве сложноэфирной связи. Например, для идентификации пиретроидов при проведении анализа методом ГХ-МС с помощью электронного удара выделены следующие ионы.

- соответствующие кислотной части молекулы (остатки хризантемовой или циклопропанкарбоновой кислот) – m/z 97, 123, 163, 167, 251,
- соответствующие спиртовой части молекулы – m/z 164, 171, 183, 208, 209, 181;
- альдегид хризантемовой кислоты – m/z 151;
- анион хризантемовой кислоты – m/z 167 и т.д.

Полученные масс-спектры сравниваются с результатами анализа стандартных образцов или с библиотекой масс-спектров.

Количественное определение синтетических пиретроидов

Для количественного определения пиретроидов предложены различные методы, но чаще всего используют:

- *Метод ГЖХ* по высоте или площади пика с использованием внутреннего стандарта

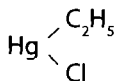
- **Метод денситометрии.** Проводится на хроматографических пластинках после получения окрашенных пятен. С помощью специальных сканирующих устройств определяют площадь пятна и рассчитывают концентрацию пиретроида, используя стандартные образцы.

11.6. Неорганические ядохимикаты и органические препараты ртути

Неорганические соединения, применяемые для борьбы с вредителями сельскохозяйственных культур, с грызунами, чаще называют ядохимикатами. Они отличаются высокой эффективностью, но при этом – достаточно высокой токсичностью. Характерной их особенностью является отсутствие избирательности. Неорганические ядохимикаты довольно стабильны и поэтому долго сохраняются в окружающей среде. Дождевая вода вымывает их из почвы и переносит в водоемы. Поэтому неорганические ядохимикаты наносят большой вред окружающей среде. Развитие пестицидов по этой причине идет по пути создания веществ эффективных, селективных и быстро разрушающихся в присутствии влаги и кислорода воздуха. Очевидно, что прогресс в создании таких пестицидов лежит на пути получения органических веществ. Это является главной причиной того, что многие неорганические ядохимикаты исключаются из числа современных пестицидов, а некоторые из них сегодня имеют историческое значение или используются как остатки старых запасов 20–30-летней давности. Некоторые ядохимикаты неорганической природы и в настоящее время находят применение при обработке садов, виноградников и др. Это препараты меди, цинка, бария, таллия, соли фтороводородной кислоты и др. Широко используются металлоорганические соединения, одним из которых является гранозан (этилмеркурхлорид).

Доказательство отравления неорганическими пестицидами сводится к обнаружению и определению в объекте солей соответствующих металлов по методикам, описанным в разделе «группа металлических ядов». Этилмеркурхлорид, фториды, фосфид цинка требуют особых подходов к изолированию и анализу биологических объектов, поэтому остановимся на этих препаратах.

11.6.1. Гранозан (этилмеркурхлорид)



Этилмеркурхлорид – это белый кристаллический порошок, малорастворим в воде, растворим в растворах щелочей. Гранозан представляет собой смесь 2% этилмеркурхлорида, 1% красителя, 1% минерального масла и сухих наполнителей. Применяется как фунгицид и бактерицид.

Отравления гранозаном наблюдаются чаще всего при употреблении в пищу обработанных гранозаном семечек подсолнечника, гороха, муки из протравленного зерна. Встречаются отравления в производственных условиях.

Симптомы отравления развиваются через 1–3 недели после попадания яда в организм. При попадании на кожу гранозан оказывает кожно-резорбтивное действие с образованием язв. Пары гранозана в 2 раза токсичнее паров ртути. Это объясняется тем, что органический радикал способствует растворению гранозана в липидах и проникновению в мозг, что вызывает тяжелое поражение ЦНС, приводит к блокированию сульфгидрильных групп и нарушению обменных процессов. При отравлениях наблюдается потеря аппетита, неприятный вкус во рту, жажда, головная боль, бессонница. Позже появляются тошнота, рвота, боли в животе, понос, галлюцинации, парез конечностей.

На вскрытии отмечают белковую и жировую дистрофию печени.

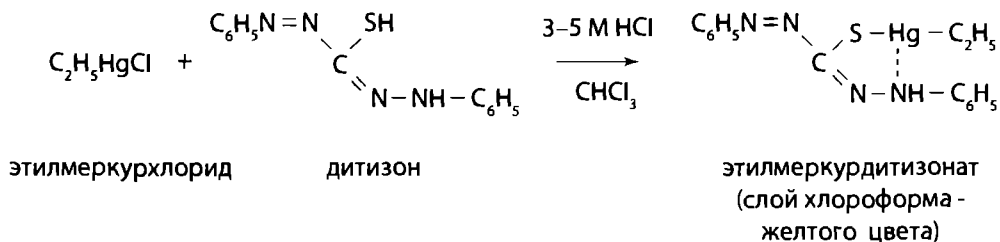
В качестве объектов анализа могут быть внутренние органы, моча, кровь, зерно, мука, крупа и др

Изолирование этилмеркурхлорида из печени и почек. Навеску объекта массой 25 г заливают 50 мл 3 М хлороводородной кислоты и оставляют на 30–60 мин, периодически помешивая. Смесь центрифугируют, заливают еще раз тем же растворителем на 30–60 мин и снова центрифугируют. Вытяжки объединяют и два раза взбалтывают по 5 мин с 10 мл хлороформа. Хлороформные экстракты объединяют, при необходимости центрифугируют.

Изолирование этилмеркурхлорида из крови. К 2 мл цельной крови прибавляют 5 мл 1 М раствора гидроксида натрия, нагревают на водяной бане 10 мин до получения однородной жидкости. Смесь охлаждают и добавляют 20 мл концентрированной хлороводородной кислоты. Через 15 мин этилмеркурхлорид экстрагируют дважды хлороформом по 10 мл.

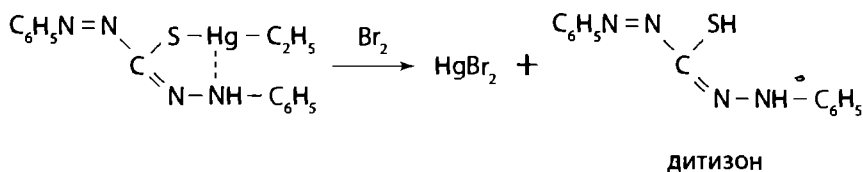
Изолирование этилмеркурхлорида из мочи. К 20–50 мл мочи добавляют концентрированную хлороводородную кислоту с таким расчетом, чтобы получить в конечном разведении 1–3 М раствор. Из полученного раствора этилмеркурхлорид экстрагируют хлороформом 2 раза по 10 мл.

Обнаружение этилмеркурхлорида в полученных экстрактах. Хлороформные извлечения переносят в делительные воронки, прибавляют к ним 20 мл ацетатного буферного раствора с pH=4,5 и 0,1 мл 0,1% раствора дитизона в хлороформе. Смесь взбалтывают. Образуется этилмеркурдитизонат, который окрашивает слой хлороформа в желтый цвет



После этого хлороформный слой отделяют и выпаривают досуха. Сухой остаток растворяют в минимальном количестве хлороформа (не более 0,5 мл) и исследуют

Метод хроматографии в тонком слое сорбента. На пластинку с тонким слоем силикагеля КСК наносят несколько капель хлороформного раствора остатка. Параллельно наносят каплю «стандарта», подсушивают на воздухе и хроматографируют в системе n-гексан – хлороформ (2:5) или n-гексан – ацетон (4:1). После хроматографирования и высушивания пластинки дитизонат этилмеркурхлорида обнаруживается в виде желтого пятна с $R_f=0,56-0,60$. Предел обнаружения – 0,1 мкг этилмеркурхлорида. Эту же пластинку можно обработать парами брома. При этом желтое пятно дитизоната этилмеркурхлорида обесцвечивается.



Образуется бромид ртути(II). На обесцвеченное пятно наносят каплю суспензии йодида меди(I). Пятно приобретает розовую или кроваво-красную окраску. При этом образуется тетраидомеркуриат меди(I) – Cu_2HgI_4 .

Обнаружение этилртутихлорида по реакции вытеснения ртути. Эта методика используется при анализе зерна, крупы, растительных объектов. К 100 г объекта добавляют 150 мл 12% хлороводородной кислоты и опускают зачищенные медные спиральки. Смесь нагревают и кипятят 10 мин, затем оставляют на сутки при комнатной температуре. После этого спиральки вынимают, промывают водой, этиловым спиртом и сушат эфиром. При наличии этилртутихлорида в исследуемых объектах ртуть восстанавливается на медных спиральках в виде серого налета. Далее спиральки помещают в узкие пробирочки, добавляют несколько кристалликов йода и исследование продолжают, как описано в разделе «Обнаружение и определение ртути в моче» (см. раздел 10.5.13).

Количественное определение этилртутихлорида

Определение содержания этилртутихлорида проводят *фотометрическим методом*. Для этого проводят хроматографирование этилртутихлоридизоната, который наносят в виде полосы на стартовую линию пластинки со слоем силикагеля КСК. Образовавшееся пятно желтого цвета соскабливают с пластинки, добавляют 4–10 мл хлороформа, перемешивают и центрифугируют. Полученный раствор доводят до определенного объема хлороформом и измеряют значение оптической плотности при длине волны 472 нм. Расчет проводят по калибровочному графику или по стандартному раствору этилртутихлоридизоната.

Данным методом возможно определение в 25 г печени 0,5–0,8 мкг, в 2 мл крови или в 25 мл мочи – 0,4–0,8 мкг этилртутихлорида.

11.6.2. Фториды и кремнефториды

Фтор – элемент 7 группы периодической системы Д.И. Менделеева, в свободном виде в природе не встречается. Его основной минерал флюорит (плавиковый шпат) – CaF_2 встречается в виде месторождений на всех континентах.

Фтор в небольших количествах входит в состав организма человека. Он участвует в образовании эмали зубов, костной ткани, в обмене веществ, в активации некоторых ферментов.

Основные соединения фтора – это фтороводородная (плавиковая) кислота, фториды, гидрофториды металлов, фторбораты и фторсиликаты, а также фторволокна (фторкаучуки, фторопласты), фтороуглероды

Медицинское значение имеют фторид натрия и фторотан. Натрия фторид находят применение в стоматологии в виде 2% раствора, а также для профилактики кариеса в таблетках по 0,0005 г. Фторотан – это средство для ингаляционного наркоза. Он быстро выводится из организма и почти не вызывает раздражения слизистых оболочек

Фтор и его соединения сильнотоксичны. Контакт с фтором вызывает раздражение кожи, слизистых оболочек носа и глаз, дерматиты, конъюнктивиты, отек легких. ПДК для фтора составляет 0,03 мг/м³, непереносимая концентрация – 77 мг/м³. Некоторые фторорганические соединения могут медленно выделять фтор или летучие соединения фтора и приводить к хроническим отравлениям. Из ЖКТ всасываются даже плохо растворимые соли. Кислая среда желудочного сока способствует их переходу в растворимое состояние. Выводятся соединения фтора почками.

Фторид натрия – это белый порошок, при действии сильных кислот разлагается с выделением фтороводородной кислоты – сильнейшего раздражающего средства, вызывающего раздражение слизистых оболочек и отек легких. Фторид натрия (технический) применяется в сельском хозяйстве в качестве инсектицида и зооцида.

При отравлении фторидом натрия наблюдаются слабость, головокружение, тошнота, боли под ложечкой, понос, слюнотечение, судороги.

При вскрытии обнаруживают венозное полнокровие внутренних органов, жидкую кровь в полостях сердца, почек, тяжелые дистрофические и некробиотические явления.

Кремнефторид натрия – это белый, иногда желтоватый или сероватый порошок без запаха, малорастворим в холодной воде. Технический кремнефторид применяется

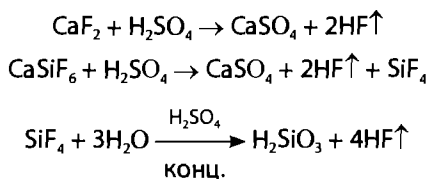
в сельском хозяйстве для борьбы с вредителями сахарной свеклы, хлопчатника, зерновых культур.

Кремнефторид обладает способностью всасываться через кожные покровы. При отравлении кремнефторидами наблюдается поражение нервной системы и нарушение обмена веществ. Явления отравления выражаются обильным слюнотечением, рвотой, болями в животе. Наблюдается сухость кожи, трещины, гнойная сыпь, учащенное дыхание, раздражение слизистых оболочек верхних дыхательных путей. При вдыхании большого количества пыли кремнефторидов может наступить смерть. При хронических отравлениях отмечаются заболевания зубов и некоторых костей.

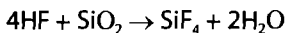
Изолирование фторидов и кремнефторидов из технических препаратов и биологического материала (органы трупов, рвотные массы, содержимое желудка) проводится в присутствии суспензии оксида кальция для исключения потери исследуемых веществ. В фарфоровый тигель вносят 25 г измельченного объекта, прибавляют 13–14 мл суспензии оксида кальция (5 г оксида кальция и 15 мл воды очищенной). Смесь хорошо перемешивают, смачивают раствором нитрата аммония, высушивают и сжигают. Зола промывают водой и высушивают. В золе должен содержаться малорастворимый фторид или кремнефторид кальция

Обнаружение фторидов и кремнефторидов в полученной золе проводят с помощью химических реакций «травления» стекла, образования геля ортокремниевой кислоты и с ализаринциркониевым лаком.

Реакция «травления» стекла. Часть золы помещают в платиновый тигель, прибавляют небольшое количество концентрированной серной кислоты. Тигель накрывают часовым стеклом, нижнюю поверхность которого предварительно покрывают слоем воска или парафина и с помощью иглы делают надпись. Тигель оставляют на сутки при комнатной температуре. Затем часовое стекло снимают, освобождают от парафина (воска) Наличие на стекле нанесенной надписи свидетельствует о присутствии в исследуемом объекте фторидов или кремнефторидов.



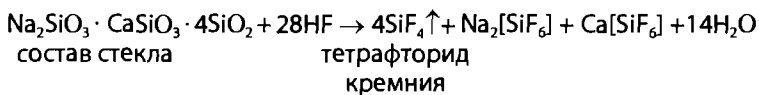
Выделяющийся фтористый водород взаимодействует с оксидом кремния, содержащимся в стекле. Происходит «разъедание» стекла.



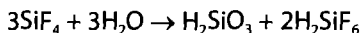
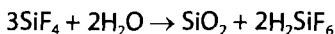
Данная реакция малочувствительна. Предел обнаружения фторидов и скорость проведения реакции можно повысить, если тигель с золой и серной кислотой подогреть. Но в этом случае на стекло наносят слой лака, высушивают и также делают соответствующую надпись.

Реакция образования геля ортокремниевой кислоты. В пробирку вносят часть полученной золы и несколько капель концентрированной серной кислоты. К отверстию пробирки подносят платиновую проволоку (или стеклянную палочку), на конце которой имеется капля воды. Помутнение капли воды указывает на наличие фторидов или кремнефторидов в исследуемой пробе.

Эта реакция основана на том, что при действии серной кислоты на золу выделяется фтористый водород. Он реагирует со стенками пробирки, образуя газообразный тетрафторид кремния

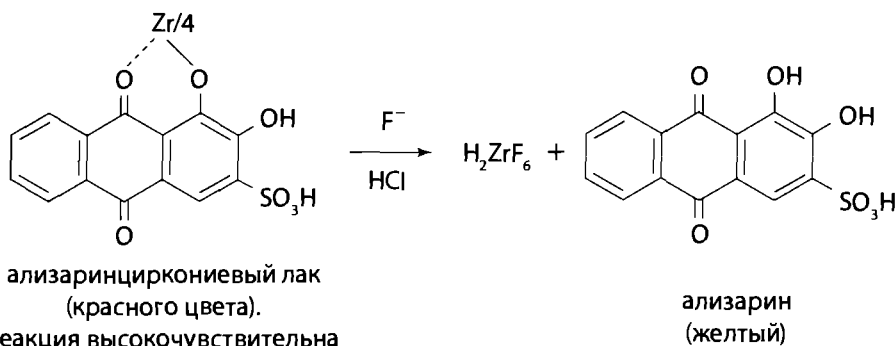


Тетрафторид кремния гидролизуетсЯ водой с образованием геля SiO_2 или H_2SiO_3 и кремнефтористоводородной кислоты.



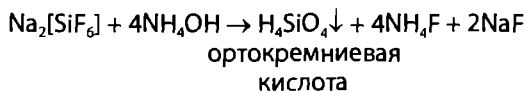
Наблюдается помутнение капли воды на стеклянной палочке или платиновой проволочке.

Реакция с ализаринциркониевым лаком. На полоску фильтровальной бумаги наносят каплю смеси, состоящей из равных объемов 0,25% раствора ализаринового красного и 0,25% раствора нитрата циркония. После подсушивания на полученное пятно красного цвета наносят каплю исследуемого раствора. При наличии фторидов или кремнефторидов наблюдают изменение окраски пятна на желтую.



Реакции отличия фторидов и кремнефторидов. Чтобы отличить препараты фторида от кремнефторидов, используют реакции с раствором аммиака, гидроксидом натрия, солями калия и реакцию образования геля ортокремниевой кислоты.

Реакция с раствором аммиака. К водному раствору исследуемого вещества прибавляют несколько капель 10% водного раствора аммиака. При подогревании в присутствии кремнефторидов выпадает студенистый осадок (нерастворимая ортокремниевая кислота).

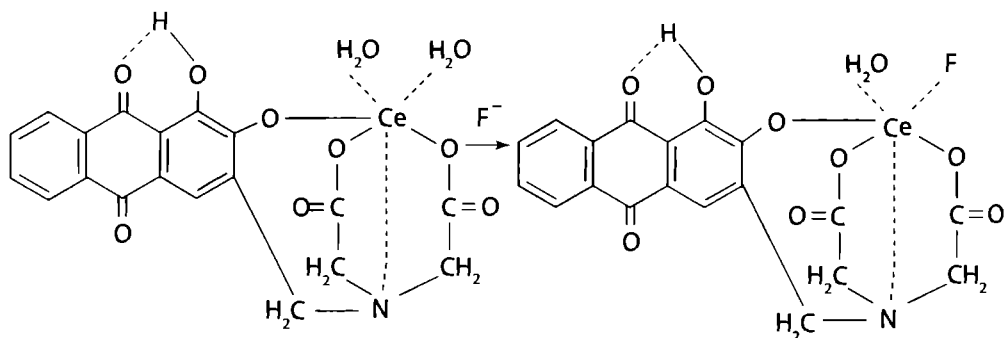


Реакция с раствором гидроксида натрия. К 5 мл водного раствора исследуемого вещества добавляют 3 мл 10% раствора гидроксида натрия. В присутствии кремнефторидов наблюдают образование белого студенистого осадка.

Реакция с солями калия. К 3 мл исследуемого раствора прибавляют 4 мл 5% раствора хлорида калия и 5 мл этилового спирта. В присутствии кремнефторидов выпадает белый осадок состава K_2SiF_6 . Этиловый спирт ускоряет выпадение осадка.

Образование геля ортокремниевой кислоты. В отличие от фторидов, реакция проводится обязательно в платиновом или железном тигле с использованием ранее описанной методики. В этих условиях фториды не дают реакции образования ортокремниевой кислоты.

Количественное определение фторидов. Для количественного определения используют спектрофотометрический метод, основанный на образовании тройного комплекса ализарин-комплексона, церия и фтора. В мерную колбу вместимостью 100 мл вносят 1–10 мл исследуемого раствора, 10 мл 0,0005 М раствора ализарин-комплексона, 2 мл ацетатного буферного раствора (рН=5,0) и прибавляют 10 мл 0,0005 М водного раствора нитрата церия. Содержимое колбы доводят водой до метки и через 10 мин измеряют оптическую плотность при длине волны 610 нм. Содержание фторидов рассчитывают по стандартному раствору фторида натрия.



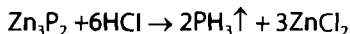
внутрикомплексное соединение
ализарин-комплексона и церия
(красный цвет)

тройной комплекс ализарин-комплексона,
фтора и церия
(синий цвет)

Метод позволяет определять содержание фторидов в объекте от 5 мг и более.

11.6.3. Фосфид цинка

Фосфид цинка – Zn_3P_2 – представляет собой темно-серый порошок с запахом чеснока, нерастворим в воде и органических растворителях. В кислотах растворяется с образованием фосфористого водорода (взрывоопасен) и хлорида цинка.



Применяется фосфид цинка в виде 21% смачивающегося порошка, таблеток и пасты для борьбы с грызунами. Для прилипания фосфида цинка к зерну-приманке добавляют 3–5% растительного масла.

Фосфид цинка ядовит. Тяжелое отравление наступает при принятии десятых долей грамма этого вещества. Признаки отравления проявляются через несколько минут. Возникают резкие боли в животе, слабость, головокружение, рвота с примесью крови и желчи. Состояние быстро ухудшается. Пострадавший теряет сознание, дыхание становится редким, кожа бледнеет, образуется липкий пот. Смерть наступает в первые часы после приема яда при явлениях асфиксии, тяжелого нарушения дыхания и кровообращения.

На вскрытии отмечают гемолиз крови, множественные кровоизлияния в различные органы и ткани, дистрофические изменения почек, печени, миокарда даже в случае быстрой смерти.

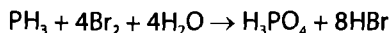
Объектами исследования при отравлении фосфидом цинка являются желудок и кишечник с содержимым, пищевые продукты, приманки для грызунов и другие.

При анализе приманок изолирование фосфида цинка проводить не требуется. Объект обрабатывают кислотой и обнаруживают выделяющийся фосфористый водород и соль цинка.

Изолирование фосфористого водорода из содержимого желудка и кишечника.

В круглодонную колбу помещают 20–100 г объекта и присоединяют к прибору для перегонки с водяным паром. Прибор имеет приемник, состоящий из пяти колб, последовательно соединенных друг с другом. В первый приемник наливают 25 мл бромной воды, во все последующие – по 10 мл бромной воды. В колбу с объектом добавляют воду до кашицеобразной массы, подкисляют 10% раствором серной кислоты и сразу отгоняют фосфористый водород. Скорость перегонки регулируют так, чтобы через приемник проходило 3–5 пузырьков газа в 1 с. В процессе перегонки над бромной водой в приемнике появляется белый туман. Это результат взаимодействия бромной воды с фосфористым водородом. Перегонка считается законченной, когда в колбах-приемниках перестанет об-

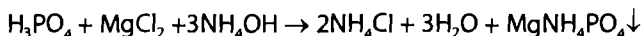
разовываться белый дым над жидкостью. В первом приемнике объем жидкости должен в процессе перегонки увеличиться не менее, чем на 50 мл. После окончания перегонки содержимое всех приемников объединяют и упаривают. Остаток растворяют в 2–5 мл 2 М раствора азотной кислоты. Этот раствор содержит фосфорную кислоту.



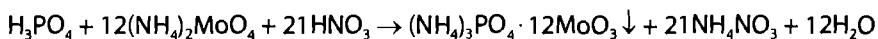
Обнаружение фосфорной кислоты

Реакция с молибдатом аммония и бензидином. На фильтровальную бумагу наносят 1 каплю раствора молибдата аммония, 1–2 капли раствора остатка в азотной кислоте и через 1–2 мин прибавляют каплю раствора бензидина. Затем бумагу держат над парами аммиака – пятно окрашивается в синий цвет.

Реакция с магниезальной смесью. Часть раствора из приемника нейтрализуют раствором аммиака и прибавляют магниезальную смесь, перемешивают и добавляют 10% раствор аммиака. В присутствии фосфорной кислоты образуется белый кристаллический осадок.



Реакция образования аммонийной соли фосфорно-молибденовой кислоты. Нагревают 1–2 мл раствора молибдата аммония в азотной кислоте и по каплям добавляют часть исследуемого раствора. При наличии фосфорной кислоты образуется осадок желтого цвета.



Изолирование и обнаружение цинка. Остаток объекта в колбе после отгонки фосфористого водорода упаривают и проводят мокрую минерализацию с помощью серной и азотной кислот по методике, описанной в разделе 6.5.1. В полученном минерализате ионы цинка обнаруживают реакциями с дитизином и, после выделения в виде диэтилдитиокарбамата, с сульфидом натрия, с гексацианоферратом(II) калия и с тетраданомеркуроатом аммония (см. раздел 10.5.9).

Глава 12. НЕКОТОРЫЕ ЯДОВИТЫЕ ГАЗЫ

Токсические вещества, поступающие в организм ингаляционным путем, называют ядовитыми газами. Через легкие в организм могут проникать вещества в виде аэрозолей, паров, дыма и т.д. В данном разделе мы рассматриваем вещества, токсическое действие которых проявляется только при вдыхании воздуха, содержащего примесь газов – это хлор и оксид углерода. Другие летучие соединения рассмотрены в соответствующих разделах.

12.1. Оксид углерода(II)

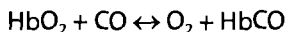
Физико-химические свойства. Оксид углерода(II) – монооксид углерода, угарный газ. Это газ без цвета и запаха, горит синим пламенем с образованием CO_2 . В смеси с воздухом взрывается при зажигании. Он образуется при неполном сгорании топлива, в процессе выплавки и переработки черных и цветных металлов. Оксид углерода(II) содержится в выхлопных газах двигателей внутреннего сгорания, образуется при взрывных работах, при пожарах.

Токсикологическое значение. Отравления оксидом углерода составляют более 17% среди общего числа отравлений. Основными их видами являются:

- Отравления оксидом углерода(II), содержащимся в выхлопных газах автомобилей и других транспортных средств. Наблюдаются у лиц, длительно находящихся в закрытых гаражах и автомобилях с работающим двигателем (чаще всего в зимнее время).
- Отравления от угорания в быту в помещениях с неисправным отоплением, в котельных бытовых и производственных зданий.
- Отравления при пожарах лиц, находящихся в задымленных зданиях и помещениях (закрытые комнаты, квартиры), в вагонах транспорта и в лифтах.

Чувствительность людей разных возрастных групп к оксиду углерода различна. Новорожденные более выносливы и переносят такие концентрации оксида углерода(II) в воздухе, которые являются смертельными для взрослых.

Действие оксида углерода(II) на организм выражается в угнетении кислородопереносящей функции крови. Механизм основан на взаимодействии оксида углерода(II) с железом(II) гемоглобина и образовании карбоксигемоглобина.



Сродство гемоглобина к оксиду углерода(II) в 250–300 раз выше, чем к кислороду. Даже небольшое количество оксида углерода(II) во вдыхаемом воздухе приводит к образованию больших количеств HbCO . Например, наличие в воздухе 0,1% угарного газа ведет к превращению в карбоксигемоглобин 50% гемоглобина крови. Обратная реакция диссоциации карбоксигемоглобина происходит в 3600 раз медленнее, чем диссоциация оксигемоглобина, что приводит к выраженной гипоксии тканей. Симптомы отравления при различных концентрациях карбоксигемоглобина (HbCO) в крови приведены в таблице 57.

Оксид углерода(II) способен угнетать тканевое дыхание. Это происходит за счет его соединения с железосодержащим комплексом цитохромоксидазой, что снижает способность тканей утилизировать кислород. Оксид углерода(II) фиксируется и задерживается тканями достаточно длительное время (более 16 сут.). Это объясняется прочной связью с миоглобином, основным белком мышечной ткани.

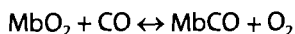


Таблица 57

Содержание карбоксигемоглобина в гемоглобине и основные симптомы отравления

Концентрация HbCO, %	Симптомы отравления
0–10	Симптомов не выявлено
10–20	Ощущаются сжатие лба, небольшая головная боль, покраснение кожных покровов
20–30	Легкая степень отравления ощущение тяжести и давления в голове, пульсация в висках, туман в глазах, головокружение, сильная слабость, головная боль, тошнота, часто рвота, сонливость, сердцебиение, учащенное дыхание
30–40	Отравление средней тяжести нарастающая слабость, одышка, кратковременная потеря сознания и памяти, заторможенность, судороги
40–50	К описанным симптомам добавляются учащение дыхания и пульса, часто наблюдается коллапс
50–60	Тяжелая форма отравления длительная потеря сознания (часы, сутки), нарушение нервной и психической деятельности (галлюцинации, бред, клонические и тонические судороги, парезы, параличи) Резкое расстройство дыхания (частое, неправильного типа), кровообращения Слизистые оболочки и цвет лица алые
60–70	К вышеописанным симптомам добавляются ослабление дыхательной и сердечной деятельности Возможен смертельный исход
70–80	Замедление дыхания, ослабление пульса, остановка дыхания и смертельный исход

На течение отравления оксидом углерода(II) оказывают влияние следующие факторы:

- Этиловый спирт сдерживает насыщение крови оксидом углерода(II), и чем больше спирта в крови, тем меньше процент образования HbCO.
- Синильная кислота способна усилить токсическое действие оксида углерода(II). Синильная кислота выделяется при сгорании шерсти, полимеров, синтетических материалов (на пожарах).
- Оксиды азота(II и IV) усиливают токсическое действие оксида углерода(II).

При отравлении наибольшие количества оксида углерода(II) обнаруживаются в синусах мозговых оболочек, сосудах бедра и плеча. Оксид углерода(II) выводится из организма через дыхательные пути за 1 ч на 60–70%, за 4 ч – на 90–96%.

Объекты исследования. кровь, мышцы (редко).

Обнаружение и определение оксида углерода(II) проводится непосредственно в крови. С этой целью используются газохроматографический, химический, спектроскопический и спектрофотометрический методы анализа.

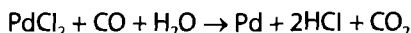
Газохроматографический метод основан на определении оксида углерода(II) с помощью парофазного анализа. Обнаружение проводят непосредственно в газовой фазе или после восстановления до метана или окисления до оксида углерода(IV).

1-й вариант метода. К крови добавляют карбонат или гидрокарбонат натрия. Оксид углерода(II) переходит в газовую фазу. Ее отбирают шприцом и вводят в хроматограф. Используют детектор по теплопроводности (катарометр). Обнаружение проводят по времени удерживания. Концентрацию оксида углерода(II) рассчитывают по калибровочному графику, выражающему зависимость площади пика от концентрации оксида углерода(II). В таком варианте определение оксида углерода(II) в крови возможно при его содержании 30–100%. Ошибка метода составляет 10%.

2-й вариант метода. Выделение оксида углерода(II) из крови проводят, как и в первом варианте. Газовую фазу вводят в дозатор прибора. В качестве газа-носителя рекомендован гелий, который вытесняет CO из дозатора и переносит в хроматографическую колонку с никелевым катализатором на ИНЗ-600. Под действием водорода CO восстанавливается до метана (CH₄), появление которого в системе регистрируется пламенно-ионизационным детектором (ПИД). Преимущество метода в высокой чувствительности и возможности проведения анализа с малыми навесками крови (0,1 мл).

3-й вариант метода основан также на применении парофазного анализа. В парогазовой фазе содержится смесь CO и CO₂ эндогенного происхождения. Используется колонка с силикагелем, на которой разделяются оксид углерода(IV) и оксид углерода(II). Это разделение фиксируется детектором. Затем оксид углерода(II) в специальной ячейке окисляется оксидом йода(V) до оксида углерода(IV), и регистрируется общее количество CO₂. Концентрацию оксида углерода(II) определяют по разнице полученных пиков эндогенного CO₂ и суммарного количества CO₂.

Метод микродиффузии. Описание метода и используемого прибора приведено ранее (см. раздел 6.6.2). Во внешнюю камеру прибора вносят 1 мл крови и 1 мл 10% раствора серной кислоты. Во внутреннюю камеру помещают 2 мл 0,1% раствора хлорида палладия в 0,1 М растворе хлородородной кислоты. Прибор закрывают крышкой и оставляют на 1 ч при комнатной температуре. При наличии в крови оксида углерода(II) во внутренней камере появляется серебристая пленка металлического палладия.



Химический метод основан на том, что оксид углерода(II) образует с гемоглобином довольно прочное химическое соединение, которое плохо реагирует с другими реактивами.

Обнаружение карбоксигемоглобина химическим методом при отравлениях проводят непосредственно в крови с использованием различных реактивов. Для сравнения используют кровь животных или доноров (контрольная проба), с которой проводят те же испытания (табл. 58).

Изменение окраски наблюдают путем сравнения контрольного и испытуемого образца после добавления различных реактивов. Кровь, содержащая карбоксигемоглобин, от прибавления химических реагентов не изменяет или незначительно изменяет окраску.

Заключение об обнаружении карбоксигемоглобина в крови дается, если с большинством реактивов будут получены указанные в таблице результаты.

Следует учитывать, что при легкой степени отравления и незначительном содержании карбоксигемоглобина возможно получение отрицательного результата.

Спектроскопический метод используется для обнаружения в крови карбоксигемоглобина при отравлении оксидом углерода(II). В практике химико-токсикологического анализа для этих целей используют микроспектроскоп – это спектроскоп, соединенный с окуляром. В основе метода – способность гемоглобина и его производных поглощать световое из-

Таблица 58

Химические реакции для обнаружения в крови карбоксигемоглобина

Название пробы	Реактив	Окраска крови, содержащей НbCO	Окраска контрольного опыта крови
Гоппе–Зейлера	30% раствор NaOH	Ярко-красная	Бурая
Сальковского–Катайма	(NH ₄) ₂ S + 30% раствор CH ₃ COOH	Малиново-красная	Серо-зеленая
Хорошкевича–Маркса	8% раствор хинина г/х → t° + (NH ₄) ₂ S	Светло-красная	Красно-бурая
Бюркера	1% раствор K ₃ [Fe(CN) ₆]	Красная	Желтоватая
Сидорова	20% р-р K ₃ [Fe(CN) ₆] и 0,01% раствор K ₂ Cr ₂ O ₇	Карминово-красная	Коричнево-зеленая
Ветцеля	20% р-р K ₃ [Fe(CN) ₆] + ледяная CH ₃ COOH	Вишнево-красный осадок	Серовато-коричневый осадок
Лнбермана	Формалин	Красная	Коричнево-черная
Рубнера	5% раствор основного ацетата свинца	Красная	Коричневая
Залесского	10% раствор CuSO ₄	Пурпурно-красная	Зеленая

B C D E F G

Оксигемоглобин

Восстановленный гемоглобин

Карбоксигемоглобин

Рис. 100. Обнаружение карбоксигемоглобина методом спектроскопии.

лучение определенной длины волны. Если луч света проходит через раствор, содержащий гемоглобин и его производные, в спектре появляются темные полосы поглощения.

Разбавленная кровь, не содержащая карбоксигемоглобина, при наблюдении в спектрографе обнаруживает две полосы поглощения. Они располагаются между линиями Фраунгофера Д и Е в желтой и зеленой частях спектра, которые соответствуют оксигемоглобину. Если к крови добавить восстановитель $(\text{NH}_4)_2\text{S}$, оксигемоглобин восстанавливается в гемоглобин. При этом вместо 2 полос поглощения будет наблюдаться одна широкая полоса в той же области спектра. В разбавленной крови, направленной на химикотоксикологический анализ с подозрением на отравление оксидом углерода(II), также будут наблюдаться две темные полосы поглощения (рис. 100). При добавлении к этой крови $(\text{NH}_4)_2\text{S}$ восстановления не происходит. Две полосы поглощения не исчезают. Это говорит о высокой химической стойкости карбоксигемоглобина. Однако между этими четко выраженными полосами часто появляется небольшое затемнение за счет того, что несвязанный с оксидом углерода(II) оксигемоглобин восстанавливается до гемоглобина.

Спектрофотометрическое определение карбоксигемоглобина. По своей сущности этот метод можно отнести к дифференциальной фотометрии.

В крови людей и животных гемоглобин содержится в виде дезоксигемоглобина (Hb) и оксигемоглобина (HbO_2) - продукта взаимодействия гемоглобина с кислородом. В крови может содержаться также небольшое количество метгемоглобина (MtHb).

При поступлении в организм оксида углерода(II) происходит образование карбоксигемоглобина за счет оксигемоглобина и дезоксигемоглобина. Метгемоглобин с оксидом углерода(II) не связывается. Все указанные соединения имеют характерные спектры поглощения в области 450–620 нм.

Метод определения карбоксигемоглобина основан на том, что при взаимодействии с восстановителями (дитионатом натрия, сульфидом аммония) все соединения гемоглобина (MtHb, HbO_2) за исключением карбоксигемоглобина (COHb) восстанавливаются до дезоксигемоглобина.

Спектр поглощения дезоксигемоглобина имеет одну полосу поглощения с максимумом при 577 нм. Карбоксигемоглобин не восстанавливается, и его спектр поглощения сохраняется. Это видно из представленных спектров поглощения проб крови (см. рис. 101).

Методика определения карбоксигемоглобина (ВОЗ, Женева, 1998) заключается в следующем. Для анализа исследуемую кровь делят на 3 части. Одну часть (А) оставляют без изменения, вторую часть (В) насыщают оксидом углерода до 100% содержания COHb и используют в качестве стандарта, третью часть (С) насыщают кислородом до полного вытеснения CO , т.е. получают 100% оксигемоглобина.

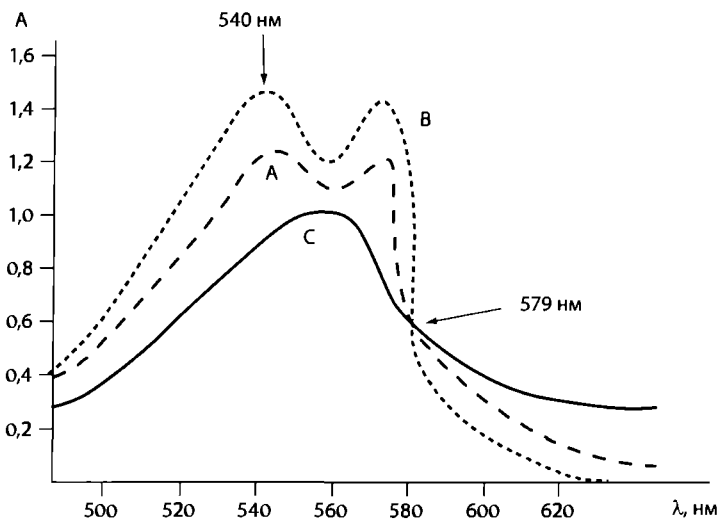


Рис. 101. Спектры поглощения проб крови *A* – исследуемая кровь, содержащая дезокси- и карбоксигемоглобин, *B* – проба крови, содержащая 100% HbCO, *C* – проба крови, содержащая дезоксигемоглобин

К каждой из трех проб добавляют восстановитель дитионат натрия – $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Регистрируют спектры поглощения всех трех растворов в области 500–620 нм и измеряют значение оптической плотности *A* при 540 и 579 нм (изобестическая точка).

Расчет содержания карбоксигемоглобина ведут по величине отношения оптической плотности A_{540}/A_{579} . Находят отношение A_{540}/A_{579} для растворов *A*, *B* и *C*. Эти отношения подставляют в формулу:

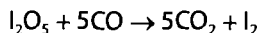
$$\text{HbCO (\%)} = \frac{A_{540}/A_{579} (\text{раствор A}) - A_{540}/A_{579} (\text{раствор C})}{A_{540}/A_{579} (\text{раствор B}) - A_{540}/A_{579} (\text{раствор C})} \cdot 100.$$

Этот метод эффективен при исследовании крови, содержащей более 10% карбоксигемоглобина. Физиологическая норма содержания карбоксигемоглобина в крови составляет от 1,5 до 3,1%, для курильщиков – <10%. Смертельная концентрация карбоксигемоглобина в крови составляет в среднем ~60% и может колебаться в зависимости от внешних условий и особенностей организма от 40 до 80%.

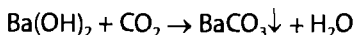
Определение оксида углерода(II) в воздухе

1-й способ. Для обнаружения оксида углерода(II) в воздухе используют его способность поглощаться кровью животного. С этой целью 20 л воздуха прокачивают при помощи аспиратора сначала через ряд склянок Тищенко с суспензией гидроксида железа(II) с целью связывания кислорода, а затем через 5 мл разведенной крови животного. Полученную кровь анализируют спектрофотометрическим методом.

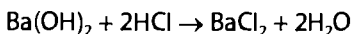
2-й способ. Метод основан на окислении оксида углерода(II) оксидом йода(V) до оксида углерода(IV). Исследуемый объем воздуха (20 л) прокачивают через раствор, содержащий оксид йода(V).



Образовавшийся оксид углерода(IV) пропускают через раствор гидроксида бария.



Избыток гидроксида бария оттитровывают (микротитрование) хлороводородной кислотой.



Симптомы отравления оксидом углерода(II) наблюдаются при его содержании в воздухе 0,20 мг/л. Смертельное отравление может наступить при 1,8–5,7 мг/л. При концентрации 5,7–14,8 г/л смерть наступает в течение нескольких минут, что соответствует 90% содержанию карбоксигемоглобина в крови.

12.2. Хлор

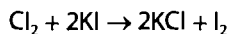
Хлор – желто-зеленый газ с резким удушающим запахом, растворим в неполярных растворителях, хуже – в воде. Хлор применяется для хлорирования воды, для получения пластмасс, инсектицидов, растворителей, дезинфицирующих, отбеливающих, моющих средств, в производстве глицерина, оксида этилена, в металлургии для хлорирующего обжига руд цветных металлов.

Хлор является высокотоксичным элементом, его использовали во время Первой мировой войны как боевое отравляющее вещество. Отравления хлором, в том числе массовые, могут наблюдаться в результате аварий на химических производствах, а также при транспортировке хлора или при избыточном хлорировании воды в бассейнах. Содержание хлора в воздухе 0,006 мг/л оказывает раздражающее действие на дыхательные пути. Хлор в организме реагирует с влагой на слизистых дыхательных путей и образует хлороводородную и хлорноватистую кислоты, что и обуславливает его раздражающее действие. Концентрация хлора в воздухе 0,1 мг/л опасна для жизни. Пострадавший задыхается, лицо синее, он мечется, делает попытку бежать, но тотчас падает, движения становятся нескордированными, сознание теряется, пульс делается частым, затем нитевидным. Остановка дыхания может наступить через 5–25 мин после вдыхания газа. Вдыхание более высокой концентрации может привести к мгновенной смерти в результате рефлекторного торможения дыхательного центра. Смертельный исход объясняется химическим ожогом легких.

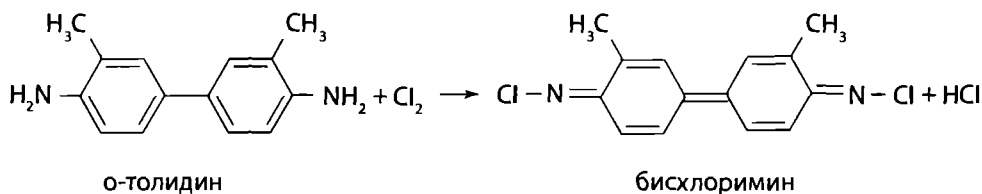
При вскрытии легкие кажутся уменьшенными в размере и имеют характерный желтовато-бурый глинистый цвет, ткань легких теряет эластичность.

Обнаружить в организме свободный хлор невозможно. Чаще всего обнаружение хлора проводят в атмосфере или в производственных помещениях.

Для обнаружения хлора в воздухе около 20 л его прокачивают через два поглотителя. Первый поглотитель содержит растворы йодида калия и крахмала, второй раствор о-толидина. В первом случае при наличии хлора в воздухе наблюдается появление синего окрашивания за счет выделения свободного йода, который с крахмалом образует окрашивание.



Такое окрашивание могут давать оксиды азота, озон. Поэтому в качестве теста для проверки используют вторую реакцию с о-толидином. О-толидин подвергается окислению с образованием желто-оранжевого окрашивания.



Для количественного определения хлора в воздухе применяют два метода. Фотоколориметрический метод основан на реакции с йодидом калия и крахмалом и спектрофотометрический метод по реакции с о-толидином

Глава 13. МИНЕРАЛЬНЫЕ КИСЛОТЫ, ЕДКИЕ ЩЕЛОЧИ И НЕКОТОРЫЕ СОЛИ, ИЗВЛЕКАЕМЫЕ ИЗ ОБЪЕКТА ВОДОЙ

13.1. Общая характеристика и токсикологическое значение

Химико-токсикологическое исследование биологических объектов на минеральные кислоты, щелочи и некоторые соли проводится по постановлению правовых органов, если материалы уголовного дела указывают на возможность отравления перечисленными веществами или при наличии явных признаков отравления этими веществами (см. раздел 6.1).

Токсикологическое значение минеральных солей, кислот, щелочей и некоторых солей. Минеральные кислоты широко применяются в различных отраслях промышленности и в быту, поэтому часто доступны для населения. Это является одной из причин как случайных, так и умышленных отравлений. Известны криминальные случаи использования серной кислоты для нанесения физических увечий. С такой же целью могут использоваться и остальные кислоты. Случайные бытовые отравления встречаются реже.

При отравлении кислотами чаще всего наблюдаются острые отравления.

Серная кислота выпускается промышленностью в виде так называемого моногидрата – 98% раствора серной кислоты, олеума – 20% раствор серного ангидрида в серной кислоте, неочищенной серной кислоты или купоросного масла – 93–97% раствор серной кислоты. Серная кислота смешивается с водой в любых отношениях, при этом выделяется большое количество тепла. Применяется серная кислота почти во всех областях химической промышленности.

Пар над водными растворами серной кислоты состоит из смеси паров воды, серной кислоты и серного ангидрида. При вдыхании таких паров наблюдается затрудненное дыхание, сопровождающееся кашлем, охриплостью, нередко развивается ларингит, трахеит, бронхит. При больших концентрациях паров развивается отек гортани, легких, иногда наступает смерть в результате асфиксии и шока. При попадании серной кислоты на кожу она быстро проникает в глубину тканей, образуется белый струп, приобретающий затем темно-красную окраску. Смертельные случаи встречаются при поражении больших участков поверхности тела или при приеме внутрь 5–10 мл серной кислоты.

При исследовании трупа на коже вокруг рта можно обнаружить следы химического ожога в виде бурых полос и пятен. Слизистые оболочки рта, глотки, пищевода имеют серо-бурый цвет, слизистая оболочка желудка – серовато-красный цвет.

Азотная кислота представляет собой бесцветную прозрачную жидкость. Она смешивается с водой во всех отношениях. Открытая емкость с азотной кислотой выделяет тяжелые пары, образующие белый дым. Азотная кислота выпускается промышленностью в виде 50–60% и 96–98% растворов. Азотная кислота применяется в химической промышленности при производстве удобрений, взрывчатых веществ, лекарственных препаратов и т.д. По сравнению с серной кислотой она менее доступна для населения.

При действии азотной кислоты на ткани они приобретают желтый цвет за счет продуктов разложения и нитрования. Отравления азотной кислотой могут быть ингаляционными и пероральными.

При ингаляционном отравлении азотной кислотой наблюдается синюшность слизистых оболочек век и губ, в трахее и бронхах – большое количество мелкопузырчатой пены, легкие увеличены в объеме, на разрезе синюшно-красные с большим количеством пены. Наблюдаются отек мягкой мозговой оболочки и головного мозга, полнокровие внутренних органов.

При приеме внутрь смертельная доза азотной кислоты составляет 8–10 мл. Отравление начинается с резких болей в области рта, глотки, пищевода, желудка. Возникает рвота бурыми массами, содержащими обрывки слизистой оболочки. Смерть наступает от шока или коллапса.

При вскрытии содержимое желудка имеет резкий запах оксидов азота, наблюдается желтоватая окраска кожи в окружности рта, слизистой оболочки рта и пищеварительного тракта. Сердечная мышца и печень дряблые, имеют серовато-красный цвет с бурым оттенком.

Хлороводородная кислота представляет собой раствор хлористого водорода в воде. Промышленностью выпускается несколько видов хлороводородной кислоты. Наиболее известны: «аккумуляторная», содержащая примерно 37% хлористого водорода, и концентрированная, содержащая примерно 25% хлористого водорода. Первая из них имеет довольно много примесей и применяется только для технических целей. Вторая является более очищенной, один из ее сортов используется в фармацевтической практике. Разведенная хлороводородная кислота (1:2) готовится из 25% раствора и является доступной для населения.

При вдыхании хлористого водорода наблюдают раздражение верхних дыхательных путей и легких. Смерть может наступить от асфиксии в результате отека гортани или спазма голосовой щели.

При приеме внутрь концентрированной хлороводородной кислоты смерть может наступить от 15–20 мл такого раствора. Симптомы отравления такие же, как при отравлении серной кислотой, но выражены в меньшей степени.

При вскрытии видно, что слизистые оболочки полости рта, пищевода, желудка и верхнего отдела кишечника имеют сероватый или черный цвет. Содержимое желудка представляет собой бурую массу. Почки, печень и сердце находятся в состоянии жировой дистрофии. Сердечная мышца дряблая, имеет желтоватый цвет.

Гидроксид натрия – это твердое кристаллическое вещество, растворимое в воде, спирте, глицерине. При попадании на кожу или слизистые оболочки образует мягкие струпы. Опасно попадание гидроксида натрия в глаза, так как при этом развивается вторичная глаукома, сморщивание глазного яблока. При попадании внутрь симптомы отравления подобны симптомам отравлений кислотами. Смертельная доза гидроксида натрия и других едких щелочей составляет 10–20 г.

Гидроксид калия – это белое кристаллическое вещество, очень легко растворимое в воде. При отравлении гидроксидом калия картина сходна с отравлением гидроксидом натрия, но многие реакции действия на организм выражены сильнее.

Аммиак. Насыщенный раствор аммиака содержит до 33% аммиака, 10% его раствор известен как нашатырный спирт. Аммиак имеет широкое применение в химических синтезах, в холодильной промышленности. В медицинской практике применяется при обморочных состояниях. Раствор аммиака – это слабая щелочь. Он вызывает болезненные воспалительные реакции с образованием сильного отека. При длительном воздействии на организм наблюдается отслоение слизистых оболочек, образование пузырей и некроза. При большой концентрации аммиака в воздухе наступает паралич ЦНС и быстрая смерть при явлениях асфиксии (цианоз, судороги, остановка дыхания). Клиническая картина сходна с действием других едких ядов: отек гортани, психомоторное возбуждение, судороги, бред, затем коллапс, парез нижних конечностей. Смерть наступает в течение 10–15 мин.

При вскрытии наблюдаются ярко красные оболочки рта, глотки, пищевода, желудка, отек легких, в почках – нефроз и некроз извитых канальцев, в головном мозге – мелкие кровоизлияния, аммиачный запах от полостей. Смертельная доза составляет 10–15 мл 33% раствора и 25–50 мл 10% раствора аммиака.

Нитрат и нитрит натрия – это бесцветные или слегка желтоватые кристаллы, имеют соленый вкус, похожий на вкус хлорида натрия, хорошо растворимы в воде.

Нитрит натрия используется в химической промышленности при производстве красителей, фотоэмульсий, иногда в строительстве как антифриз для бетона в зимнее время, в резинотехнической, текстильной и металлообрабатывающей промышленности. Как консерванты пищевых продуктов нитриты и нитраты в настоящее время не применяются.

Нитраты находят применение во многих отраслях промышленности. Нитраты (аммония, щелочных металлов и кальция) являются основными азотными удобрениями. Нитраты – компоненты ракетного топлива, пиротехнических составов, травильных растворов при крашении тканей, их используют для закалки металлов, как лекарственные средства и в других областях.

Нитриты и нитраты относятся к токсичным соединениям. Они быстро всасываются из ЖКТ. Отравления нитритами и нитратами могут быть производственными и бытовыми. Нитраты вызывают отек легких, кашель, рвоту, острую сердечно-сосудистую недостаточность. Смертельная доза нитратов находится в пределах 8–15 г. Установлено, что в организме нитраты могут восстанавливаться до нитритов. Нитриты вызывают головную боль, рвоту, угнетают дыхание, действуют на сосудистые стенки и угнетают сосудодвигательный центр. При отравлении нитритами в крови образуется метгемоглобин, повреждаются мембраны эритроцитов. Возможно образование из нитритов нитрозоаминов и аминов непосредственно в ЖКТ. При отравлении характерна сине-черная окраска губ, носа, ушных раковин, ногтей, кровь приобретает шоколадный цвет.

Объектами исследования на наличие этой группы соединений являются содержимое желудка, рвотные массы, остатки пищи, части одежды. При подозрении на наличие солей на исследование дополнительно направляют печень.

Изолирование минеральных кислот, едких щелочей и солей проводят путем настаивания объекта с водой. Для очистки полученных извлечений используют диализ (см. раздел 6.4.6).

13.2. Исследование диализата на минеральные кислоты

При анализе диализата на минеральные кислоты положительную реакцию будут давать как естественно содержащиеся, так и экзогенные анионы (SO_4^{2-} , NO_3^- , Cl^-). Поэтому при положительных реакциях предварительных испытаний диализата проводят перегонку кислот в виде их оксидов.

Предварительное исследование диализата

Вначале проводят испытание диализата на отдельные ионы кислот:

- **Испытание на сульфаты.** К 1 мл диализата добавляют 0,1 мл 10% раствора хлороводородной кислоты и 1 мл 5% раствора хлорида бария. При наличии сульфат-ионов образуется белый осадок.
- **Испытание на хлориды.** К 1 мл диализата добавляют 0,1 мл 10% раствора азотной кислоты и 0,1 мл 1% раствора нитрата серебра. При наличии хлоридов образуется белый творожистый осадок, растворимый в растворе аммиака.
- **Испытание на нитраты и нитриты.** Каплю диализата добавляют к раствору дифениламина в концентрированной серной кислоте. При наличии нитратов или нитритов смесь окрашивается в синий цвет.

Основное исследование диализата

Серная кислота

Диализат помещают в колбу и вносят в него медные опилки. Колбу соединяют с холодильником, снабженным аллонжем, конец которого опускают в раствор йода в йодиде калия (рис. 102).

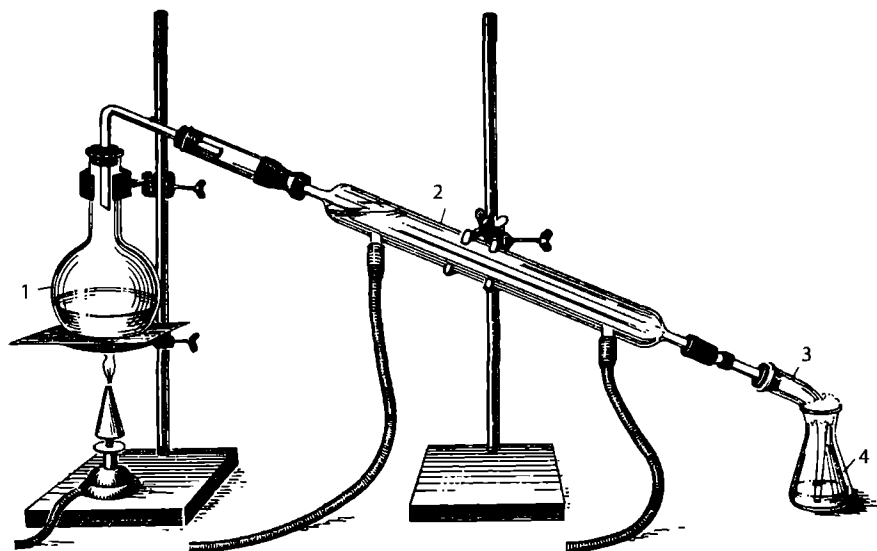
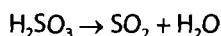
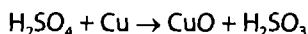


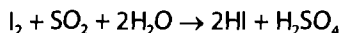
Рис. 102. Прибор для отгонки кислот из диализата: 1 – колба для перегонки диализата; 2 – холодильник Либиха; 3 – аллонж; 4 – приемник для дистиллята.

Колбу с диализатом и медными опилками нагревают. Если раствор йода в приемнике обесцветится, его необходимо добавить дополнительно.

В колбе с объектом происходит окислительно-восстановительная реакция с образованием сернистой кислоты, которая разлагается до оксида серы(IV).



В приемнике также проходит окислительно-восстановительная реакция и наблюдается обесцвечивание йода.



Обнаружение образовавшейся серной кислоты проводят с помощью следующих реакций.

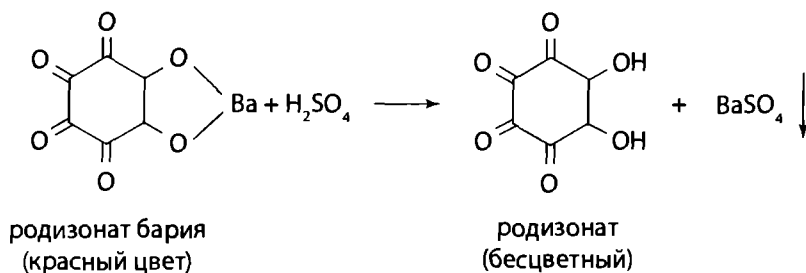
Реакция образования сульфата бария. К 3–5 каплям раствора прибавляют 1–2 капли 5% раствора хлорида бария. Появляется белый осадок, указывающий на наличие серной кислоты.

Реакция получения сульфата свинца. К 3–5 каплям раствора прибавляют 2–3 капли 3% раствора ацетата свинца – выпадает белый осадок сульфата свинца, нерастворимый в азотной кислоте, но растворимый в растворах щелочей и в растворе ацетата аммония.



Последняя реакция основана на способности ионов свинца образовывать ацетатные ацидокомплексы.

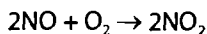
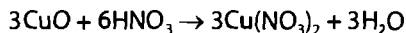
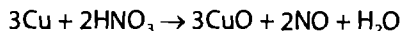
Реакция с родизонатом бария. К 1–2 мл раствора добавляют окрашенный в красный цвет 0,2% раствор родизоната бария. При наличии в растворе сульфат-ионов окраска исчезает, раствор обесцвечивается и образуется белый осадок сульфата бария.



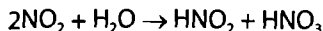
Количественное определение серной кислоты проводят методом алкалометрии. Определенный объем диализата или отгона оттитровывают 0,1 М раствором гидроксида натрия при индикаторе метилоранже.

Азотная кислота

Перегонку диализата проводят, как в случае серной кислоты, в присутствии медных опилок. В приемник помещают очищенную воду. В реакционной колбе происходят реакции, приводящие к образованию оксидов азота.



В приемнике оксид азота связывается с водой.



Для обнаружения образовавшихся азотной и азотистой кислот используют следующие реакции.

Реакция с дифениламином. В углубление на предметном стекле наносят 3–4 капли раствора дифениламина в концентрированной серной кислоте и прибавляют 1 каплю полученного в результате перегонки раствора – появляется синее окрашивание.

Эта реакция неспецифична.

Реакция с бруцином. В углубление на предметном стекле помещают несколько капель исследуемого раствора и прибавляют 2–3 капли бруцина в концентрированной серной кислоте – появляется красное окрашивание при наличии в диализате азотной кислоты.

Реакция с белком на азотную кислоту (ксантопротеиновая проба). В часть исследуемого раствора помещают белые шелковые, хлопчатобумажные и шерстяные нити и раствор выпаривают. Затем нити промывают водой. Шерстяные и шелковые нити окрашиваются в желтый цвет. При добавлении раствора аммиака окраска нитей переходит в оранжевую. Хлопчатобумажные нити остаются белыми.

Реакция на азотистую кислоту. В пробирку вносят несколько капель исследуемого раствора, прибавляют 2–4 капли 10% раствора серной кислоты и 2–3 капли 1% водного раствора феназона – наблюдают образование зеленого окрашивания

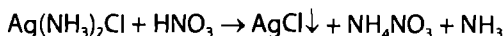
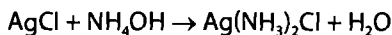
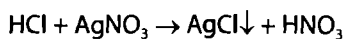
Количественное определение азотной кислоты проводят методом нейтрализации. Определенный объем диализата или отгона титруют 0,1 М раствором гидроксида натрия при индикаторе феиолфталеине.

Хлороводородная кислота

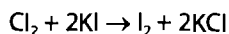
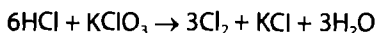
Часть диализата помещают в колбу и нагревают на песчаной бане. Вначале из колбы отгоняется вода в приемник. Когда концентрация хлористого водорода в реакционной колбе достигнет 10%, он начинает перегоняться и поступать в приемник, где растворяется в воде.

Обнаружение хлороводородной кислоты проводят с помощью следующих реакций.

Реакция с нитратом серебра. В пробирку помещают 1–2 мл раствора, прибавляют 1–2 капли 5% раствора нитрата серебра и 1 мл 10% азотной кислоты – появляется белый осадок, растворимый в растворе аммиака и появляющийся вновь после подкисления раствора азотной кислотой.



Реакция выделения йода. В пробирку помещают 1 мл раствора, прибавляют несколько кристалликов калия хлората и нагревают. В верхнюю часть пробирки помещают несколько йодкрахмальных бумажек. При наличии хлороводородной кислоты йодкрахмальные бумажки синеют.



Количественное определение хлороводородной кислоты проводят по методу Фольгарда в определенном объеме диализата или отгона.

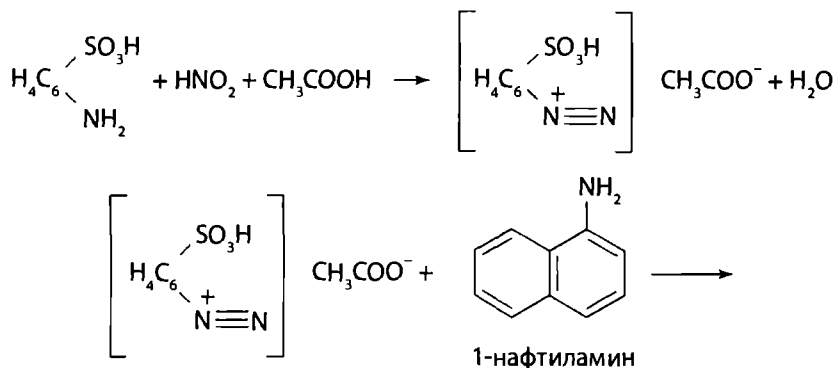
Если в исследуемом растворе присутствует сероводород, для количественного определения хлороводородной кислоты используют гравиметрический метод. С этой целью к раствору добавляют избыток нитрата серебра. При этом в осадке образуются хлорид серебра (AgCl) и сульфид серебра (Ag_2S). Осадок отфильтровывают, обрабатывают 10% раствором аммиака для растворения хлорида серебра. Аммиачный раствор подкисляют азотной кислотой и полученный осадок хлорида серебра отфильтровывают, высушивают до постоянной массы и взвешивают.

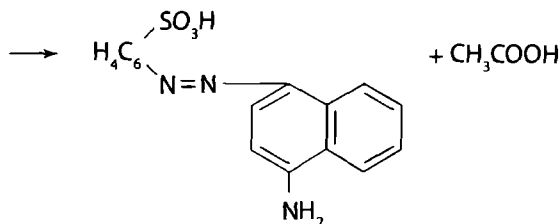
13.3. Исследование диализата на нитриты и нитраты

Нитриты

Реакция с сульфаниловой кислотой и β -нафтолом. В углубление на предметном стекле помещают 2 капли предварительно нейтрализованного диализата, прибавляют 2–3 капли 0,5% раствора сульфаниловой кислоты в 2% растворе хлороводородной кислоты. Через 3–5 мин к смеси прибавляют 1 каплю щелочного раствора β -нафтола – появляется интенсивная оранжево-красная окраска.

Реакция с реактивом Грисса (смесь сульфаниловой кислоты и 1-нафтиламина). В углубление предметного стекла вносят несколько капель нейтрализованного уксусной кислотой диализата и прибавляют 3–4 капли реактива Грисса. Через несколько минут появляется интенсивная красная окраска.





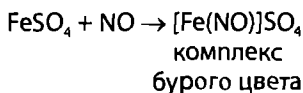
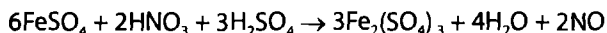
Реакция с феназоном. К части диализата добавляют 10% раствор серной кислоты и несколько капель 1% раствора феназона – наблюдают появление зеленого окрашивания.

С помощью указанных реакций могут быть обнаружены эндогенные нитриты. Поэтому используют дополнительную перегонку диализата после подкисления уксусной кислотой. Дистиллят должен давать те же реакции на нитриты. Методика не позволяет обнаружить следовые количества естественно содержащихся нитритов.

Нитраты

Перед обнаружением в диализате нитратов нитриты должны быть удалены с помощью азидата натрия – NaN_3 или сульфаминовой кислоты – $\text{NH}_2\text{SO}_3\text{H}$. После этого проводят реакции:

- С дифениламиноом в серной кислоте с получением синего окрашивания.
- С сульфатом железа(II). В пробирку помещают часть исследуемого раствора (обычно 2–3 капли) и кристаллик сульфата железа(II). Затем по стенке пробирки медленно приливают каплю концентрированной серной кислоты. На месте соприкосновения двух жидкостей появляется бурое кольцо. Нитраты восстанавливаются до оксида азота(II), который с избытком сульфата железа(II) образует раствор бурого цвета.



13.4. Исследование диализата на едкие щелочи и аммиак

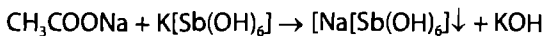
Анализ на едкие щелочи и аммиак проводится при сильно щелочной реакции водных вытяжек из биологического материала и отсутствии карбонатов по предварительным пробам (см. раздел 6.1).

Гидроксид натрия

Для обнаружения ионов натрия используют реакции с гидроксостибиатом калия и цинкуранилацетатом.

Реакция с гидроксостибиатом калия. К 3–5 каплям диализата, нейтрализованного уксусной кислотой, прибавляют 2–3 капли раствора гидроксостибиата калия. При потирании стенок пробирки стеклянной палочкой выпадает белый кристаллический осадок.

Наиболее вероятна формула гидроксостибиата калия – $\text{K}[\text{Sb}(\text{OH})_6]$, который при взаимодействии с образовавшимся ацетатом натрия образует белый осадок.



В кислой среде возможно переоткрытие гидроксида натрия за счет образования осадка метасурьмяной кислоты – HSbO_3 .

Реакция с цинк-уриилацетатом. На предметное стекло наносят каплю диализата и выпаривают досуха. Затем добавляют 1–2 капли цинк-уриилацетата. При наличии ионов натрия с уриилацетатом в нейтральных и уксуснокислых растворах образуется зеленовато-желтый кристаллический осадок в виде октаэдров и тетраэдров.



Гидроксид калия

Для обнаружения ионов калия применяют реакции с гидротартратом натрия и с кобальтинитритом натрия.

Реакция с гидротартратом натрия. В маленькую пробирку вносят 3–5 капель диализата, прибавляют 3–4 капли 1 М раствора гидротартрата натрия и такой же объем смеси равных количеств 2 М раствора винной кислоты и 2 М раствора ацетата натрия. Стенки пробирки протирают стеклянной палочкой. При наличии ионов калия выпадает белый осадок – $\text{KHC}_4\text{H}_4\text{O}_6$.

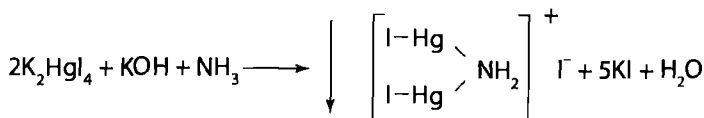
Реакция с кобальтинитритом натрия. 3–5 капель исследуемого диализата вносят в маленькую пробирку и прибавляют 2–3 капли раствора кобальтинитрита натрия – $\text{Na}_3[\text{Co}(\text{NO}_2)_6]$.

При наличии ионов калия выпадает желтый кристаллический осадок – $\text{K}_2\text{Na}[\text{Co}(\text{NO}_2)_6]$.

Аммиак

Анализ проводится с диализатом, если предварительные испытания указывают на возможное его наличие.

Реакция с реактивом Несслера. В пробирку вносят 1–2 капли исследуемого раствора, прибавляют 3–5 капель воды очищенной и 3–4 капли реактива Несслера. В присутствии аммиака выпадает желто-бурый или оранжево-коричневый осадок.



желто-бурый
или оранжево-коричневый
осадок

Реакция неспецифична, так как многие ионы могут давать осадки в присутствии щелочи или реагировать с йодид-ионами, образуя подобную окраску.

Количественное определение едких щелочей и аммиака. Определенный объем диализата титруют 0,1 М раствором хлороводородной кислоты в присутствии индикаторов – фенолфталеина (для гидроксидов калия и натрия) и метилового оранжевого (для аммиака).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В представленном учебнике приведено большое число веществ, которые в той или иной степени могут оказывать токсическое воздействие на организм человека. Это число постоянно растет, и ни один учебник не может угнаться за быстрым расширением круга объектов изучаемых токсикологической химией, и усложнением задач, решаемых ею.

Уже почти два столетия токсикологическая химия занимается разработкой способов качественного и количественного определения различных ядовитых веществ. В результате усилий многих ученых, практических работников на счету современной токсикологической химии имеется ряд существенных достижений, полученных ценой огромного труда, потраченного на разработку десятков и сотен реакций и методов и широкую апробацию их на реальных биологических объектах.

Такой трудоемкий подход неизбежен из-за сложности проблем, связанных с особенностями взаимодействия живого организма с чужеродными веществами, даже если речь идет о хорошо изученных лекарственных препаратах. Например, многочисленные исследования механизма действия аспирина (ацетилсалициловой кислоты) до сих пор не дают адекватного объяснения многосторонней картины его воздействия на организм человека. Эти вопросы вместе с другими, такими как проникновение ксенобиотиков в организм человека, их транспорт к мишеням воздействия, метаболизм и выведение из организма, находятся в центре внимания химиков и токсикологов.

Следует обратить внимание на то, что в настоящее время химия позволяет получить вещества с очень высокой фармакологической активностью. При попадании в организм таких веществ их концентрация может составлять 10^{-9} – 10^{-12} г/мл. Использование современных высокочувствительных методов анализа (ТСХ, ГЖХ, ВЭЖХ, ИК-, УФ- и атомно-абсорбционной спектроскопии, хроматомасс-спектроскопии, иммунохимических способов и др.) позволяет решать задачи по определению таких количеств ядовитых веществ.

Перед экспертом всегда стоит вопрос правильной интерпретации результатов химико-токсикологического исследования. Обнаружение того или иного токсического вещества не может однозначно указывать на то, что именно оно явилось причиной отравления, так как возможно обнаружение веществ эндогенного происхождения или веществ, образующихся при посмертном разложении трупного материала. Отрицательный результат анализа также не может однозначно указывать на отсутствие факта отравления, так как ядовитые вещества после попадания в организм подвергаются метаболизму и активно выводятся из него.

Успехи, достигнутые в молекулярной биологии, биохимии, позволяют описать главные биохимические процессы, происходящие в клетках, тканях или органах, в наибольшей степени подвергшихся воздействию ядовитых веществ. Понимание причин, вызывающих нарушения в функционировании биохимических систем, путей превращения ядов позволяет найти правильное решение для их определения и интерпретации результатов химико-токсикологического анализа. Поэтому *результаты химико-токсикологического анализа оцениваются в сочетании с данными осмотра больного, клиническими исследованиями, результатами судебно-медицинского и гистологического исследований. Использование совокупных данных позволяет поставить точный диагноз о природе ядовитого вещества и причине болезненного состояния человека или смертельного исхода.*

Таким образом, очевидно, что изучение токсикологической химии не может быть жестко ограничено рамками определения ядовитых веществ. Она является интегрированной дисциплиной и базируется на достижениях биологических, медицинских и химических наук.

ЛИТЕРАТУРА

1. Альберт А Избирательная токсичность / Пер. с англ., в 2 т. – М.: Медицина, 1989. – Т. 2.
2. Бабаян Э А, Гогопольский М.Х. Наркология. – М.: Медицина, 1987. – 287 с
3. Бадюгин И С, Каратай Ш.С., Константинова Т.К. Экстремальная токсикология: руководство для врачей / Под ред. Е.А Лужникова – М. ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 416 с.
4. Байерман К Определение следовых количеств органических веществ. – М.: Мир, 1987 – 482 с
5. Балахов П С., Крымова Т.Г. Основные клинические характеристики наиболее распространенных наркотиков и токсикантов // Профилактика и реабилитация в наркологии. – 2002. – № 1. – С 17–25
6. Барденштейн Л.М. Алкоголизм, наркомании, токсикомании: учебное пособие. – М. ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 64 с.
7. Великов В.Г. Фармацевтическая химия. учебное пособие. – М.: МЕДпресс-информ, 2007. – 624 с.
8. Бочков Н.П. Клиническая генетика: учебник для вузов – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001. – 448 с.
9. Буромский И.В., Клевно В А, Паршинян Г.А. Судебно-медицинская экспертиза. термины и понятия: словарь для юристов и судебно-медицинских экспертов – М.: Норма, 2006. – 256 с.
10. Бурыкина Т.И., Изотов Б.Н. Химико-токсикологический анализ веществ, вызывающих одурманивание. Изолирование сорбцией метод. рекомендации – М., 1987 – 7 с.
11. Вальман А В., Бабаян Э А., Зартау Э Э Психофармакологические и медико-правовые аспекты токсикоманий. – М.: Медицина, 1988. – 286 с
12. Васильев В.П. Аналитическая химия. Физико-химические методы анализа. учебник для студентов вузов: в 2 т. – М.: Дрофа, 2003. – Т 2. – 384 с.
13. Вергейчик Т.Х., Шабалин С.В. Методика изолирования карбамазепина из трупного материала и определение его методом флуоресцентно-поляризационного иммуноанализа // Суд.-мед. экспертиза. – 1993. – № 3. – С 29–31.
14. Вергейчик Т.Х., Шабалин С.В. Определение карбамазепина в трупном материале с использованием производной спектрофотометрии // Суд.-мед. экспертиза. – 1993. – № 1. – С. 32–34.
15. Вергейчик Т.Х. Применение метода ортогональных функций для подавления фона при судебно-химическом определении некоторых пестицидов в биологическом материале // Суд.-мед экспертиза – 1984 – Т 27. – № 3. – С 47–49
16. Веселовская Н.В., Изотов Б.Н. Анализ опиатов в моче (для химико-токсикологических и судебно-химических лабораторий) – М ММА им И.М.Сеченова, 2000. – 81 с
17. Вредные вещества в промышленности: в 3 кн. Кн 3. Неорганические и элементарноорганические соединения. справочник для химиков, инженеров и врачей / Под ред. Н.В.Лазарева. – Л.: Химия, 1977. – 608 с.
18. Высокоэффективная жидкостная хроматография в биохимии / Под ред. А.Хеншен и др – М.: Мир, 1988 – 303 с.
19. Вяхирев Д.А., Шушунова А.Ф. Руководство по газовой хроматографии: учебное пособие. – М.: Высшая школа, 1987. – 335 с
20. Голиков С.Н., Саночкин И.В., Тиунов Л.А. Общие механизмы токсического действия – Л.: Медицина, 1986 – 280 с.
21. Гольдфарб Ю С, Простакишин Г.П., Остапенко Ю.Н. Современные принципы антидотной терапии острых отравлений: практическое пособие для врачей. – СПб.: Изд. дом «Образование», 2006. – 44 с
22. Государственная фармакопея СССР. Общие методы анализа / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1987. – Вып. 1. – 336 с.
23. Гуров А А, Бадаев Ф.З., Овчаренко Л.П., Шаповал В.Н. Химия. учебник для вузов. – М.: Изд-во МГТУ им Н.Э. Баумана, 2004. – 748 с.
24. Долгова А А, Ладыгина Е.Я. Руководство к практическим занятиям по фармакогнозии. – М.: Медицина, 1977. – 275 с.
25. Егоров А М. Теория и практика иммуноферментного анализа. – М.: Высш. шк., 1991
26. Еремин С К, Изотов Б.Н., Веселовская Н.В. Анализ наркотических средств: руководство по химико-токсикологическому анализу наркотических и других одурманивающих средств – М.: Мысль, 1993. – 272 с
27. Еремин С К Иммунохимический анализ лекарств и органических соединений // Журнал Всесоюзного химического общества им. Д.И. Менделеева – 1989 – Т. 34. – № 1. – С. 46–51
28. Ершов Ю А, Плетнева Т.В. Механизмы токсичности неорганических соединений – М Медицина, 1989 – 250 с.
29. Закон от 7 февр 2006 г., № 76 Об утверждении крупного и особо крупного размеров наркотических средств и психотропных веществ для целей статей 228, 281 и 229 Уголовного Кодекса Российской Федерации.
30. Закон от 30 июня 1998 г., № 681 Об утверждении перечня наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, подлежащих контролю в Российской Федерации.
31. Изотов Б.Н., Волкова Н.В., Зинакова Е.Д. Группа веществ, изолируемых экстракцией полярными растворителями учебно-методическая разработка для самоподготовки и выполнения лабораторных работ студентами по токсикологической химии. – М., 1989. – С 57.

32. *Изотов Б.Н., Еремин С.К.* Методология химико-токсикологического анализа органических ядов. Выделение и концентрирование. Жидкостная экстракция // *Современные методы химико-токсикологического анализа*: сб. тр. – М., 1986. – С. 7–39.
33. *Изотов Б.Н., Бурькина Т.И.* Методология химико-токсикологического анализа органических ядов. Выделение и концентрирование. 2 том. Сорбция // *Современные методы химико-токсикологического анализа*: сб. тр. – М., 1986. – С. 39–63.
34. *Карасек Ф., Клемент Р.* Введение в хроматомасс-спектрометрию. – М.: Мир, 1993. – 237 с.
35. *Карпов Ю.А., Савостин А.П.* Методы пробоотбора и пробоподготовки. – М.: БИНОМ; Лаб. Знаний, 2003. – 243 с.
36. *Карташов В.А., Чернова Л.В.* Практикум по токсикологической химии. – Майкоп: Аякс, 2004. – 182 с.
37. *Кислун Ю.В.* Химико-токсикологический анализ лекарственных соединений. ГХ-скрипинг // *Современные методы химико-токсикологического анализа*: сб. тр. – М., 1986. – С. 89–96.
38. Клиническая токсикология детей и подростков / Под ред. И.В.Марковой, В.В.Афанасьевой, Э.К.Цыбулькиной. – СПб: Интермедика, 1998. – 304 с.
39. *Комаров Б.Д., Лужников Е.А., Шиманко И.И.* Хирургические методы лечения острых отравлений. – М.: Медицина, 1981. – 283 с.
40. *Коренман И.М.* Методы определения органических соединений: фотометрический анализ. – М.: Химия, 1970. – 343 с.
41. *Крамаренко В.Ф.* Токсикологическая химия. – Киев: Выща школа, 1989. – 370 с.
42. *Крамаренко В.Ф.* Химико-токсикологический анализ: практикум. – Киев: Выща школа, 1982. – 272 с.
43. *Крамаренко В.Ф., Туркевич Б.М.* Анализ ядохимикатов. – М.: Химия, 1978. – 264 с.
44. *Крылова А.Н.* Исследование биологического материала на «металлические» яды дробным методом. – М.: Медицина, 1975. – 99 с.
45. *Кукес В.Г.* Клиническая фармакология: учебник для вузов. – М.: ГЭОТАР, 1999. – 528 с.
46. Лабораторная диагностика острых химических отравлений / Сост. В.Белова и др. – М.: Миклош, 2003. – 46 с.
47. *Лисовская С.Б.* Разработка поляризационного флуориметрического анализа наркотических средств, производимых опнатов, барбитуратов, 1,4-бензодиазепинов в органах и тканях: дис. ... канд. фармацевт. наук. – М., 2000. – 122 с.
48. *Лужников Е.А.* Клиническая токсикология. – М.: Медицина, 1999. – 413 с.
49. *Ляликов Ю.С.* Физико-химические методы анализа. – М.: Химия, 1973. – 536 с.
50. *Машковский М.Д.* Лекарственные средства. – М.: Новая волна, 2006. – 1200 с.
51. Методические рекомендации по анализу наркотических веществ: пособие для нац. лаб. наркотиков / ВОЗ ООН. – Нью-Йорк, 1986. – С. 123–156.
52. Методические рекомендации по методике определения микроэлементов в диагностируемых биосубстратах методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (ИПС-МС). – М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Мин-ва здравоохранения и соцразвития России, 2003. – 22 с.
53. Методические рекомендации по методике определения микроэлементов в диагностируемых биосубстратах атомной спектрометрией с индуктивно связанной аргоновой плазмой. – М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Мин-ва здравоохранения и соцразвития России, 2003. – 17 с.
54. *Митрука Б.М.* Применение газовой хроматографии в микробиологии и медицине: пер. с англ. – М.: Медицина, 1978. – 660 с.
55. Новые физические и физико-химические методы исследования органических соединений: учеб. пособие / Под ред. Б.В. Иоффе. – Л.: Изд-во Ленинград. университета, 1984. – 240 с.
56. *Оксенгендлер Г.И.* Яды и противоядия: человек и окружающая среда. – Л.: Наука, 1982. – 192 с.
57. Определение алкалоидов опия в моче человека на микроколоночном жидкостном хроматографе «Милнхром-2»: методические рекомендации Министерства здравоохранения СССР. – М., 1990. – 38 с.
58. Определенные виды наркотических средств, получаемых из конопли и мака: методические рекомендации / Под ред. Э.А.Бабаяна. – М., 1995. – 24 с.
59. Основы аналитической химии: в 2 кн. Кн. 2. Методы химического анализа: учебник для вузов / Под ред. Ю.А.Золотова. – М.: Высшая школа, 2000. – 494 с.
60. Основы аналитической химии: в 2 кн. Кн. 1. Общие вопросы. Методы разделения: учебник для вузов / Под ред. Ю.А.Золотова. – М.: Высшая школа, 2000. – 351 с.
61. Основы общей промышленной токсикологии: руководство / Под ред. Н.А.Толоконцева, В.А.Филова. – Л.: Медицина, 1976. – 304 с.
62. ОФТСХ, ВЭЖХ и спектроскопия ЯМР в скрининге наркотических веществ: рук-во по анализу наркотических и одурманивающих веществ методами ОФТСХ, ВЭЖХ и спектроскопии ЯМР / Под ред. Е.В.Метелевой. – Пермь, 1999. – 77 с.
63. *Парк Д.В.* Биохимия чужеродных соединений: пер. с англ. – М.: Медицина, 1973. – 278 с.
64. Перечень наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, подлежащих контролю в Российской Федерации // Новые лекарственные средства. – 2001. – Вып. 12. – С. 45–52.
65. Перспективы развития и совершенствования судебно-медицинской науки и практики: материалы 6 Всероссийского съезда судебных медиков, посвященные 30-летию Всероссийского общества судебных медиков. – М.–Тюмень: Академия, 2005. – 316 с.
66. *Позднякова В.Т.* Микрорентгенографический анализ фармацевтических препаратов и ядов. – М.: Медицина, 1968. – 228 с.

67. Постановление Правительства РФ от 6 августа 1998 г., № 892. Об утверждении правил допуска лиц к работе с наркотическими средствами и психотропными веществами.
68. Приказ МЗиСР РФ от 04 ноября 2006 г., № 644. О порядке предоставления сведений о деятельности, связанной с оборотом наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров
69. Приказ МЗиСР РФ от 12 августа 2003 г., № 399. Методические указания по медицинскому освидетельствованию для установления факта употребления алкоголя и состояния опьянения
70. Приказ МЗиСР РФ от 14 июля 2003 г., № 308. О медицинском освидетельствовании на состояние опьянения
71. Приказ МЗиСР РФ от 24 апреля 2003 г., № 161. Об утверждении инструкции по организации и производству экспертных исследований в Бюро судебно-медицинской экспертизы.
72. Приказ МЗиСР РФ от 27 января 2006 г., № 40. Об организации проведения химико-токсикологических исследований при аналитической диагностике наличия в организме человека алкоголя, наркотических средств, психотропных и других токсических веществ.
73. Приказ МЗ РФ от 5 октября 1998 г., № 289. Об аналитической диагностике наркотических средств, психотропных и других токсических веществ в организме человека
74. Приказ МЗ РФ от 8 января 2002 г., № 9. О мерах по совершенствованию организации токсикологической помощи населению Российской Федерации.
75. Приказ МЗ СССР от 25 декабря 1973 г., № 1021. О введении нового перечня токсикологических веществ, подлежащих судебно-медицинскому исследованию.
76. Профилактика наркомании, токсикомании, алкоголизма и табакокурения: нормативные правовые акты / Сост. В.Л.Белова – М.: Нарконет, 2002. – 289 с.
77. Российский центр судебно-медицинской экспертизы: страницы истории (к 75-летию со дня образования) / Под ред. В.А.Клевко – М.: РИО ФГУ «РЦСМЭ Росздзрав», 2006. – 404 с.
78. Российское законодательство о наркотиках: современное состояние и перспективы развития / Под ред. А.И.Александрова, В.П.Сальникова, – СПб. Университет МВД России, 2001. – 233 с
79. Руководство к лабораторным занятиям по фармацевтической химии: учеб. пособие / Под ред. А.П.Арзамасцева – М. Медицина, 2001 – 384 с
80. Руководство по судебно-медицинской экспертизе отравлений / Под ред. Я.С.Смусина и др. – М. Медицина, 1980. – 424 с
81. Руководство по химико-токсикологическому анализу наркотических и других одурманивающих средств – М.: Мысль, 1993. – 272 с
82. *Саввин С.Б., Кузин Э.Л.* Электронные спектры и структура органических реагентов. – М.: Наука, 1974 – 277 с.
83. Сводная таблица экспертных заключений ПККН об отнесении к небольшому, крупному и особо крупному размерам количества наркотических средств, психотропных и сильнодействующих веществ, обнаруженных в незаконном владении или обороте // Новые лекарственные препараты. – М., 2002. – С 75–84
84. *Симонов Е.А.* Методические рекомендации по использованию метода тонкослойной хроматографии при исследовании наркотических средств и психотропных веществ. – М.: ЭКУ Федеральная служба РФ по контролю за оборотом наркотических средств и психотропных веществ, 2004 – 30 с.
85. *Симонов Е.А., Изотов Б.Н., Фесенко А.В.* Наркотики: методы анализа на коже, в ее придатках и выделениях. – М.: Анахарсис, 2000. – 130 с.
86. *Скальный А.В.* Химические элементы в физиологии и экологии человека. – М. ИД ОНИКС 21 век; Мир, 2004 – 216 с
87. Современные проблемы химико-токсикологического анализа наркотических средств. материалы Всероссийской научно-практической конференции 23–24 октября 1999 г. – СПб., 1999. – 86 с.
88. *Соседко Ю.И.* Диагностика смертельных отравлений некоторыми веществами, используемыми токсикоманами // Суд.-мед. экспертиза. – 2000 – № 6. – С. 13–15.
89. Токсикологическая химия: учебник для вузов / Под ред. Т.В.Плетеновой – М., ГЭОТАР-МЕД, 2005. – 512 с.
90. Уголовный кодекс Российской Федерации. – СПб. Изд. дом Герда, 2002. – С 27, 129–133, 272
91. Фармацевтическая химия учеб. пособие / Под ред. А.П.Арзамасцева. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2004 – 640 с
92. Федеральный Закон от 31 мая 2001 года, № 7. О государственной судебно-экспертной деятельности в Российской Федерации
93. Федеральный Закон О наркотических средствах и психотропных веществах – Российская газета, – 1998 – 15 янв. – С 4–6
94. *Харитонов Ю.Я.* Аналитическая химия (аналитика) / в 2 кн. – Кн. 1. Общие теоретические основы Качественный анализ учебник для вузов – М.: Высшая школа, 2001 – 615 с
95. *Харитонов Ю.Я.* Аналитическая химия (аналитика) / в 2 кн. – Кн. 2. Количественный анализ. Физико-химические (инструментальные) методы анализа: учебник для вузов – М.: Высшая школа, 2001 – 559 с.
96. Химико-токсикологический анализ веществ, вызывающих одурманивание метод указания / Под ред. Б.Н.Изотова. – М., 1989 – 104 с
97. *Холодов Л.Е. Яковлев В.П.* Клиническая фармакокинетика. – М.: Медицина, 1985. – 464 с
98. *Шатц В.Д., Сахарова О.В.* Высокоэффективная жидкостная хроматография – Рига: Зинатне, 1988 – 390 с
99. *Швайкова М.Д.* Токсикологическая химия. – М.: Медицина, 1975. – 289 с.
100. *Яблочкин В.Д.* Экспертное значение определения летучих продуктов горения неметаллических материалов при исследовании крови погибших на пожаре // Суд.-мед. экспертиза – 2000 – № 6 – С 30–32

АЛФАВИТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

LSD 80, 204–206

Акарицид 351, 358–360

Акрихин 10, 71

Алкалоиды опия 51, 127–131, 212, 213, 224

Алкилгалогенид 32, 54, 73, 100, 103, 129, 271, 284–289, 299, 356

Алкоголизм

– осложненный 22

– суррогатный 22

Алкогольная интоксикация 208, 274, 275, 278, 279

Алкосенсор 276

Алкоскрин 276

Альгицид 351

Амидалин 45, 266

Амилацетат 283, 334

Аминазин 26, 42, 52, 62, 74, 80, 89, 93, 113–115, 133, 168–173, 239

Аминозепам 43, 159, 160

Аммиак 387, 393

Амфетамин (метамфетамин) 22,

25, 42, 75, 80, 116, 122, 126,

184–192, 204, 234

Анабазин 10, 80, 100, 115, 245,

247–252

Анализ

– атомо-абсорбционный 305–307,

311–328, 331–348, 394

– атомо-флуоресцентный 307

– атомо-эмиссионный 307, 308

– иммуноферментный 124, 125,

196, 197

– люминесцентный 106, 124, 138,

256

– радиоиммунный 124, 127

– рентгено-флуоресцентный 309

– судебно-химический 7, 8, 11–13,

15, 17–20, 111, 130, 212, 213

– фармакогностический 141, 243

Анальгетик 69, 80, 128, 159, 174,

212, 214, 225

Антидот 59, 64–69, 232

Антидотная терапия 59, 64, 68, 69

Антицианид 67

Ангорфин 69

Арборициды 351

Арсин 8, 63, 66, 284, 326, 329

Аспирин 51, 54, 67, 394

Атарсин 66

Атропин 50, 55, 64, 68, 69, 80–82,

91, 112–115, 133, 134, 140,

232–244, 317

Ацетон 23, 30, 54, 289–291

Бактерициды 351, 373

Барбитал 26, 40, 80, 82, 111–115,

118, 133, 142–144, 147–154

Барбитал 26, 52, 65, 69, 80, 82, 112,

115, 118, 122, 142–154

Барбитураты 12, 22, 27, 40, 51, 54,

60–69, 74, 77, 82, 83, 87, 92, 116,

118, 126, 131, 136, 139, 142–157,

317

Барий 32, 65, 66, 72, 97, 99, 107,

268, 292, 305, 309–316, 384,

388–390

Бемегрид 69

Бензоилэтонин 78, 237, 238, 243

Безофенолы 75, 162–167

Берлинская лазурь 20, 108, 267, 268

Бертолетова соль 71

Биотрансформация 6, 13, 14, 37, 38,

42–45, 50–55, 195

Бруцин 80, 82, 91, 115, 139, 198–

203, 335, 344, 345, 390

Бутобарбитал 80, 82, 112, 118,

142–146, 150–153

Вератрин 56, 140, 239

Висмут 32, 56, 97, 99, 104, 107, 128,

190, 309, 333–336, 344, 363

Галлотиноген 23, 198, 204, 206,

225

Гарман 56, 58

Гармин 56, 58

Гашиш 22, 138, 193–197

Гашишное масло 22, 194, 196

Гексахлорциклогексан 93, 94, 352,

353

Гемаферез 61, 63

Гемоглобин 32, 33, 67, 303, 339,

343, 380–383

Гептахлор 43, 93, 94, 356–358

Гербициды 136, 350, 351, 358

Героин (диацетилморфин) 22, 25,

44, 50, 80, 194, 209, 211, 214,

218–224, 226, 234

Гранозан 373

ДДТ 351, 358

Детоксикация

– естественная 59

– искусственная 61–63

Диазепам 26, 80, 93, 112, 113, 158–

161, 163, 165–167

Диализ 15, 20, 61–63, 95, 388

Диндрол 23, 114, 115

Дипразин 23, 74, 80, 93, 113, 115,

168, 170–173

Дихлорэтан 53, 61, 63, 100, 103,

275, 285, 296–299, 357

Доза

– летальная 199, 310, 353

– смертельная 26, 50, 52, 159, 168,

245, 266, 270, 274, 279, 282, 284,

285, 291, 296, 299, 302, 314, 319,

321, 324, 336, 339, 341, 346, 371,

387, 388

– терапевтическая 72, 168, 199, 226

– токсическая 19, 27, 32, 143, 245,

246, 257, 274, 275

Зависимость

– психическая 13, 22, 23, 51, 185,

246, 274

– физическая 13, 22, 51, 185, 226,

246, 274

– химическая 51

Зооциды 336, 351, 375

Идиосинкразия 52

Изонитрил 129, 287, 299, 364

Индол 77, 80, 198, 204

Инсектициды 34, 302, 351, 358–360,

365, 368, 375, 385

Ионов маскировка 108, 310, 337

Кадаверин 56–58

Кадмий 107, 308, 309, 343–345

Калия гидроксид 387, 393

Каннабиноиды 54, 78, 80, 126, 127,

138, 193–198

Карбаматы 34, 45, 63, 107, 329,

331–338, 365, 366, 379

Карбогены 61

Карбофос 93, 360, 361, 363

Кислота

– азотная 386, 387, 390

– барбитуровая 57, 80, 112, 118, 127,

128, 139, 143–147, 153, 155

– меконовая 210–212, 224

– серная 388–390

– синильная 27, 30, 45, 67, 68, 100–

103, 108, 266–270, 370, 381

– уксусная 302, 303

– хлороводородная 387, 390, 391

Кодеин 22, 41, 52, 80, 82, 91, 93,

113–115, 122, 131, 180, 210,

213–216, 219–224, 230–232, 239,

271, 281

Кокаин 10, 22, 25, 26, 44, 45, 55, 78,

80–82, 91, 113–115, 126, 140,

194, 208, 214, 233–244, 274, 317

Коканизм 185, 235

Кониин 56, 115, 133

Копольта 25, 193

Константа

– диссоциации 81, 266

– диффузии 30

– ионизации 30, 80, 82, 147

– распределения 84

– фосфорилирования 34

Контаминант 24

Кофеин 23, 26, 54, 69, 80, 82, 112,

113, 133, 180–184, 186, 213, 234

Крезолы 77, 100, 294–296

Кремнефториды 99, 375–377

Крак 234

Ксенобиотики 37–58, 394

Летальный синтез 37, 39, 359

Лимациды 351

Марганец 97, 99, 107, 308, 309,

316–318

Марихуана 22, 193, 194, 196, 197,

207

Масс-спектрометрия 106, 136, 137,

138, 148, 153, 189, 197, 206, 209,

223, 229, 230, 308

Меконин 214, 217, 224, 225

Мембрана клетки

– модель Валлаха–Цалера 29

– схема Даусона–Даниелн 28

Меркаптид 35, 66, 225

Метадон 25, 80, 116, 225, 226,

228–230

Метаквалон 78, 208

«металлические» яды 8, 10, 11, 15,

33, 34, 56, 65, 76, 78, 95, 106,

107, 139, 305–379

- Метамизол 174–178, 180
 Метгемоглобин 32, 63, 67, 68, 267, 383, 388
 Метилendioксиметамфетамин 187
 Метиленовый синий 67, 68, 269
 Микотоксины 24
 Микроэлементы 19, 106, 305, 308, 330, 336
 Морфин 9, 11, 22, 26, 41, 49, 52, 54, 62, 65, 69, 77, 78, 80, 82, 86, 91, 93, 113–117, 131, 133, 134, 209–239, 317
 Мускарин 64
 Мышьяк 8, 26, 32, 35, 51, 52, 56, 59, 63, 65, 66, 78, 97, 99, 107, 108, 139, 305, 309, 324–330, 362

 Налорфин 69, 223, 231
 Наркология 14
 Наркомания 6, 13, 23, 143, 181, 186, 226
 Наркотик 13, 22, 23, 25, 126, 143, 159, 185–187, 194, 206, 212, 226, 234, 235, 274
 Наркотин 80, 82, 93, 210, 212–220, 223
 Наркотическое вещество 6, 11, 13, 15, 21–25, 27, 49, 51, 60, 77–80, 89, 91–93, 105, 109, 111–114, 117, 121–128, 138, 139
 Наркотическое средство 11, 13, 14, 19, 21–25, 52, 53, 73, 78, 89, 116, 128, 143, 185, 186, 194–197, 208, 220, 234, 239, 240
 Натрия гидроксид 387, 392, 393
 Натрия нитрат 99, 354, 388, 391–392
 Натрия нитрит 113, 164, 167, 171, 176–178, 201–204, 260–264, 296, 340, 342, 367, 388, 391
 Нематоды 351
 Никотин 49, 51, 54, 80, 82, 89, 100, 103, 140, 244–252, 317
 Нитразепам 26, 47, 80, 82, 86, 112, 113, 115, 158, 160–163, 165–167
 Нитробензол 71, 100

 Оксазепам 26, 80, 115, 158–161, 163–167
 Опиаы 22, 78, 80, 114, 116, 126, 209–225, 274
 Опииоды 225–232
 Опьяенне
 – алкогольное 22, 27, 143
 – наркотическое 6, 21, 23, 25, 109, 130, 143
 – токсикоманическое 6, 15, 23, 25, 130

 Папаверин 80, 82, 113, 115, 122, 131, 133, 210, 213, 216, 217, 219–223, 230, 232
 Параоксон 34, 39, 359
 Парацетамол 41, 180, 234
 Пахикарпин 61, 80, 91, 100, 103, 115, 133, 138, 244, 245, 247–251
 ПДК 14, 350, 356, 375
 Пестициды
 – фосфорсодержащие 11, 34, 93, 358–368
 – хлорорганические 28, 32, 93, 351–358
 – пиретроиды синтетические 93, 94, 351, 368–373

 – производные карбаминовой кислоты 34, 93, 94, 351, 365–368
 Плазмаферез 61, 62
 Полинаркомания 22, 23
 Политоксикомания 22, 23
 Полихлоркамфен 358
 Полихлорпинен 358
 Поляризаационный флуороиммуно-анализ 124, 126
 Прокаин (прокаинамид) 214, 234, 256–261
 Пропифеназон 74, 174–176, 179, 180
 Птоманы (трупные яды) 19, 55–58, 82, 83, 86–88, 106, 138
 Путресцин 56–58

 Ртуть 32, 35, 51, 65, 66, 78, 93–99, 107, 112, 114, 118, 128, 139, 148, 177, 183, 184, 296, 309, 322, 325, 331, 346–351, 363, 372–375

 Свинец 51, 56, 65, 66, 107, 139, 308–313
 Севнн 34, 45, 93, 94, 362, 365–368, 371
 Серебро 99, 107, 108, 309, 321–324
 Снушное масло 22, 71, 103, 273, 275, 282
 Скатола 77
 Скополамин 80, 91, 115, 233–244
 Спирт
 – метиловый 73, 100–108, 279–284
 – этиловый 73, 100–108, 129, 273–279
 Спирты амиловы 56, 103, 108, 281
 Станозолол 78
 Стрихнин 9, 26, 51, 56, 65, 80, 82, 91, 113, 115, 122, 133, 140, 198–203, 239, 324
 Строфантин 55
 Сукцимер 66
 Сурьма 35, 56, 97, 99, 107, 305, 309, 325–328, 339–342

 Талидомид 37, 38
 Таллий 35, 97, 107, 108, 309, 340–343
 Тетразилсвинец 50, 100
 Тнзердин 74, 115, 168, 171, 173
 Тиоридазин 26, 80, 113, 115, 168–173
 Тнофенол 46, 49, 56
 Тнофос 39, 93, 359–364
 Тирамин 42, 57, 126
 Токсикомания 6, 23, 174, 181, 246, 274
 Токсикометрия 26
 Толуол 23, 26, 76, 100, 101, 113, 182, 188, 189, 206, 219
 Трамадол 225, 226
 Транквилизаторы 23, 63, 158, 159
 Триптофан 56, 78, 98
 Трисамин 60
 Трихлорметафос 93, 359–363

 Углерод четыреххлористый 30, 39, 100, 129, 284–299
 Углерода оксид 28, 51–56, 71, 104, 380–385
 Уголь
 – активированный 61, 63, 65, 90
 – альбуминированный 63

 Унитиол 65, 66

 Фаза
 – распределения 20, 279
 – резорбции 20, 28
 – элиминации 20, 28
 Фармакологические пробы 106, 140, 200, 202, 239, 242
 Феназон 115, 133, 174–176, 178–180, 392
 Феназетин 23, 41
 Фенилэтиламин 57, 58
 Фенобарбитал 26, 52, 53, 80, 82, 112, 115, 118, 142, 143, 144, 146–154, 213
 Фенол 30, 32, 33, 45, 46, 71, 100–104, 129, 291–294
 Фентанил 80, 225–227, 229, 230
 Фенциклидин 78, 80, 204, 206–209
 Формальдегид 32, 33, 38, 97, 100, 103, 104, 176, 270–273
 Форсированный диурез 60, 61
 Фосфид цинка 336, 373, 378
 Фториды 65, 99, 108, 373, 375–378
 Фунгициды 296, 330, 351, 373
 Фуросемид 60

 Хинин 54, 61, 63, 65, 75, 80, 82, 86, 91, 113, 115, 133, 138, 252–256
 Хлор 385
 Хлоралгидрат 26, 40, 100, 129, 248, 285–288, 297, 299
 Хлордиазепоксид 26, 40, 100, 129, 248, 285–288, 297, 299
 Хлороформ 284
 Хлорофос 34, 93, 94, 360–364
 Хром 302, 308, 309, 318–320
 Хроматомакс-спектрометрия 11, 88, 106, 136, 137, 138, 196, 219, 229, 242, 372, 394

 Цаниды 8, 31, 67, 68, 71, 104, 108, 266–269, 342
 Цинк 326, 332, 336–339

 Эггонин 44, 232, 233, 237, 238, 242–244
 Экспертиза опьянения 21, 130, 278
 Экстази 187, 190
 Экстракция 267
 Эндогенные соединения 19, 22, 37, 77–80, 109, 134, 139, 153
 Этаминал 82, 118, 147, 149–153
 Этаминал-натрий 26, 80, 112, 115, 142–146, 152
 Этилен хлористый 296
 Этиленгликоль 39, 100, 103, 275, 298, 299–302
 Этилмеркурхлорид 373–375
 Этилморфин 22, 53, 80, 113, 115, 131, 209, 211, 214–223, 232
 Эфедрин 77, 80, 113, 115, 126, 133, 134, 184–192
 Эфедрон 22, 80, 127, 184–190

 Яды летучие 15, 31, 100–104, 108, 122–124, 262–304
 Ядовитые газы 380–385
 Ядохимикаты 12, 24, 60, 93, 129

Вергейчик Тамара Харитоновна
ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

Учебник для студентов

Под ред. проф. ***Е.Н.Вергейчика***

Главный редактор *В Ю Кульбакин*
Ответственный редактор *О А Эктова*
Корректор *Е Ю Косенкова*
Компьютерный набор и верстка *И А Кобзев Д В Давыдов*

ISBN 5-98322-554-5



Лицензия ИД №04317 от 20 04 01 г
Подписано в печать 22 07 09 Формат 70×100/16
Бумага офсетная Печать офсетная Объем 25 п л
Гарнитура Таймс Тираж 2000 экз Заказ №1510

Издательство «МЕДпресс-информ»
119992, Москва, Комсомольский пр-т, д 42, стр 3
E-mail office@med-press.ru
www.med-press.ru

Отпечатано с готовых диапозитивов
в ОАО «Типография «Новости»
105005, Москва, ул Фр Энгельса, 46